

neurociências

Sumário

Volume 5 número 4 - outubro/dezembro de 2009

EDITORIAL

“Um novo olhar”, Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro, Luiz Carlos de Lima Silveira..... 187

IA JORNADA FLUMINENSE SOBRE COGNIÇÃO IMUNE E NEURAL (11 de agosto de 2009)

Uma (não tão) breve história da imunologia cognitiva: mecanismos de geração e manutenção da diversidade do repertório imune,

Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro, Yuri Chaves Martins..... 189

Os princípios da mente e da personalidade, Diogo Rizzato Lara..... 212

Cognição imune-neural: relações entre comportamento e imunidade,

João Palermo Neto, Frederico Azevedo da Costa-Pinto 219

Fisiopatologia da atividade imunológica, Nelson Monteiro Vaz..... 231

Mimetismo apoptótico: burlando a discriminação entre o próprio e o não-próprio,

Poliana Deolindo, Marcelo A. Barcinski..... 237

Sintaxe comum e conexões imunoneuroendócrinas, Wilson Savino..... 242

EVENTOS 249

neurociências

ISSN 1807-1058

Revista Multidisciplinar das Ciências do Cérebro

Editor: Luiz Carlos de Lima Silveira, UFPA

Editor associado: Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro, Fiocruz

Editor-assistente: Daniel Martins de Barros, HC-USP

Presidente do conselho editorial: Roberto Paes de Carvalho, UFF

Conselho editorial

Aniela Improta França, UFRJ (Neurolingüística)
 Carlos Alexandre Netto, UFRGS (Farmacologia)
 Cecília Hedin-Pereira, UFRJ (Desenvolvimento)
 Daniela Uziel, UFRJ (Desenvolvimento)
 Dora Fix Ventura, USP (Neuropsicologia)
 Eliane Volchan, UFRJ (Cognição)
 João Santos Pereira, UERJ (Neurologia)
 Koichi Sameshima, USP (Neurociência computacional)
 Leonor Scliar-Cabral, UFSC (Lingüística)
 Lucia Marques Vianna, UniRio (Nutrição)
 Marco Antônio Guimarães da Silva, UFRJ/UCB (Fisioterapia e Reabilitação)
 Marco Callegaro, Instituto Catarinense de Terapia Cognitiva (Psicoterapia)
 Marco Antônio Prado, UFMG (Neuroquímica)
 Rafael Linden, UFRJ (Neurogenética)
 Rubem C. Araujo Guedes, UFPE (Neurofisiologia)
 Stevens Kastrup Rehen, UFRJ (Neurobiologia Celular)
 Vera Lemgruber, Santa Casa do Rio de Janeiro (Neuropsiquiatria)
 Wilson Savino, FIOCRUZ (Neuroimunologia)

Neurociências é publicado com o apoio de:

SBNeC (Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento)

Presidente: Marcus Vinícius C. Baldo

www.sbnecc.org.br



Atlântica Editora e Shalon Representações

Praça Ramos de Azevedo, 206/1910
Centro 01037-010 São Paulo SP

E-mail: atlantica@atlanticaeditora.com.br
www.atlanticaeditora.com.br

Editor executivo

Dr. Jean-Louis Peytavin
jeanlouis@atlanticaeditora.com.br

Atendimento

(11) 3361 5595 / 3361 9932
E-mail: assinaturas@atlanticaeditora.com.br

Diretor

Antonio Carlos Mello
mello@atlanticaeditora.com.br

Editor assistente

Guillermina Arias
guillermina@atlanticaeditora.com.br

Assinatura

1 ano (6 edições ao ano): R\$ 180,00

Assistente de vendas – Atendimento

Márcia P. Nascimento
marcia@atlanticaeditora.com.br

Direção de arte

Cristiana Ribas
cristiana@atlanticaeditora.com.br

Todo o material a ser publicado deve ser enviado para o seguinte endereço de e-mail:

artigos@atlanticaeditora.com.br

Atlântica Editora edita as revistas **Fisioterapia Brasil, Fisiologia do Exercício, Enfermagem Brasil, Nutrição Brasil e MN-Metabólica.**

I.P. (Informação publicitária): As informações são de responsabilidade dos anunciantes.

© **ATMC - Atlântica Multimídia e Comunicações Ltda** - Nenhuma parte dessa publicação pode ser reproduzida, arquivada ou distribuída por qualquer meio, eletrônico, mecânico, fotocópia ou outro, sem a permissão escrita do proprietário do copyright, Atlântica Editora. O editor não assume qualquer responsabilidade por eventual prejuízo a pessoas ou propriedades ligado à confiabilidade dos produtos, métodos, instruções ou idéias expostos no material publicado. Apesar de todo o material publicitário estar em conformidade com os padrões de ética da saúde, sua inserção na revista não é uma garantia ou endosso da qualidade ou do valor do produto ou das asserções de seu fabricante.

Editorial

“Um novo olhar”

Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro*, Luiz Carlos de Lima Silveira**

« Le véritable voyage de découverte ne consiste pas à chercher de nouveaux paysages mais à avoir de nouveaux yeux¹»

Como resultado do muito estimulante e prazeroso trabalho como editores do periódico *Neurociências*, vimos sendo desafiados pela tarefa de contribuir para aumentar a interação entre profissionais especialistas em diferentes aspectos dos sistemas nervoso e imune.

A Neurociência Nacional tem certa tradição na condução de pesquisas na “neuroimunologia clássica”, nascida dos trabalhos de Hans Selye (1907-1982)[2] e de Robert Ader [3]. Também poderíamos facilmente repertoriar os trabalhos brasileiros desenvolvidos em uma “neuroimunologia de abordagem” focada no estudo de aspectos imunológicos de doenças, infecciosas ou não, com comprometimento nervoso ou ainda em aspectos neurológicos de doenças do sistema imune como o lúpus eritematoso sistêmico [4], a sarcoidose ou a ataxia telangiectásica, para ficar só nos exemplos tradicionais. Por outro lado, parece haver uma lacuna a ser preenchida na Neurociência que concerne uma neuroimunologia voltada ao estudo comparativo de mecanismos e fenômenos cognitivos nos processos de reconhecimento de objetos do mundo real, inclusive de micróbios... nos sistemas nervoso e imune. Essa reflexão foi tema de um artigo [5] e um editorial [6] publicados neste periódico por um de nós. Por outro lado, honrando sua tradição de abrir espaço neutro de reflexões e constituir foro imparcial de discussões de pontos de vistas variados sobre uma mesma questão, um artigo [7] publicado em um dos números passados do *Neurociências* chama a atenção para a visão de que o sistema imune não teria, nos processos cognitivos de que se vale, os finalismos que se lhe atribuem usualmente. Tal artigo abre espaço para outras reflexões e discussões sobre o tema que prometem aprofundar o debate.

Foi na tentativa de contribuir para o preenchimento dessa lacuna, com a aproximação de imunologistas, neurocientistas e neuroimunolo-

*Médico, Doutor em Biologia Humana (Imunologia), Pesquisador Titular da Fiocruz, Pesquisador do CNPq. Coordenador do Centro de Pesquisa, Diagnóstico e Treinamento em Malária e Professor de Imunologia no Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro/RJ, Tel/Fax: (21) 3865-8145. E-mail: ribeiro@ioc.fiocruz.br.

**Médico, Doutor em Ciências Biológicas (Biofísica), Pesquisador do CNPq. Diretor Geral do Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Professor Associado de Neurociência, Núcleo de Medicina Tropical / Instituto de Ciências Biológicas, UFPA, Belém/PA, Tel/Fax: (91) 3241-0032. E-mail: luiz@ufpa.br.

1 “A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em buscar novas paisagens, mas vê-las com novos olhos”. Marcel Proust [1].

gistas e fomentar a formação de jovens profissionais e estudantes nessa área, que ousamos batizar de “neuroimunologia cognitiva”, que nasceu a idéia da criação da *Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural*, promovida bienalmente pela Academia Fluminense de Medicina e pelo Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz. A Faperj e a Fiocruz, sensíveis à importância da questão, responderam prontamente à nossa solicitação de financiamento e apoiaram a realização do evento que estimula o trânsito na transdisciplinaridade.

O acerto de tal iniciativa foi refletido: a) na aceitação e nos comentários elogiosos dos conferencistas convidados, expoentes das áreas de Imunologia e Neurociência: Diogo Rizzato Lara (PUC-RS), João Palermo Neto (USP), Marcello André Barcinski (USP), Nelson Monteiro Vaz (UFMG), Roberto Lent (UFRJ) e Wilson Savino (Fiocruz, RJ); b) na decisão do *Neurociências* de publicar este número temático contendo os artigos referentes às conferências da Jornada; e c) na inscrição do número limite de participantes lotando o auditório do Pavilhão Arthur Neiva no Instituto Oswaldo Cruz.

Temos, assim, a grata satisfação de ofertar aos nossos leitores os textos que Daniel-Ribeiro & Martins, Lara, Palermo Neto, Poliana Deolindo & Barcinski, Savino e Vaz, aceitaram produzir a partir de suas conferências. O texto de Silveira será publicado no próximo número desse periódico.

Para terminar, temos que falar com orgulho e satisfação da interação entre o Núcleo de Medicina Tropical (UFPA) e o Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), nossas Instituições. Ela corresponde a uma profícua colaboração acadêmica que culmina este ano com a formação do 15º e último aluno da leva de doutores formados no Programa de Qualificação InterInsti-

tucional e criado pelos Organizadores do Evento e Editores deste número, em parceria com o Professor José Luiz Martins do Nascimento (também da UFPA) e apoio da CAPES. A história de nosso intercâmbio e de nossos esforços na construção de propostas inovadoras de enfrentamento de problemas amazônicos e brasileiros de saúde coletiva ilustra que interações entre grupos de pesquisa em Neurociência e Imunologia, além de potencialmente geradora de novos paradigmas, pode permitir, como nesse caso, a integração de diferentes regiões do país na solução de problemas comuns. A *I Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural* é uma dessas iniciativas. É com grande prazer e enorme honra que a oferecemos à comunidade científica!

Referências

1. Marcel Proust. *La prisonnière. A la recherche du temps perdu*, vol V. Paris: NRF; 1923. [citado 2010 jan 21]. Disponível em URL: <http://www.page2007.com/news/proust/1239-cette-patrie-perdue-les-musiciens-ne-se-la-rappellent-pas>.
2. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents (1936). *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1998;10(2):230-1.
3. Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosom Med* 1975;37(4):333-40.
4. Souza Passos L. Mecanismos neuropáticos no lúpus eritematoso sistêmico. *Neurociências* 2009;5(3):150-7.
5. Daniel-Ribeiro CT, Martins YC. Imagens internas e reconhecimento imune e neural de imagens externas: os caminhos e contextos das redes biológicas de cognição para a definição da identidade do indivíduo. *Neurociências* 2008;4(3):117-148.
6. Daniel-Ribeiro CT. “Neuroimunologias”. *Neurociências* 2009 ;5(1):3-5.
7. Vaz NM. Imunologia: uma harmonia de ilusões. *Neurociências* 2008;4(4):196-204.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Uma (não tão) breve história da imunologia cognitiva: mecanismos de geração e manutenção da diversidade do repertório imune

A (not so) short history of cognitive immunology: generation and maintenance mechanisms of the immune repertory diversity

Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro*, Yuri Chaves Martins**

Os autores dedicam este trabalho à Lia Catão Ribeiro e Marlene Chaves Martins, pela diversidade do repertório de lições...

« Il suivait son idée. C' était une idée fixe, et il était surpris de ne pas avancer »¹

Resumo

Com uma visão rigorosa, podemos considerar que a Imunologia nasceu na segunda metade do século XX, depois que foram reconhecidas as funções dos principais atores do Sistema Imune: linfócitos, *Bursa de Fabricius* e timo. Assim, talvez seja cabível não fazermos referência ao termo “imunologistas” para descrever os estudiosos dessa disciplina de antes de 1960. Foi nessa época, de fato, que as principais contribuições em que se baseia nossa concepção do que seja uma imunologia celular surgiram. Passamos a saber para que servem os linfócitos, as células mestras do sistema imune [2,3], a *Bursa de Fabricius*, órgão hematopoietico – presente somente nas aves – necessário para o desenvolvimento dos linfócitos, responsáveis pela produção de anticorpos [4,5] e o timo [6], órgão linfóide primário no qual amadurecem e se diferenciam os linfócitos que se encarregam de coordenar os trabalhos de todos os outros, além de eliminar células cancerosas ou infectadas por vírus ou parasitas intracelulares. Foi também no final dos anos 50 que conhecemos a Teoria da Seleção Clonal, que serviu de fundamento para a construção do entendimento das bases celulares da especificidade e da diversidade da resposta imune adaptativa [7,8]. Com uma visão menos rigorosa, podemos ponderar que a disciplina teria nascido com a “vacinologia”, na ocasião da histórica imunização do menino Joseph Meister com a vacina anti-rábica por Louis Pasteur em 1885 [9] embora o desenvolvimento da “vacinação” por Edward Jenner – a partir do vírus da doença da vaca – contra a varíola tenha ocorrido quase um século antes [10,11 p.24]. No entanto, a partir de observações realizadas já ao final do século XIX / início do XX pelos primeiros especialistas (vamos chamá-los de sorologistas), compreendeu-se muito rapidamente

*Médico e Doutor em Biologia Humana, Pesquisador Titular da Fiocruz e do CNPq, Cientista do nosso Estado da Faperj e Coordenador do Centro de Pesquisa, Diagnóstico e Treinamento em Malária da Fiocruz, **Médico e Doutorando em Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (programa MD/PhD)

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Cláudio Tadeu Daniel-Ribeiro, Laboratório de Pesquisas em Malária, Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, Av. Brasil 4365, Pavilhão Leônidas Deane – 5º andar 21045-900 Rio de Janeiro RJ, Tel&Fax (21) 3865-8145, E-mail: ribeiro@ioc.fiocruz.br

¹ Uma tradução literal seria “Ele seguia a sua idéia. Era uma idéia fixa e ele estava surpreso de não avançar”. Jacques Prévert [1]

que a introdução de substâncias em um organismo engendrava a produção de outras, os anticorpos – detectáveis no *soro* dos animais imunizados – que eram capazes de se ligar e, eventualmente, neutralizar ou destruir aquelas “invasoras” [12]. Encantou a esses senhores perceber a enorme plêiade de especificidades que estamos prontos a reconhecer; praticamente tudo o que existe na superfície (ou mesmo sob os mares) do planeta: de toxóides bacterianos a glóbulos vermelhos de outras espécies, da hemocianina de peixe a antígenos químicos (inexistentes na natureza) sintetizados em laboratório [13,14]. Não faltaram teorias as mais diversas para explicar esses recursos dos vertebrados mandibulados. Elas provocaram polêmicas e acirradas discussões, antes de gerar consenso, entre cientistas extraordinários, 10 dos quais foram agraciados com o Prêmio Nobel: von Behring (1901), Ehrlich (1908), Bordet (1919), Landsteiner (1930), Pauling (1954 e 1962), Burnet (1960), Jerne (1984), Tonegawa (1987), Zinkernagel e Doherty (1996). A evolução dos conhecimentos adquiridos desde então resultou no entendimento da estrutura da resposta imune específica e no que se conhece hoje como mecanismos de geração da diversidade do repertório imune que são historiados aqui.

Palavras-chave: arco aferente da resposta imune específica, cognição imune, idiotipos, imagens internas, imunologia, memória, reconhecimento imune, resposta imune adaptativa e rede idiotípica.

Abstract

With a rigorous approach, we might consider that immunology was born on the second half of the twentieth century, after the identification of the functions of the key players in the Immune System: lymphocytes, *Bursa de Fabricius*, and thymus. Thence, it might not be appropriate to use the term “immunologists” in reference to the specialists of this discipline before the 60’s. At that time, in fact, the most important contributions that found our current understanding of cellular immunology emerged. We learned the role of the lymphocytes, the master cells of the immune system [2,3]; of the *Bursa of Fabricius*, the hematopoietic organ – present only in birds – and which is necessary for the development of the lymphocytes responsible for antibody production [4,5]; and of the thymus [6], primary lymphoid organ where the lymphocytes responsible for coordinating the work of all others, in addition to eliminate cancerous cells or cells infected by viruses or intracellular parasites, do mature and differentiate. It was also in the late ‘50s that we learned the Clonal Selection Theory, which established the fundamentals for the construction of the understanding of the specificity’s cellular bases, and of the adaptive immune response diversity [7,8]. Upon a less rigorous approach, we could consider that this discipline would have arisen as a consequence of the “vaccinology”, together with the historical immunization of the young Joseph Meister by Louis Pasteur’s rabies vaccine in 1885 [9] although the development of the “vaccination” for the smallpox, from the cow’s disease virus, by Edward Jenner had occurred almost a century before [10,11 p.24]. However, the observations made in the late nineteenth / early twentieth century by the first experts (let’s call them “serologists”), yielded the clear understanding that the introduction of substances in an organism engendered the production of others, the antibodies – detectable in the serum of immunized animals – that were able to bind and, eventually, neutralize or destroy “foreign invaders” [12]. To perceive the enormous repertoire of specificities that we are able to recognize, i.e., practically everything that exists on the surface (or even under the seas) of the planet: from bacterial toxoids to red blood cells from other species, from fish hemocyanin to chemical antigens (non-existent in nature) synthesized in the laboratory, charmed these gentlemen [13,14]. Different theories emerged to explain these features of the mandibulated vertebrates, generating controversy and heated discussions, before reaching consensus, between extraordinary scientists, 10 of which received the Nobel Prize: von Behring (1901), Ehrlich (1908), Bordet (1919), Landsteiner (1930), Pauling (1954 and 1962), Burnet (1960), Jerne (1984), Tonegawa (1987), Zinkernagel and Doherty (1996). The evolution of knowledge, since then, has resulted in the understanding of the specific immune response structure and of the generation mechanisms of the immune repertoire diversity, with which we deal here in.

Key-words: adaptive immune response, afferent arc of the specific immune response, idiotypes, immune cognition / recognition, immunology, internal images, memory and idiotypic network.

A construção do repertório de especificidades imunes e o reconhecimento dos antígenos possíveis^{II}

“Estranhos começos”

“Where shall I begin, please, Your Majesty?” he asked. “Begin at the beginning” – the King said gravely – “and go on till you come to the end, then stop”^{III}

Pode-se dizer que a imunologia^{IV}, surgiu a partir da microbiologia médica por volta do final do século XIX, em um período que ficou conhecido como a era da bacteriologia. A Teoria dos Germes, paradigma da microbiologia, é o nome dado a um conjunto de idéias que se consolidaram entre 1880 e 1900 principalmente a partir dos trabalhos do químico francês Louis Pasteur (1822-1895)^V, e do médico alemão Robert Koch (1843-1910) e estabeleceu uma verdadeira revolução no modo como o mundo ocidental via as doenças [20]. A teoria estabelece que, como dividimos o espaço que ocupamos no planeta com seres microscópicos, alguns, que necessitam ou podem viver a expensas de outros mais evolucionados, algumas vezes causam enfermidades. Essas doenças, ditas infecciosas, envolveriam agentes patogênicos microbianos (micróbios capazes de causar patologia ou doença), que, além de transmissíveis

de uma pessoa para outra, seriam específicos das patologias que acarretariam, ou seja, cada doença infecciosa seria causada por um, e somente um, tipo específico de microorganismo (micróbio) [20]. Uma visão finalística, defensiva e antropocêntrica, nem de longe consensual, consideraria oportuno^{VI} que nosso corpo dispusesse de mecanismos que nos livrassem daqueles micróbios que penetram em nosso organismo pela alimentação, inalação ou feridas e que, eventualmente, pudessem nos fazer adoecer.

Os médicos clínicos haviam observado, já há vários séculos, que algumas doenças infecciosas, como as chamadas viroses comuns (ou próprias) da infância (caxumba, rubéola, sarampo, varicela...) e mesmo a varíola, causavam doença uma única vez nas pessoas, pois os sobreviventes a uma primeira infecção se tornavam resistentes (imunes) àquela doença, em um processo conhecido como imunização natural. Particularmente no caso da varíola, esse conhecimento fazia com que em tempos muito antigos (ano 430 a.C.) os sobreviventes de uma infecção por esse vírus fossem chamados para cuidar das pessoas infectadas e também levou a prática de um procedimento chamado de variolização [21]. Ela consistia em inocular material contaminado proveniente de pústulas de um indivíduo infectado em fase de convalescência no tecido subcutâneo de indivíduos que nunca entraram em contato com a doença. Isso fazia com que a pessoa inoculada, em 97% dos casos, desenvolvesse uma doença branda e se curasse espontaneamente adquirindo imuni-

-
- II As reflexões que compartilhamos aqui com o leitor sobre o sistema imune estão focalizadas no (que conceituamos como) seu processo cognitivo (arco aferente da resposta imune específica) e concernem, portanto, unicamente à análise dos processos e mecanismos através dos quais o sistema imune reconhece os antígenos e a si mesmo. Foge, portanto, ao escopo do artigo qualquer análise dos mecanismos e moléculas através dos quais os linfócitos e seus mediadores específicos, uma vez mobilizados, agem sobre o antígeno ou sobre outras células (arco eferente da resposta imune), depois que estes são reconhecidos pelo sistema imune. Também não analisamos a resposta imune inespecífica, inata, que não envolve as células imunes específicas. Optamos, entretanto, por descrever sumariamente a descoberta da anafilaxia na sessão “*Complicando um pouco as coisas ou a descoberta de uma resposta imune inesperada*”, por julgarmos inoportuno deixar de fora de um sobrevôo histórico da natureza e escopo do presente trabalho o conceito de resposta alérgica, ainda que ele traduza e reflita aspectos mais contextuais do que específicos da resposta imune, conforme evocamos precedentemente [15].
- III Diálogo do apressado Coelho com o Rei, a quem pede instruções de onde deveria começar a contar sua história, em “As aventuras de Alice no país das maravilhas”. *The White Rabbit put on his spectacles in Alice’s adventures in Wonderland*. Lewis Carrol, 1865. Uma tradução mais livre poderia nos fornecer o seguinte conselho do Rei: - comece no começo, e então vá indo até chegar ao fim, e aí você pára. Quem dera pudéssemos ter a certeza do Rei sobre onde começa e onde termina a história que vamos tentar contar aqui.
- IV Parece que a palavra “imunologia” foi inventada em 1911 por Frederick P. Gay (1874-1939) [16], a Associação Americana de Imunologistas (AAI, a primeira Associação Nacional de Imunologia no mundo) foi fundada em 1913 [17] e o *Journal of Immunology* (veículo oficial da AAI) foi criado em 1916 [18].
- V Existe uma corrente de historiadores que acredita que Pasteur não teria sido o primeiro a formular e estabelecer as bases empíricas para a Teoria dos Germes. Segundo essa corrente, um contemporâneo e compatriota de Pasteur, chamado Antoine Béchamp, teria feito experimentos semelhantes aos do químico francês e formulado a sua Teoria das Microzimas, alguns anos antes. É famosa a briga entre esses dois cientistas. Para mais de informações sobre esse embate e para que o leitor tire suas próprias conclusões sugerimos o artigo de Keith L Manchester intitulado “Antoine Béchamp: père de la biologie. Oui ou non?” [19].
- VI Embora não precisemos considerar que essa seja sua finalidade ou intenção

dade. A varíola foi praticada na África, Índia e China por muito tempo antes de sua introdução na Europa no século XVIII. Apesar de o procedimento ter uma mortalidade de 3%, muito alta para os padrões atuais, e poder transmitir muitas outras doenças, como a sífilis, ele tinha grande vantagem quando comparado com a mortalidade de 14% que ocorria com a transmissão natural do vírus.

No século XVIII, a varíola se popularizou na Europa graças aos esforços da aristocrata Lady Mary Wortley Montagu (1689-1762) e esse procedimento abriu caminho para os trabalhos pioneiros do médico inglês Edward Jenner (1749-1823) [10,11 p.24, Figura 1A] que provou que também podia-se obter imunização para a varíola através da exposição de pessoas a um microrganismo aparentado ao vírus da varíola humana, que causa varíola bovina, antes que estes entrassem em contato naturalmente com os vírus. Processo chamado por Jenner de vacinação^{VII}. Posteriormente o microbiologista francês Louis Pasteur (1822-1895) [9] mostrou que a imunização também poderia ser obtida através da exposição de pessoas e animais a um microrganismo inativado, antes que estes entrassem em contato com os vírus selvagens. Em outras palavras, descobriu-se que micróbios atenuados ou mortos, como no caso da raiva; ou mesmo só semelhantes ao microorganismo causador da doença, como no caso da vacina contra a varíola (realizada no homem com o vírus da vaca) ou daquela contra a tuberculose humana grave (feita em humanos com a micobactéria bovina), podem conservar (ou mimetizar) a mesma propriedade de imunização que tem o microorganismo original, sem, entretanto, causar enfermidade.

Contemporaneamente a Pasteur, no início da década de 1890, os médicos alemão Emil Adolf von Behring (1854-1917) e japonês Shibasaburo Kitasato (1853-1931) (Figuras 1b e 1c) demonstraram, no soro de animais imunizados contra difteria e tétano, a presença de proteínas que, quando transferidas para o sangue de outros animais, eram capazes de protegê-los contra as toxinas provenientes dessas bactérias [12]. Tais substâncias, inicialmente conhecidas como “antitoxinas”, foram batizadas de anticorpos e esse processo de imunização – obtido através da administração do soro de animais “imunes” (contendo os anticorpos) a animais sadios – foi denominado de soroterapia ou imunização passiva. Não tardou para que o médico alemão Paul Karl Ehrlich (1854-1915) (Figura 1d) observasse que existiam anticorpos também no sangue de animais que não haviam sido imunizados por nenhum micróbio nem tido nenhuma doença conhecida. Ehrlich chamou esses anticorpos de anticorpos naturais [23].

O enorme interesse nos procedimentos de imunização que se seguiu por várias décadas foi acompanhado de curiosa estupefação entre nossos imunologistas “ancestrais” (os “sorologistas”^{VIII}) da segunda metade do século XIX que perceberam que anticorpos contra diferentes microorganismos e as mais diversas substâncias podiam ser produzidos e sua especificidade demonstrada. Entretanto, esses dados empíricos careciam de uma fundamentação teórica, ou seja, até 1897 (quando já era possível, por exemplo, dosar quantitativamente a toxina e a anti-toxina diftérica) não havia uma teoria que conseguisse explicar como e onde os anticorpos eram gerados. Também não era conhecido o modo e a

VII O trabalho de Jenner é considerado por algumas pessoas como o trabalho fundador da imunologia, contudo ele não foi o primeiro a sugerir que a infecção por varíola bovina conferia imunidade específica contra varíola humana, nem o primeiro a utilizar a varíola bovina com esse propósito. Há provas de que era de conhecimento comum na Inglaterra de Jenner de que as ordenhadeiras de vacas eram imunes a varíola humana porque entravam em contato com a varíola bovina [ver referência da nota XIII] e há indícios de que Benjamin Jesty (1737-1816) vacinou sua mulher e filhos para varíola humana inoculando material de pústulas provenientes de vacas infectadas com varíola bovina em 1774, sendo a primeira pessoa registrada na história que utilizou racionalmente a vacinação [22]. Isso não diminui a importância de Jenner na história da vacinação, pois foi sua pesquisa e devoção ao procedimento que o popularizou na Inglaterra e, posteriormente, no mundo.

VIII Podemos nos perguntar se devemos chamar de imunologista um estudioso do assunto em uma época em que ainda não se conheciam as funções de um linfócito na resposta imune. Não obstante, podemos chamar a atenção para um espantoso contraste. Por um lado, saber para que servia um linfócito no início dos anos 60 gerou uma espantosa onda de geração de conhecimento e um extraordinário número de publicações [24 p.1]. De fato, uma consulta ao MedLine revela 29 publicações repertoriadas com a palavra chave lymphocyte em 1950, 49 em 1960, 123 em 1962 e 16.416 em 2008. Por outro lado, ainda que o conhecimento da participação dos linfócitos [2,3] na fisiologia da resposta imune seja um dos pilares da imunologia, como são também outras descobertas dessa época (a função imunológica da bursa de Fabricius [4,5] e do timo [6] e a teoria da seleção clonal de Burnet [7]) tais informações não resultaram em incremento da quantidade nem da qualidade das vacinas produzidas na segunda metade do século XX [25 p.32]. Isso parece indicar que, embora tenham sido considerados superponíveis por quase um século, os paradigmas da vacinologia de que precisamos para fabricar novas vacinas eficientes (contra parasitos, por exemplo) e da imunologia não sejam os mesmos.

razão para eles permanecerem sendo produzidos por longos períodos no sangue de pessoas e animais imunizados, mesmo na ausência de novos estímulos^{IX} por imunização e, portanto, como era gerada a “memória imunológica”.



Figura 1 – Precursores da imunologia: **a)** Edward Jenner (1749-1823) lançou as bases da vacinologia ao observar que pessoas infectadas pela varíola bovina (*cowpox*) se tornavam imunes à varíola humana (*smallpox*) e imunizar artificialmente, uma pessoa (o garoto James Phipps, na época com oito anos de idade) com o material biológico proveniente de um animal; **b)** Emil Adolf von Behring (1854-1917) ganhou o primeiro (1901) Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina “por seus trabalhos no campo da soroterapia, especialmente suas aplicações contra a difteria, que fundaram um novo campo da ciência médica e colocaram nas mãos do médico uma arma vitoriosa contra as doenças” [26]; **c)** Shibasaburo Kunitzaka (1853-1931) é responsável, junto com von Behring, pela descoberta dos anticorpos; **d)** Paul Ehrlich (1854-1915), também laureado com o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina (1908), além de contribuir amplamente para os campos da imunologia, hematologia e quimioterapia, criou a Teoria das “cadeias laterais”, que lhe permitiu cunhar o conceito de que as células do corpo possuíam receptores que poderiam ser ativados por substâncias específicas que, por sua vez, permitiriam a manipulação pelo homem das respostas biológicas através das, por ele chamadas, “balas mágicas”.

O genial Paul Ehrlich e a Teoria das Cadeias Laterais

A primeira tentativa de conceber um arcabouço teórico que explicasse todos esses aspectos da resposta imune foi feita, de forma genial, por Paul Ehrlich na chamada Teoria das Cadeias Laterais [27]. Ehrlich, além de médico, tinha sólida formação em química orgânica e postulou que a interação entre as toxinas diftérica e tetânica e suas antitoxinas se dava devido a complementaridade conformacional (estereoquímica) destas moléculas. Ehrlich também introduziu a noção de que tanto as toxinas quanto os anticorpos,

por serem moléculas grandes e complexas, deveriam ter regiões ou domínios com funções diferentes. Ele observou que a toxina diftérica, quando submetida a um processo de atenuação, perdia a capacidade de causar doença, mas mantinha a sua capacidade de imunização se transformando num “toxóide”. Para interpretar esses achados o autor propôs ainda que as moléculas de toxina teriam uma parte estável, responsável somente pela sua ligação com as células do corpo, e outra parte instável, responsável pela sua toxicidade. O processo de atenuação, desse modo, seria a degradação da parte instável sem modificação da estável, gerando o toxóide [23].

Sucintamente, a Teoria das Cadeias Laterais estabelecia que as células do corpo possuem receptores em sua membrana (as tais “cadeias laterais”) que teriam a função fisiológica de captar as (se ligando quimicamente às) substâncias nutritivas necessárias ao metabolismo celular presentes no plasma para sua assimilação. As cadeias laterais seriam específicas para cada um dos nutrientes necessários para a célula e, por isso, existiriam em uma grande variedade de tipos. Quando uma toxina ou quaisquer outras proteínas bacterianas penetrassem na corrente sanguínea se ligariam por complementaridade química a uma cadeia lateral responsável por se ligar fisiologicamente a um nutriente de estrutura parecida. Uma vez reconhecida por uma cadeia lateral, a toxina a impediria de exercer a sua atividade fisiológica e a célula responderia com a síntese de novas cadeias laterais semelhantes para poder compensar esta “perda”. Com o passar do tempo e com o aumento da concentração da toxina na corrente sanguínea, cada vez mais cadeias laterais da mesma especificidade na célula seriam bloqueadas e a resposta de síntese compensatória seria cada vez mais intensa, até o ponto em que a célula, devido à alta taxa de síntese daquela cadeia lateral, liberaria o seu excesso na corrente sanguínea havendo assim a formação de “anticorpos específicos” para aquela toxina ou proteína. Um princípio essencial para o entendimento da teoria é que a resposta celular à perda laterais é sempre hipertrofiada, ou seja, a célula não só repor as cadeias perdidas, mas sintetizaria uma quantidade maior que a inicial de cadeias e um bloqueio subsequente levaria a uma resposta ainda mais intensa, resultando na secreção das cadeias laterais no plasma. Esse processo de regeneração “hipertrofica” foi proposto pelo patologista Carl Wei-

IX Denomina-se classicamente este estímulo gerador (responsável pela gênese) do processo de síntese de anticorpos de “estímulo antigênico” (gerador de anticorpos) e, de “antígeno”, qualquer substância capaz de provocar a produção de anticorpos específicos capazes de reconhecer e interagir com ela (ver também a nota XI).

ger (1845-1904) que o denominou de “lei de supercompensação” [11 p.65]. A imunização, assim, faria com que algumas células do corpo se convertessem em células secretoras de anticorpos, responsáveis por manter seus níveis séricos no sangue após o primeiro contato com a toxina e mesmo na ausência de contatos subsequentes com ela. Os mecanismos propostos por Ehrlich em sua teoria e sua concepção do processo de formação dos anticorpos foram esquematizados nos desenhos, representados na Figura 2, que constam de seu artigo original e foram importantes para a aceitação da teoria na época.

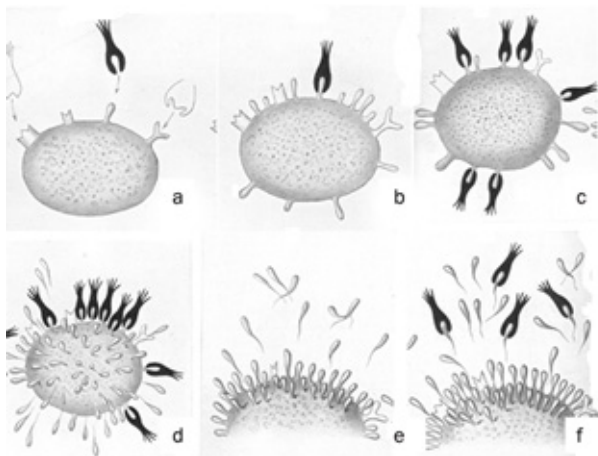


Figura 2 – Ilustrações feitas por Paul Ehrlich em seu artigo original “On immunity with special reference to cell life” [27] para representar a Teoria das Cadeias Laterais: a) um antígeno, representado pela molécula preta, ao entrar na corrente sanguínea se ligaria a uma “cadeia lateral” da célula impedindo-a de exercer sua função fisiológica de captar nutrientes necessários para a sobrevivência da célula; **b)** a célula responderia ao bloqueio da cadeia lateral pelo antígeno sintetizando mais cadeias laterais idênticas à primeira; **c)** as novas cadeias laterais sintetizadas são, por sua vez, bloqueadas por novos antígenos que estão em circulação no organismo; **d)** novamente a célula responde sintetizando um número ainda maior de cadeias laterais em uma resposta positiva, cíclica e contínua; **e)** o excesso de cadeias laterais sintetizadas pelo estímulo cíclico seria liberado na corrente sanguínea do indivíduo formando os anticorpos; **f)** as cadeias laterais livres possuiriam a capacidade de se ligar de maneira específica aos antígenos que lhes dessem origem.

A Teoria das Cadeias Laterais aplica os princípios da lei da seleção natural de Charles Darwin (1809-1882) para explicar a formação da especificidade dos anticorpos, ou seja, as cadeias já estariam presentes no organismo antes do contato com a toxina ou antígeno que apenas teria o papel de “selecionar” aquela com a qual possuísse maior

afinidade estrutural. Ela é, por isso, considerada a primeira teoria de seleção de anticorpos, e prenuncia, de certa forma, a Teoria da Seleção Clonal que seria lançada por Burnet quase 60 anos mais tarde.

Os pontos fracos da Teoria das Cadeias Laterais e as críticas de Bordet e Gruber

Os principais cientistas que se opuseram à Teoria das Cadeias Laterais na época de sua publicação, representados, sobretudo, pelo microbiologista belga Jules Jean Baptiste Vincent Bordet (1870-1961)(Figura 5a) e pelo bacteriologista austríaco Max von Gruber (1853-1927) argumentavam que ela era muito artificial não se baseando em evidências científicas sólidas. Bordet atacava principalmente a visão de Ehrlich de que as ligações toxina-anticorpo eram irreversíveis e extremamente específicas, argumentando, com base em seus estudos relativos à destruição de hemácias com anticorpos e do polonês Jan Danysz com a toxina diftérica, que essa ligação deveria ser reversível e poderia não ser tão específica. O próprio Paul Ehrlich ao especular em 1901 que nosso organismo se recusa a fabricar anticorpos contra seus próprios constituintes, conceito que batizaria de *horror autotoxicus* [28], considerando as implicações desses anticorpos na gênese de doenças, deu o primeiro passo em uma área da imunologia, não explicável por sua própria teoria, que só seria esclarecida mais de meio século depois.

Entretanto, as principais evidências que contribuíram para que a Teoria das Cadeias Laterais caísse em descrédito resultaram de trabalhos sobre a especificidade imunológica. A pergunta que os imunologistas das duas primeiras décadas do século passado se faziam concernia o número de especificidades diferentes de anticorpos que nosso organismo consegue produzir, ou seja, contra quantos e quais microorganismos e estruturas diferentes podemos sintetizar anticorpos; ou: “qual é o tamanho do chamado repertório imune?”. Em 1897, quando a Teoria das Cadeias Laterais foi formulada, conhecia-se um número limitado de anticorpos, em sua maioria, específicos para toxinas de microorganismos patogênicos. O cenário mudou rapidamente nos anos subsequentes com as descobertas de que é possível se produzir anticorpos contra os glóbulos vermelhos do sangue [29], espermatozoides, diferentes constituintes celulares e até, como Ehrlich especulara, contra estruturas do nosso próprio organismo [11 p.104]. Além disso, acumulavam-se trabalhos mostrando que soros produzidos através da imunização contra algumas bactérias podiam reagir contra cul-

turas de outras bactérias, num fenômeno chamado de reação cruzada, indicando que a especificidade dos anticorpos poderia não ser tão restrita como propusera Ehrlich.

Max von Gruber [11 p.66] questionou a Teoria das Cadeias Laterais justamente nesse ponto. Como seria possível explicar, mesmo em termos químicos, o enorme número de cadeias laterais com especificidades diferentes que nosso organismo deveria possuir para que a teoria de Ehrlich fosse válida? Como explicar o fenômeno de reação cruzada com uma teoria que pressupunha que um anticorpo deveria reconhecer um, e somente um, antígeno? A solução para esta questão foi dada por Gruber e Landsteiner ao postularem que um anticorpo poderia reagir com um conjunto de antígenos semelhantes, porém com afinidades diferentes para cada um deles, criando o conceito de afinidade gradual [11 p.66]. Essa idéia foi ilustrada bastante tempo depois no artigo do imunologista americano David Wilson Talmage (1919-) (Figura 3) [30].

Também era difícil entender, à luz dos postulados da Teoria das Cadeias Laterais, a demonstração de que antígenos submetidos a tratamentos químicos mudavam sua conformação e adquiriam a capacidade de serem reconhecidos por anticorpos com outras especificidades^x. Demonstrou-se, por exemplo, que anticorpos produzidos contra a ovalbumina (proteína do ovo de galinha), previamente submetida a um tratamento químico, também reagiam com a albumina do sangue de cavalos, se esta fosse submetida ao mesmo tratamento. Mais tarde percebeu-se que esse tipo de tratamento químico adicionava ou retirava grupamentos químicos da molécula tratada. Essas estruturas adicionadas não conseguiam, entretanto, quando inoculadas isoladamente em um animal, induzir a síntese de anticorpos, só o fazendo quando unidas quimicamente a um carreador que fosse imunogênico, geralmente uma proteína grande, e foram denominadas de haptenos^{xi}.

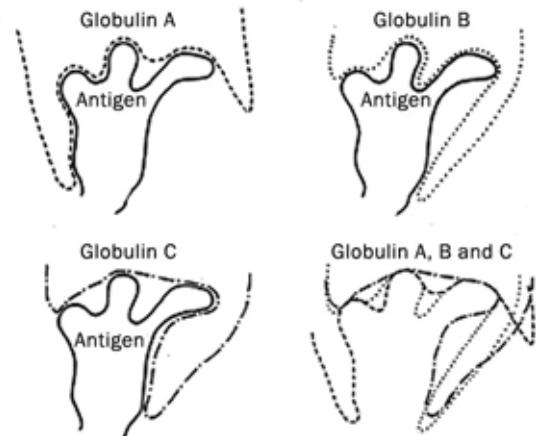


Figura 3 – Representação esquemática do artigo original de David Wilson Talmage (1919-) [30] ilustrando o conceito de “afinidade gradual” de Gruber, que foi corroborado pelos dados empíricos de Landsteiner. Por esse conceito a alta especificidade das reações imunes seria o resultado aparente da soma de especificidades semelhantes de diferentes anticorpos. O antígeno (“antigen” na figura é reconhecido fracamente por três anticorpos diferentes “globulin A”, “globulin B” e “globulin C”. Contudo, esse reconhecimento torna-se muito mais específico quando somamos as especificidades dos três tipos de anticorpos: “globulins A, B and C”.

As dúvidas do grande Landsteiner e início do fim da teoria de Ehrlich

O médico biólogo austríaco Karl Landsteiner (1868-1943) (Figura 5B) trabalhou durante grande parte da sua carreira estudando haptenos e as reações cruzadas entre soros de animais imunizados contra diferentes proteínas modificadas através da adição ou retirada dessas estruturas. Seus trabalhos nesse campo [13,14], o levaram a duas conclusões importantes, usadas para contestar a Teoria das Cadeias Laterais: a) podemos responder a praticamente qualquer antígeno, incluindo os inexistentes na natureza, sintetizados em laboratório através da adição de haptenos e b) as chamadas reações cruzadas, que ocorrem quando o soro de um animal

X A leitura do livro referencial de Arthur Silverstein sobre a história de imunologia [11] é indispensável para qualquer leitor que deseje saber um pouco mais do que se pode aprender nesta nossa breve revisão dos fatos. Entretanto, aqui recomendamos enfaticamente a leitura do capítulo 4 (p.59 a 86) do livro.

XI Hapteno é um termo que deve ser usado para definir uma substância apta a se ligar a anticorpos pré-formados, mesmo que não seja capaz de induzir a formação destes. A essa propriedade dá-se o nome de “antigenicidade” em contraposição à “imunogenicidade”, predicado das substâncias aptas a gerar uma resposta imune (inclusive de anticorpos). Assim, embora a palavra “antígeno” tenha uso corrente, aumentando as chances de confusão, deve-se preferir o uso do termo “imunógeno” para designar as últimas (ver também a nota IX).

imunizado contra um antígeno consegue reconhecer outro antígeno relacionado, porém não idêntico, não são exceções, mas ocorrem com uma frequência considerável.

Em vistas desses dados, para que a teoria de Ehrlich fosse válida, as células do nosso corpo deveriam ser capazes de produzir cadeias laterais diferentes em número suficiente para reagir com a diversidade extraordinariamente grande de substâncias existentes (e inexistentes) na natureza. Acolher tal postulado significaria aceitar na prática a idéia de que nosso organismo sintetizaria um enorme número de proteínas desprovidas, *a priori*, de qualquer função fisiológica. Além disso, o argumento de Landsteiner que encontra definitivamente o calcanhar de Aquiles da Teoria das Cadeias Laterais se baseia nas reações cruzadas. Como elas poderiam existir numa visão na qual a interação entre o antígeno e o anticorpo ocorre de uma maneira tão específica quanto uma chave e uma fechadura? Na visão de Landsteiner, a existência de reações cruzadas demonstrava que uma mesma chave reconhecia fechaduras diferentes e apoiava a hipótese da afinidade gradual de Gruber. Uma melhor explicação para o fenômeno sendo que a especificidade das reações imunes dever-se-ia não a um único anticorpo reconhecendo cada antígeno, mas a soma de vários anticorpos diferentes reconhecendo com especificidades variáveis um mesmo antígeno fazendo com que, no conjunto, o soro de uma pessoa imunizada conseguisse reconhecer especificamente aquele antígeno, como proporia Gruber.

As objeções de Bordet, Gruber e Landsteiner fizeram com que a Teoria das Cadeias Laterais fosse praticamente esquecida pelos “imunologistas” das décadas de 1910-1940, período conhecido como a era da sorologia ou da imunoquímica, caracterizado pela importância do componente bioquímico na abordagem das questões imunológicas da época. Esse período foi dominado pelas tentativas de explicação de como se formavam os anticorpos e era gerado o aparentemente enorme repertório de especificidades imunes que cada organismo possui, através das chamadas teorias instrutivas de formação de anticorpos.

As teorias instrutivas de formação de anticorpos

O que as teorias instrutivas, em oposição às teorias de seleção, defendiam era que a informação para a especificidade dos anticorpos provinha do antígeno. O antígeno, nessa concepção, seria utili-

zado como um molde a partir do qual o anticorpo se formaria, o que garantiria sua especificidade e, ao mesmo tempo, a capacidade que o organismo teria de produzir anticorpos contra a enorme plêiade de antígenos conhecidos. O número de teorias instrutivas criadas para explicar o processo de formação dos anticorpos foi grande e foge ao escopo do presente capítulo uma digressão pormenorizada de cada uma delas. Tal trabalho foi feito de forma extraordinária na obra de Silverstein [11 p.59-86]. Contudo, para entendermos melhor o racional presente nas teorias instrutivas, mostraremos a teoria de formação de anticorpos proposta, em 1940, pelo famoso químico norte-americano Linus Carl Pauling (1901-1994) (Figura 5c) [31].

A teoria de Linus Pauling

Quando Pauling desenvolveu sua teoria já se sabia que os anticorpos eram moléculas que pertenciam a uma classe de proteínas chamada de globulinas, formadas por cadeias de aminoácidos de diferentes tipos e tamanhos. Após sua síntese, tais proteínas se enovelam formando estruturas tridimensionais (terciárias) que se estabelecem devido a interações entre os átomos das diversas partes da molécula. Pode-se fazer uma analogia com um barbante ou, melhor, um fio de aço como os usados para dar brilho em panelas. A estrutura primária seria análoga ao barbante ou o fio de aço esticado, com os seus componentes enfileirados linearmente, enquanto que a estrutura terciária seria a forma com que essas estruturas ficam quando as amassamos, formando um novelo.

A teoria de Pauling partia do princípio de que todas as moléculas de anticorpos possuíam a mesma sequência linear (estrutura primária) de aminoácidos. Essa sequência poderia ser dividida em três partes, duas extremidades terminais (regiões A e C, Figura 4), instáveis, que poderiam assumir um número muito grande de configurações ou estruturas terciárias diferentes e uma parte central (região B, Figura 4), estável, que assumiria uma mesma estrutura terciária na maioria das vezes que o anticorpo fosse sintetizado. Durante a síntese de um anticorpo, se nenhum antígeno estivesse presente, a molécula de anticorpo assumiria uma configuração estável na sua parte central e uma estrutura terciária randômica qualquer nas duas extremidades instáveis (Figura 4, I a IV na coluna da esquerda). Contudo, se a síntese do anticorpo ocorresse na presença de um antígeno, a interação física das duas extremidades do anticorpo

com o antígeno faria com que essas partes da molécula tendessem a formar estruturas complementares com regiões do antígeno através de forças físico-químicas: as partes do antígeno carregadas negativamente atrairiam as extremidades do anticorpo carregadas positivamente e vice-versa (Figura 4, I a VI nas colunas central e da direita). Depois que as extremidades da molécula de anticorpo assumissem estruturas complementares ao antígeno, a parte central da molécula adotaria sua estrutura terciária final e o anticorpo poderia ser liberado na circulação (Figura 4, VI na coluna da direita). Desse modo, a molécula de anticorpo utilizaria o antígeno como um molde direto em volta do qual se dobraria formando uma estrutura complementar bivalente: dois locais de um mesmo anticorpo reconhecendo o antígeno em partes diferentes.

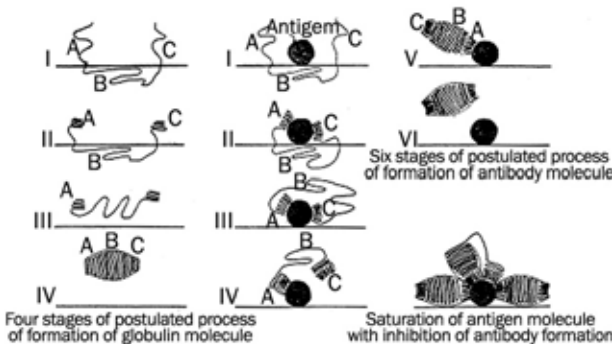


Figura 4 – Ilustração do artigo original de Linus Pauling [31] representando esquematicamente, à esquerda os quatro estágios de formação de uma molécula de imunoglobulina na ausência de antígeno, que seriam os chamados anticorpos naturais. Ao centro e à direita observamos os seis estágios propostos pelo autor para a formação dos anticorpos específicos contra um determinado antígeno através de um enovelamento das extremidades de uma proteína ao redor do antígeno. Também está representado, na extremidade inferior direita da figura, como se daria a inibição da produção de anticorpos, que se derivaria da saturação da superfície do antígeno por anticorpos inibindo a produção de novos.

Pauling argumentava, de acordo com o conhecimento da época sobre as proteínas, que era possível a existência de uma estrutura protéica como a imaginada por ele e que, se ela existisse, o número de estruturas terciárias diferentes que poderiam ser assumidas pelas extremidades instáveis da molécula seria grande o suficiente para comportar a

enorme variedade de especificidades possíveis para as moléculas de anticorpo [13,14]. Além disso, ele argumentava que não era necessário haver mudanças na sequência de aminoácidos do anticorpo para explicar a enorme variabilidade na especificidade dos anticorpos, como haviam proposto outros adeptos das teorias instrutivas [11, p.68-69].

Como as outras teorias instrutivas, a teoria de Pauling tinha uma forte base química e resolvia o problema do tamanho do repertório imune e o fenômeno de síntese de anticorpos com especificidades diferentes por ocasião da imunização por um único antígeno. Utilizando o antígeno como um molde não se podia mais argumentar que o organismo não conseguiria armazenar, durante a evolução, toda a informação necessária para produzir anticorpos específicos até mesmo contra moléculas criadas pelo homem. Além disso, resolvia-se o problema das diferentes especificidades ao argumentar que o anticorpo podia reconhecer partes diferentes da mesma molécula de antígeno e que anticorpos diferentes podiam ser formados caso se utilizasse como molde partes diferentes do antígeno.

Entretanto, nas duas décadas seguintes à publicação de Pauling, ficou claro que os anticorpos variam com relação às suas propriedades físico-químicas como: sequências de aminoácidos, avides pelos antígenos, capacidade de apresentar reações cruzadas com outros antígenos relacionados, taxa de metabolismo, distribuição entre os diferentes tecidos do corpo e capacidade de produzir reações como hemólise ou aglutinação de hemácias e fixação do complemento. Tais evidências colocavam em xeque a teoria de Pauling e foram os primeiros indícios diretamente contrários às teorias instrutivas^{XII}.



Figura 5 – Grandes nomes da história da imunologia cognitiva: a) Jules Jean Baptiste Vincent Bordet (1870-1961), importante opositor da ideia de Paul Ehrlich segundo a qual deveria haver uma alta especificidade entre antígenos e anticorpos. Ele

XII Recomendamos ao leitor interessado em consultar as referências originais das informações contidas neste parágrafo, se referir às páginas 250-251 do artigo original de David Wilson Talmage [32].

ganhou o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1919 por seus trabalhos no campo da imunologia, sobretudo a descoberta do complemento; **b)** Karl Landsteiner (1868-1943), que além de demonstrar que podemos produzir anticorpos específicos contra uma ampla gama de antígenos, inclusive os sintetizados em laboratório, foi responsável pelas descobertas dos grupos sanguíneos humanos ABO e, posteriormente, do fator Rh, pelas quais foi agraciado com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1930; **c)** Linus Carl Pauling (1901-1994), que formulou uma teoria sobre a formação de anticorpos e foi duplamente laureado com o Prêmio Nobel; o de química em 1954 “pelas suas investigações sobre a natureza da ligação química e suas aplicações na determinação da estrutura das substâncias complexas” e o da Paz em 1962, por sua importante luta pela interrupção de testes de bombas nucleares.

Frank MacFarlane Burnet e Niels Kaj Jerne entram em cena, mais dois Prêmios Nobel em incubação

“In science credit goes to the man who convinces the world, not the man to whom the idea first occurs”^{XIII}

A principal crítica às teorias instrutivas, feita pela primeira vez pelos médicos virologistas australianos Frank Macfarlane Burnet (1899-1985) e Frank John Fenner (1914-), era que elas relegavam ao segundo plano os aspectos biológicos das respostas imunes que, de certa forma, não podiam ser explicados pelas leis da físico-química. A teoria de Pauling, por exemplo, não explicava onde os anticorpos são formados, quais células são capazes de produzi-los, como elas os produzem e como o antígeno consegue entrar em contato com a molécula de anticorpo ainda em formação.

Assim, em 1949, Burnet e Fenner repertoriaram, no livro intitulado *A produção de anticorpos* [34], quatro fenômenos imunológicos conhecidos na época e não satisfatoriamente explicados pelas teorias instrutivas: 1) o crescimento exponencial da quantidade de anticorpos no plasma após a exposição a um antígeno; 2) a memória imunológica, ou seja, o fato de que, ao entrar em contato pela segunda vez com

um mesmo antígeno, produzimos mais anticorpos do que os presentes na primeira exposição; 3) o fato de os anticorpos produzidos numa segunda exposição a um mesmo antígeno serem mais específicos que os produzidos na primeira exposição; 4) o fato de a produção de anticorpos ocorrer de modo independente da presença do antígeno. Nessa obra, Burnet e Fenner propõem uma nova teoria para explicar a formação dos anticorpos baseada em fenômenos enzimáticos, que não teve muita aceitação pela comunidade científica da época principalmente pelo fato de que o mecanismo enzimático no qual se baseou ter sido negado posteriormente pelos enzimologistas. Apesar disso, o livro parece ter sido o pontapé inicial para a mudança do foco dos imunologistas, dando início a era da imunobiologia.

Seis anos após a publicação do livro de Burnet e Fenner, o imunologista dinamarquês Niels Kaj Jerne (1911-1994) publica o artigo “A teoria de seleção natural da formação de anticorpos” [35] adicionando à lista de fenômenos imunes ignorados pelas teorias instrutivas o da tolerância imunológica, ou seja, as evidências de que não existiam, a princípio, anticorpos contra antígenos presentes no próprio indivíduo^{XIV}. O artigo, propondo uma nova teoria de formação de anticorpos, marcou o retorno das teorias de seleção ao debate em imunologia.

A teoria de Jerne estabelecia que anticorpos naturais de diferentes e múltiplas especificidades seriam gerados espontaneamente pelo organismo do indivíduo e liberados na circulação sanguínea e linfática. Quando o indivíduo entrasse em contato com um antígeno, este encontraria, dentre os anticorpos naturais sintetizados previamente, alguns com a capacidade de se ligar a ele com diferentes graus de afinidade por complementaridade conformacional. O complexo antígeno-anticorpo seria então, reconhecido e fagocitado por células capazes de reproduzir o anticorpo, continuamente aumentando a sua concentração nos fluidos biológicos. Dessa maneira o antígeno teria apenas a função de selecionar os anticorpos naturais que lhe fossem específicos, iniciando um processo de replicação que se continuaria de modo independente. Caso o

XIII “Na ciência o crédito vai para o homem que convence o mundo, não para o que tem a idéia primeiro”. Francis Galton [33].

XIV O fenômeno da tolerância imunológica foi descrito pela primeira vez pelo geneticista americano Ray David Owen (1915 -) [36] em 1945 quando verificou que gêmeos bezerros dizigóticos que haviam compartilhado sangue durante seu desenvolvimento fetal (anastomoses inter-placentárias são comuns em gravidezes gemelares nos bovinos) eram quimeras capazes de produzir tanto hemácias próprias quanto as do gêmeo ao qual estiveram ligados e de receber ou doar enxertos de qualquer tecido mutuamente. Os trabalhos de Owen serviram de base para os clássicos experimentos do zoologista britânico (nascido em Petrópolis) Peter Brian Medawar (1915-1987) [37] que definiram porque os indivíduos de uma espécie rejeitam transplantes de tecidos uns dos outros e lhe renderam o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.

mesmo antígeno entrasse novamente em contato com o indivíduo, encontraria um número maior de anticorpos específicos, aumentando a velocidade de síntese e de ampliação dos títulos desses anticorpos, como observado durante as respostas imunes secundárias. Jerne também propôs que, uma vez que a replicação dos anticorpos pelas células começasse, poderiam ocorrer pequenos “erros” de replicação que ocasionalmente fariam surgir anticorpos com maior afinidade pelo antígeno justificando a observação deste fenômeno durante a resposta secundária. Jerne explicou também a tolerância imune com o argumento de que os anticorpos naturais seriam produzidos durante a embriogênese ou nos primeiros anos de vida do indivíduo, antes que o conjunto de células responsáveis por manter a replicação dos anticorpos naturais começasse a funcionar e que, nesse período, auto-anticorpos que por ventura fossem produzidos eram eliminados da circulação por algum tecido linfóide especializado que tinha sua função eliminada gradualmente com o tempo. Jerne sugeriu o Timo para fazer esta função. A teoria de Jerne tinha, contudo, ainda um ponto fraco que consistia em obrigar aos que quisessem acreditar nela a aceitar a idéia de que, ao encontrar e endocitar o complexo imune antígeno / anticorpos naturais, a célula produtora de anticorpos “saberia” replicar exatamente o anticorpo endocitado. Aceitar tal idéia era difícil, mesmo com os rudimentares conhecimentos em biologia e fisiologia celular disponíveis na época, diante da inexistência de qualquer evidência da ocorrência de tal mecanismo, que muito menos havia sido sugerido anteriormente por alguém.

Esse problema foi resolvido de forma muito parecida e, aparentemente, independente por dois cientistas diferentes: Talmage [32], em Chicago (EUA), e Burnet [7], em Melbourne (Austrália), em 1957. Talmage uniu conceitos das teorias de Paul Ehrlich e de Jerne, para sugerir que o que seria selecionado por ocasião da exposição do organismo a um antígeno não eram anticorpos circulantes, mas sim células que expressariam esses anticorpos na sua membrana celular. Ao serem selecionadas pelo antígeno, essas células se diferenciariam e proliferariam produzindo o anticorpo selecionado e permanecendo por longo tempo no organismo. Talmage argumentou que a seleção de células (em vez de anticorpos) naturais seria mais lógica visto que o tempo necessário para um animal atingir o máximo da produção de anticorpos é em torno de 30 dias. Tal tempo é de fato compatível com a idéia de

multiplicação de células e não apenas a ativação de mecanismos de síntese de proteínas celulares, o que seria muito mais rápido. Além disso, segundo ele, como a memória imunológica se mantém por longo tempo, seria necessário que células diferenciadas a mantivessem através de uma taxa contínua de proliferação, já que células indiferenciadas perderiam a característica impressa pelo antígeno ao longo do tempo, pois tenderiam a voltar a um estado inicial após vários ciclos de divisão celular. Por fim, Talmage argumentava que os anticorpos produzidos por um tipo de câncer de células linfóides, chamado de mieloma, correspondiam a apenas um tipo de anticorpo e que já se tinha sugerido que, na realidade, se tratava de apenas uma imunoglobulina que era produzida em grande quantidade. Todavia, Talmage coloca essas idéias, tão inéditas quanto acertadas, em um artigo de revisão (Alergia e Imunologia) que não tinha como objetivo principal propor uma nova teoria de formação de anticorpos e, talvez por isso, não se estendeu muito sobre elas.

Burnet, alguns meses depois, publica uma nova teoria de formação de anticorpos, que também era em essência, uma modificação da teoria de formação de anticorpos formulada por Jerne dois anos antes. Apesar de citar o artigo de Talmage, Burnet afirma em seu texto ter concebido sua teoria antes de tomar conhecimento do artigo do americano. Assim, em sua célebre Teoria de Seleção Clonal [7,8], Burnet propõe, como Talmage, que células, e não anticorpos, seriam naturalmente selecionados pelo antígeno, mas acrescenta que, na verdade, existiriam grupos de células expressando os anticorpos naturais em sua membrana de forma clonal (cada clone portando receptores de uma única especificidade para o antígeno, Figura 6). Por ocasião de uma imunização os clones específicos (e somente estes) seriam ativados e proliferariam seletivamente quando em contato com o antígeno. Uma vez ativadas, as células produziram o anticorpo correspondente ao antígeno que as selecionou (Figura 6). Para que essa seleção fosse específica cada célula deveria expressar apenas um tipo de receptor para antígeno em sua membrana (o que foi chamado posteriormente de regra de “uma célula, um receptor”) e essa célula deveria proliferar quando entrasse em contato com o antígeno específico para ela formando uma população de clones. Além disso, deveria haver, como na teoria de Jerne, um processo de geração de especificidades de anticorpos aleatório nas fases precoces do desenvolvimento seguido da eliminação das células que se mostrassem auto-reativas [7,35].

Burnet chamou a esse conjunto de postulados de “teoria da seleção clonal”^{XV}.

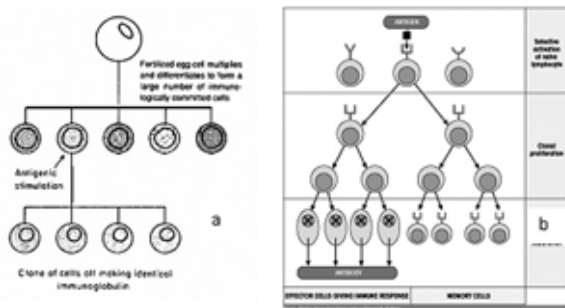


Figura 6 – Dois diagramas representando as características básicas da seleção clonal com uma diferença temporal de 34 anos. O diagrama de Gerald Maurice Edelman (1929-) [39]; **a)** ilustra a expressão de um único tipo de anticorpo por clone de linfócito através de hachuras diferentes, enquanto aquele reproduzido do livro *Roitt's Essential Immunology* [40]; **b)** delinea o mesmo fenômeno com a indicação de diferentes receptores em cada célula. O encontro com um antígeno faz com que a célula que possui o receptor correspondente prolifere produzindo vários clones de mesma especificidade. O diagrama de Roitt mostra o destino dos clones de linfócito B gerados que podem tanto se diferenciar em plasmócitos e produzir anticorpos, quanto se tornar células de memória que respondem a um contato posterior com o mesmo antígeno. A semelhança dos dois diagramas evidencia que a Teoria da Seleção Clonal sobreviveu ao longo do tempo sem a necessidade de grandes mudanças.

Ao longo das décadas subseqüentes acumularam-se evidências de que a teoria da seleção clonal estaria correta. Demonstrou-se experimentalmente a proliferação de plasmócitos durante um segundo contato com o antígeno [41]; o fenômeno de deleção de clones autoreativos e o papel do Timo no mecanismo de tolerância imunológica central [42-44]. Também se confirmou a expressão de apenas um receptor de antígeno por cada clone de células [45,46], pedra angular da teoria, através da comprovação de que praticamente todas as células B expressavam só um único alelo da cadeia pesada e leve da imunoglobulina, um fenômeno conhecido como exclusão alélica. Embora alguns reparos tenham sido feitos, a teoria de seleção clonal nos forneceu um modelo de entendimento geral da fisiologia da resposta imune cognitiva que permanece como um paradigma da imunologia válido até hoje.

Nem tudo são flores para a seleção clonal, ou Jerne volta à carga

Todos os elementos e mecanismos descritos até aqui condizem perfeitamente com a teoria da seleção clonal. Todavia, um conceito teve que ser revisto. Burnet propusera que todas as especificidades antigênicas fossem determinadas geneticamente, o que fazia de sua hipótese de geração do repertório imune uma teoria germinativa. Estima-se hoje que o número de moléculas diferentes de anticorpo (o repertório B) que um homem pode produzir seja da ordem de 10^7 . Obviamente, um genoma de cerca de 20.000 genes, não pode codificar sequer uma pequena parte das porções V das imunoglobulinas e dos TCR que já vimos serem necessárias para reconhecermos os antígenos que podemos encontrar.

A solução para esse impasse veio com uma igualmente brilhante idéia proposta por Jerne [47] apenas nove anos após a teoria de Burnet. Para encurtar a história, podemos dizer que Jerne reconheceu que Burnet estava certo em quase tudo. Entretanto, convencido de que não era possível explicar a diversidade do repertório imune em uma teoria germinativa, Jerne propôs que somente parte desse repertório seria codificada no genoma, e que a maioria das especificidades imunológicas surgiria por mutações somáticas dos genes responsáveis pelas especificidades germinativas. Apenas três anos depois o biólogo molecular e imunologista Susumu Tonegawa (1939-), pós-doc do Instituto dirigido por Jerne na Basileia, Suíça, trazia as primeiras evidências de que a geração da especificidade do repertório de anticorpo não podia ocorrer nos genes germinais e que deveria envolver mutação somática e recombinação [48]. Pouco depois, a mesma equipe mostrava evidências diretas de rearranjo somático nos genes de Ig [49, para revisão ver 50], elucidando os mecanismos envolvidos no processo de geração da diversidade imune^{XVI}.

Um ponto levantado simultaneamente foi o da associação de nossa identidade genética à (e determinante da) capacidade que têm os linfócitos T de reconhecer diferentes antígenos. Tal associação determina, na realidade o “contexto” no qual células T reconhecem antígenos, questão finalmente elucidada pelos trabalhos pioneiros e revolucionários dos imunologistas suíço Rolf Zinkernagel e australiano

XV A idéia de que a memória imunológica residiria nas células não era nova na época de Burnet e Talmage. Émile Duclaux, em 1896, já pensava que as substâncias químicas seriam muito instáveis para explicar a persistência da memória imunológica e que, por isso, ela deveria ficar armazenada nas células, que seriam componentes fixos dos tecidos [38].

Peter Doherty [51]. Esses autores mostraram, de forma elegante, que células citotóxicas de camundongos de uma determinada linhagem expostas a um determinado vírus podiam matar fibroblastos autólogos infectados por esse vírus, mas não fibroblastos de outras linhagens de camundongos com complexo principal de histocompatibilidade (CPH) diferentes [52], ainda que infectados pelo mesmo vírus. Tais resultados sugeriram que o reconhecimento do antígeno externo decorre de dois sistemas diferentes; um sistema multigênico observado nos linfócitos T e B e responsável pelo repertório imune e um sistema poli-alélico determinado pelo CPH (o HLA no homem), como, de certa forma, profetizara Jerne [47], que determina o “contexto” no qual o antígeno será reconhecido por células T.



Figura 7 – Imunologistas que juntos moldaram as bases do conhecimento da fisiologia da resposta imune específica tal qual ela é concebida hoje: a) o americano David Wilson Talmage (1919-) desenvolveu a Teoria da Seleção Celular de formação de anticorpos que serviu de base para a teoria desenvolvida por Frank Burnet. Talmage também publicou trabalhos no campo da imunologia de transplantes; **b)** o australiano Frank Macfarlane Burnet (1899-1985) gostava de se apresentar como um dos últimos representantes de uma espécie em extinção, a dos médicos naturalistas [53]. Ele desenvolveu a Teoria da Seleção Clonal e dividiu com Peter Brian Medawar o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1960 “pelas descobertas no campo da tolerância imunológica”; **c)** o dinamarquês Niels Kaj Jerne (1911-1994) criador da Teoria da Seleção Natural da formação de anticorpos e da Teoria da Rede Idiotípica, ganhou o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1984; e **d)** o japonês Susumu Tonegawa (1939-) demonstrou que a diversidade da parte variável das moléculas

de imunoglobulina se forma através recombinação genética e mutações somáticas ganhando o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1987.

Atualizando a história... ou revendo a mono especificidade dos clones

Atualmente, o postulado da seleção clonal, segundo o qual cada célula expressa apenas um receptor para antígeno ou apenas uma especificidade de imunoglobulina, encontra evidências contrárias acumuladas na literatura [54-56]. Sabe-se, por exemplo, que tanto neoplasias linfóides humanas [56] e murinas [57] quanto populações normais de células B e T humanas [58-60] e murinas [61] apresentam células que podem expressar imunoglobulinas de duas especificidades diferentes em suas membranas. Elas representam 2 a 3% dos linfócitos B humanos presentes na medula óssea e no baço e de 0,2-0,5% dos linfócitos circulantes no sangue periférico [60-62]. Com relação aos linfócitos T essa proporção parece ser ainda maior [63] chegando, em alguns casos, a 1/3 de todas as células T presentes [58]. Além disso, há evidências de que, no caso das células T, a ativação da célula por meio de uma das imunoglobulinas de membrana promove reatividade contra um antígeno reconhecido pela outra imunoglobulina expressa pela mesma célula [54], ou seja, a célula é reativa para dois antígenos diferentes ao mesmo tempo.

Já foi sugerido que essas células podem estar envolvidas em doenças autoimunes, caso uma das imunoglobulinas possa reconhecer auto-antígenos [58]. Outros autores sugerem que essas células potencialmente auto-reativas são “permitidas”, pois seriam necessárias para conferir proteção contra antígenos de patógenos que, por se parecerem com estruturas do indivíduo, induziriam a eliminação, por seleção negativa, dos clones específicos correspondentes, resultando em “lacunas” no repertório imune [64].

XVI Tonegawa mostrou que as especificidades imunes eram decorrentes da recombinação aleatória de dois (cadeia leve) ou três (cadeia pesada) segmentos gênicos, responsáveis por codificar a região variável das Ig ou TCR. Cada segmento gênico é selecionado dentre uma família de genes de cerca de 100 segmentos na região V, 23 na D e 6 na J, para as cadeias pesadas e 35 V e 5 J para a cadeia leve Kapa e 30 V e 4 J para a cadeia lambda de Ig humanas. Eles se juntam no processo de formação da porção variável da molécula de anticorpo ou TCR. Alterações adicionadas durante o processo de junção desses segmentos incorrem em aumento da diversidade das especificidades das moléculas. A associação de qualquer cadeia leve com qualquer cadeia pesada contribui para ampliar ainda mais essa diversidade. Todos esses eventos se dão antes de qualquer contato com o antígeno e determinam o repertório potencial de cerca de 10^{11} especificidades para as Ig e de 10^{17} para os TCR. Finalmente, mecanismos adicionais de diversidade – hipermutação somática – são descritos para as Ig e contribuem para a maturação da afinidade dos anticorpos após o reconhecimento antigênico. Mecanismos de regulação da geração da diversidade final do repertório imune fazem com que ele seja da ordem de 10^7 especificidades diferentes.

A existência de células B e T com duas especificidades vai diretamente contra a regra de “uma célula, um receptor” da teoria da seleção clonal e indiretamente contra a explicação de que a tolerância imune central seria gerada majoritariamente pela deleção de clones auto-reativos. Ela nos abriga a aceitar que a teoria precisa, ao menos, ser mudada em alguns aspectos para poder se adaptar ao novo corpo de evidências presente.

Complicando um pouco as coisas ou a descoberta de uma resposta imune inesperada

Até o momento contamos uma história que parecia fazer, de certo modo, sentido para todos os que atribuíssem ao sistema imune a metáfora defensiva de responder a potenciais invasores de forma a nos “defender” de microrganismos patogênicos. Embora não seja nossa proposta rever ou discutir aqui a organização e as “funções” do sistema imune tais quais são vistas pela grande maioria dos imunologistas ditos tradicionais, não é difícil entender que uma teoria da seleção clonal “atualizada”, como veremos adiante, possa ter, de fato, constituído um bálsamo unificante e explicativo dos fenômenos descritos até aqui. Contudo, paralelamente ao progressivo entendimento dos fenômenos relacionados à resposta, memória e tolerância imunes, um outro fenômeno imunológico, a anafilaxia ou alergia, foi negligenciado por décadas, em função justamente de sua inadequação ao paradigma protecionista que permeia com mais facilidade os outros fenômenos, dando origem lentamente a um diferente ramo da imunologia, a alergologia.

O médico fisiologista francês Charles Robert Richet (1850-1935) cunhou o termo anafilaxia, que significa “contrário à proteção” (oposto de profilaxia), para descrever uma reação sistêmica aguda grave que podia levar ao óbito animais de laboratório após a re-exposição a pequenas doses de algumas substâncias às quais esses animais haviam sido expostos alguns dias ou meses antes [65] em 1902. Em seu discurso ao receber o Prêmio Nobel (1913), Richet conta [66] que durante uma viagem no iate do príncipe Albert de Mônaco, junto com Georges Richard e Paul Portier, o príncipe os incitou a estudar o veneno das anêmonas marinhas (*Physalia*). O grupo

tentou imunizar cachorros com pequenas doses do veneno, só que, para sua grande surpresa, quando desafiou os animais inoculando-os novamente a toxina, percebeu que desenvolviam uma síndrome sistêmica caracterizada por colapso e choque circulatório, isquemia intestinal e morte alguns minutos após a re-exposição.

Portier e Richet publicaram em 1902 uma descrição pormenorizada da síndrome clínica apresentada pelos animais, discutindo que, em vez de ficarem protegidos contra o veneno, os animais ficavam, ao contrário, mais sensíveis a ele, de modo que mesmo doses menores do que a da primeira exposição, que já eram incapazes de causar morte, conseguiam matá-los [65]^{xvii}. A demonstração de que a sensibilização gerada pela primeira inoculação do antígeno pode ser conseguida com a transferência de soro de animais sensibilizados [71-72] foi uma das primeiras evidências da participação do sistema imune e de anticorpos na anafilaxia [11, p.218-9]. Essas evidências culminaram com as descobertas do papel da histamina [73] e de uma classe especial de imunoglobulinas, a imunoglobulina E, no fenômeno [74].

Um ano depois do trabalho de Portier e Richet, o médico fisiologista francês Nicolas Maurice Arthus (1862-1945) descreveu outro tipo de reação “prejudicial” ao hospedeiro caracterizado pelo aparecimento de lesões intradérmicas necro-hemorragicas derivadas de injeções repetidas de antígenos protéicos, que foi denominada posteriormente de reação de Arthus [75]. Em 1906, Clemens Peter Freiherr von Pirquet von Cesenatico (1874-1929) e Bela Schick (1877-1967) observaram que pacientes que recebiam soro anti-tetânico ou anti-diftérico podiam padecer de sintomas locais e sistêmicos semelhantes aos apresentados na anafilaxia, descrevendo assim a doença do soro [76]. Von Pirquet e Schick sugeriram que a doença do soro fosse derivada de mecanismos imunológicos, já que era causada por um soro hiperimune, e inventaram o termo Alergia (do grego *allos ergos* = reatividade alterada) para descrever esse e os fenômenos relacionados no qual o sistema imune, especificamente complexos imunes formados por antígeno e anticorpo, parecia estar “prejudicando” o indivíduo [11 p.217].

Estudos realizados nas últimas décadas do século passado nos permitiram entender com maior profundidade a fisiologia da resposta alérgica deixando claro que sua participação na maioria dos processos imunes

XVII O trabalho de Portier e Richet, na verdade, transformou em descoberta científica um fenômeno já descrito em trabalhos anteriores, como os do neurologista François Magendie (1783-1855) [67] e os de von Behring [68], entre outros [69,70], que havia sido interpretado como incidente experimental.

enriquece e potencializa a resposta imune por implicar na produção de mediadores importantes para ela.

Como vemos atualmente as estrutura e organização básicas do sistema imune

Imunoglobulinas

A rotina do espelho é o oposto...^{XVIII}

Sabemos atualmente que as moléculas que funcionam como receptores específicos já estão disponíveis no organismo antes do contato com o material antigênico^{XIX} e são capazes de distinguir os nossos componentes íntegros dos de outros indivíduos e dos nossos próprios componentes modificados por influência de eventuais invasores. As moléculas de proteína que permitem ao sistema imune fazer esses reconhecimentos específicos estão presentes livremente na maioria dos fluidos biológicos^{XX}, como o plasma sanguíneo, e na membrana de células chamadas linfócitos^{XXI}. Quando estão livres nos fluidos biológicos recebem o nome de Imunoglobulinas e quando estão ancoradas na membrana de linfócitos, funcionando como receptores, são chamadas de Imunoglobulinas de membrana (em linfócitos B) ou de receptores de células (linfócitos) T. A ligação entre imunoglobulinas e antígenos, como predito por Paul Ehrlich e confirmado por Landsteiner, se faz através de complementaridade química entre as moléculas. Classicamente, esse mecanismo é representado pela metáfora da interação entre uma chave e uma fechadura, que obviamente depende da conformação dos dois componentes. Além disso, como as Imunoglobulinas podem se ligar a antígenos, toda vez que falamos de uma imunoglobulina cuja especificidade é conhecida, nos referimos a ela pelo termo de “anticorpo”, que, na verdade, podemos considerar como sendo a função que a molécula de

imunoglobulina exerce. Assim, dizemos, por exemplo, anticorpo contra o vírus da poliomielite ou da gripe.

A estrutura das imunoglobulinas só foi desvendada completamente na década de 70, após um período de cerca de 20 anos no qual surgiram técnicas de biologia molecular que puderam ser aplicadas ao estudo destas moléculas [11 p.130]. No final da década de 50, sabia-se apenas que as Imunoglobulinas eram extremamente específicas, heterogêneas com relação à sua carga elétrica e havia forte indicação de que seriam divalentes e possuiriam diferentes classes [39]. Contudo, os principais empecilhos encontrados para que os anticorpos fossem submetidos às técnicas de análise protéica disponíveis na época eram o seu grande tamanho e heterogeneidade. Os primeiros passos para tentar resolver esses problemas foram dados por duas equipes de maneira independente, utilizando abordagens diferentes, porém complementares. A primeira delas foi desenvolvida pelo bioquímico inglês Rodney Robert Porter (1917-1985) que utilizou enzimas como a papaína, para digerir parcialmente as moléculas de imunoglobulinas [77]. Como as enzimas são específicas com relação ao seu sítio de ação, Porter observou que, ao serem submetidas à digestão parcial pela papaína, as moléculas de imunoglobulina se dividiam em dois fragmentos diferentes que podiam ser separados um do outro. Um desses fragmentos mantinha a propriedade de ligação ao antígeno, e por isso foi denominado de fragmento Fab (do inglês *antigen binding*), enquanto que o outro fragmento era cristalizável, recebendo o nome de fragmento Fc (Figura 8a).

Pouco tempo depois o médico, biólogo molecular e físico-químico norte-americano Gerald Maurice Edelman (1929-) observou que também era possível “quebrar” a molécula de imunoglobulina rompendo as chamadas pontes dissulfeto da molécula. Esse forte tipo de ligação se dá entre dois átomos de sulfato de

XVIII A idéia é a rotina do papel, o céu é a rotina do edifício, o início é a rotina do final, a escolha é a rotina do gosto, a rotina do espelho é o oposto, a rotina do perfume é a lembrança, o pé é a rotina da dança, a rotina da garganta é o rock, a rotina da mão é o toque, Julieta é a rotina do queijo, a rotina da boca é o desejo, o vento é a rotina do assobio, a rotina da pele é o arrepio, a rotina do caminho é a direção, a rotina do destino é a certeza, toda rotina tem sua beleza. Campanha publicitária de produtos cosméticos da linha Tododia da Natura® veiculada em julho de 2008 na televisão brasileira.

XIX Sem prejuízo deste raciocínio, deve-se abrir aqui a exceção para o fenômeno de hipermutação somática dos genes codificantes dos receptores imunes, que acontece em presença do antígeno como veremos mais adiante.

XX As imunoglobulinas estão presentes no plasma de nosso sangue, na lágrima, no líquido cérebro-espinhal, na saliva, no leite e colostro (maternos) e nas secreções de nossa árvore respiratória e tubo digestivo, para citar somente alguns locais.

XXI Embora sejam as células mestras do sistema imune, responsáveis pela especificidade e a memória das respostas aos estímulos antigênicos, os linfócitos, que tem esse nome pela sua abundância na linfa de vertebrados, só tiveram sua função imunológica descoberta, por experimentos de depleção das células da linfa de roedores, na segunda metade do século XX [2,3].

uma mesma molécula e é responsável por manter as estruturas secundária e terciária das moléculas de imunoglobulina. Contudo, como se rompiam juntamente com essas pontes, Edelman mostrou que as moléculas de imunoglobulina eram formadas por pelo menos duas cadeias polipeptídicas que se mantinham unidas através dessas ligações pois, caso contrário, a molécula não poderia se desfazer em vários fragmentos [78]. Edelman obteve dois fragmentos diferentes dos de Porter, um fragmento com cerca de 50.000 Kda, que denominou de cadeia pesada, e outro menor (20.000 Kda), que nomeou de cadeia leve (Figura 8) e cuja sequência de aminoácidos pode ser determinada pelas técnicas disponíveis na década de 1960. O problema do tamanho foi, assim, resolvido.

Contudo, o problema da heterogeneidade persistia. Particularmente duas questões incomodavam os imunologistas da época. Seria a heterogeneidade das moléculas de anticorpo devida a diferenças nas suas estruturas secundária e terciária, como previam as teorias instrutivas, ou, ao contrário, ela se deveria a variações na estrutura primária da molécula, como previam as teorias de seleção? Além disso, como seria possível criar um método de separação que pudesse purificar um único anticorpo de uma amostragem dos anticorpos produzidos por um indivíduo se as imunoglobulinas são, por definição, estruturas tão diversas? Esse problema foi resolvido também por Edelman com o estudo de um tipo especial de neoplasia denominado mieloma. Essa neoplasia é causada pela proliferação exacerbada de um único clone de linfócito, que produz e secreta um único tipo de imunoglobulina. Os pacientes secretam na urina grandes quantidades de uma proteína (chamada de proteína de Bence-Jones, em homenagem aos seus descritores). Edelman e um de seus alunos provaram que essas proteínas eram, na verdade, cadeias leves de imunoglobulina [79]. A obtenção de cadeias leves de imunoglobulina em grandes quantidades na urina dos pacientes permitiu seu estudo mais detalhado. A determinação da sequência de aminoácidos de diferentes proteínas de Bence-Jones demonstrou que elas eram heterogêneas na sua estrutura primária, particularmente em uma pequena porção na sua região amino-terminal, o que foi um ponto decisivo a favor dos defensores da Teoria da Seleção Clonal.

Trabalhos de outros cientistas mostraram que o mesmo acontecia com as cadeias pesadas de imunoglobulina, que também se mostraram compostas de uma região variável na porção amino-terminal e uma porção mais constante, na extremidade carboxi-terminal [39]. O estudo da região constante das

cadeias leve e pesada e dos fragmentos Fc descritos por Porter, permitiram a determinação de cinco diferentes classes de anticorpos: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Observou-se também que os fragmentos Fc são responsáveis pelas propriedades biológicas de cada tipo de anticorpo. Por exemplo, a IgG atravessa a barreira placentária e pode proteger o recém nascido de infecções para as quais a mãe esteja imunizada, a IgA está presente no muco e em secreções como o leite materno e a IgM tem grande capacidade de aglutinar e romper a membrana de bactérias.

Analisando os diferentes trabalhos com fragmentos de imunoglobulina gerados por diferentes enzimas e sua correspondência com as sequências de aminoácidos obtidas dos estudos das cadeias leves e pesadas, Edelman e colaboradores propuseram, em vários trabalhos entre 1965 e 1969, um modelo da estrutura da imunoglobulina G (IgG) [39]. A molécula de IgG seria estruturada por duas cadeias pesadas, com quatro a cinco segmentos (domínios) de 110 aminoácidos (AA), e duas cadeias leves (com dois domínios de 110), dispostas em paralelo e mantidas unidas (cada cadeia leve a uma pesada e as duas pesadas entre si, Figura 8) por força de ligações de pontes dissulfeto. A extremidade da molécula que se ligaria ao antígeno incluiria a metade das cadeias leves e um quarto (ou um quinto) das pesadas e corresponde à porção variável (v) das cadeias (leves e pesadas) e da molécula de IgG. É exatamente para poder (e por) se ligar aos antígenos – que têm estrutura e conformação variáveis e, portanto, especificidades antigênicas também variáveis – que essas regiões da molécula de IgG teriam que ser também bastante variáveis estruturalmente. A porção v de um anticorpo contra o vírus da poliomielite é, assim, diferente daquela contra o protozoário causador da malária ou daquela contra a vacina antitetânica.

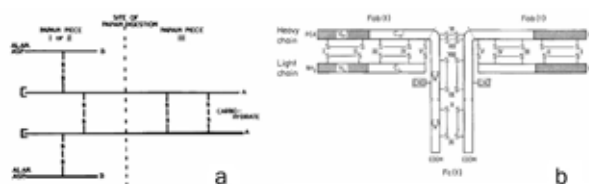


Figura 8 – Representações da molécula de imunoglobulina G humana: **a)** Ilustração de Rodney Porter em 1972 [80] mostrando a divisão da molécula em cadeias leves e pesadas, os locais de clivagem da molécula de Imunoglobulina G quando exposta à enzima papaína e a consequente formação dos fragmentos Fab à esquerda, e do fragmento Fc à direita. **b)** Desenho feito no mesmo ano por Gerald Edelman [39] também mostrando a divisão da molécula em cadeias, porém também representando as regiões variáveis

(em cinza) e constantes (em branco) da imunoglobulina G.

Estima-se que o número de moléculas diferentes de anticorpo (o repertório B) que o ser humano pode produzir seria da ordem de 10^7 [81]. Esse número é mil vezes superior ao número de todas as outras diferentes proteínas (enzimas, hormônios, receptores celulares, etc) que produzimos. Como os humanos têm cerca de 10 mg de imunoglobulina por ml de sangue (50 a 100 gramas circulantes), se dividirmos isso por 10^7 diferentes especificidades ficamos com 5 a 10 μg (cerca de 10^{13} moléculas de anticorpo) de cada especificidade no repertório imune [81]^{XXII}.

Linfócitos

“...não somente desconhecemos o destino e prazo de vida dos linfócitos do sangue, como não possuímos ainda nenhum pista sobre sua possível função no corpo”^{XXIII}

Os linfócitos são as únicas células do corpo que possuem moléculas de imunoglobulina ou seus análogos ligados à sua membrana. Essas células circulam no sangue e na linfa e estão presentes em grandes concentrações no baço, linfonodos, apêndice, placa de Peyer, timo e medula óssea que são, por isso, chamados de órgãos linfóides. Um homem tem ao todo 10^{12} linfócitos, cerca de 1% do peso (e do número total de células) do nosso organismo. Esse número de células é pelo menos uma ordem de magnitude superior (um trilhão [81] versus cem bilhões [84]) ao de neurônios.

Os primeiros indícios de que haveria células às quais se atribuiria um papel de defesa do organismo, foram obtidos com os trabalhos do biólogo Russo Elie Metchnikoff (Ilya Ilyich Mechnikov, 1845-1916) ao descrever a fagocitose, processo no qual uma célula engloba e digere alguma coisa, como uma bactéria, por exemplo [11 p.135]. Metchnikoff foi, por essa descoberta e durante toda a sua vida um forte defensor de uma “imunologia celular”^{XXIV} dando importante impulso para o início desse campo. Posteriormente podemos citar os trabalhos de Robert Koch ao descrever que a reação à injeção intradérmica de

antígenos do *Mycobacterium tuberculosis* não podia ser transferida entre cobaias pela transferência de anticorpos [85]. O trabalho de Koch foi reforçado e ampliado algum tempo depois por Landsteiner e Chase [86], que atribuíram o fenômeno de Koch a uma resposta específica, denominada de hipersensibilidade do tipo tardia, que somente podia ser transferida de um indivíduo a outro através da transferência de células brancas do sangue, os leucócitos.

Uma primeira divisão entre as reações imunes alérgicas imediatas, como a anafilaxia, descrita por Charle Richet^{XXV}, que sofriam, de alguma forma, impacto através da transferência de anticorpos e as reações imunes tardias, como a hipersensibilidade do tipo celular, que só podiam ser transferidas de um indivíduo a outro através da transferência de células foi o ponto de partida para a investigação mais aprofundada do papel das células nas respostas imunes [11. p.137]. Ao longo do tempo, observou-se que a especificidade parecia derivar-se de um grupo de células denominado linfócitos. Observou-se também que algumas doenças associadas a um estado de imunodeficiência eram acompanhadas de ausência ou déficit de formação de anticorpos e de desenvolvimento das reações alérgicas imediatas, enquanto outras dificultavam as reações de hipersensibilidade tardia. Esses dados fizeram com que alguns pesquisadores da época sugerissem que poderiam existir subpopulações diferentes de linfócitos, uma responsável pela imunidade mediada por anticorpos, imunidade humoral, e outra responsável pela imunidade mediada por células, imunidade celular [11 p.139].

Em 1948, Astrid Elsa Fagraeus demonstrou que os plasmócitos, eram os responsáveis por produzir anticorpos [87]. Oito anos depois Bruce Glick (1927-2009) e colaboradores descobriram que galinhas das quais se havia retirado um órgão chamado *Bursa de Fabricius* eram incapazes de produzir anticorpos [4]. Esse subgrupo de linfócitos que fabrica e secreta anticorpos, após sair da medula óssea, amadurece e se diferencia na *Bursa de Fabricius* somente nas aves e ficou, por essa razão, conhecida posteriormente como linfócitos B^{XXVI}. Posteriormente observou-se que os plasmócitos descritos por Fagraeus eram linfócitos B maduros. Como

XXII Ferramentas moleculares modernas têm mostrado que o repertório potencial das Imunoglobulinas pode atingir valores tão elevados quanto 10^{11} especificidades diferentes. No entanto, devido aos mecanismos de regulação, apenas cerca de 10^7 estão efetivamente circulando na periferia [82].

XXIII Gowans, em capítulo de livro, quatro anos antes de descobrir o papel dos linfócitos em 1962 [83].

XXIV Metchnikoff discutiria por anos com Ehrlich, em defesa de sua idéia de que os mecanismos de defesa seriam predominantemente mediados por células, enquanto Ehrlich, com diferente vivência científica, acreditava em um papel importante da imunidade humoral. Estavam ambos certos, tanto que se viram laureados com o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1908.

XXV Charles Richet foi agraciado como o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1913, “em reconhecimento ao seu trabalho sobre a anafilaxia”, que definiram as bases da fisiologia da resposta alérgica.

os anticorpos produzidos são secretados para o meio extra-celular e são, assim, capazes de agir à distância do local em que foram sintetizados, os linfócitos B são considerados como responsáveis pela resposta imune (ou imunidade) humoral (de humor, líquido)^{XXVI}.

Posteriormente verificou-se que, enquanto anticorpos contra um antígeno de uma determinada bactéria podem reconhecer o mesmo antígeno em outra bactéria, as reações de hipersensibilidade tardia, para ocorrer, necessitam que o antígeno esteja presente na mesma bactéria, ou seja, o “contexto” no qual se apresenta o antígeno é, nesse caso, importante [88,89]. Esse fenômeno atizou a curiosidade dos imunologistas até 1975. Uma série de experimentos demonstrou que receptores semelhantes aos presentes nas membranas dos linfócitos B, inclusive em termos de especificidade, estão presentes em outra sub-população de linfócitos; a de linfócitos T, que amadurece e se diferencia, como provado pelo imunologista Jacques Francis Albert Pierre Miller (1931-) depois que sai da medula óssea, no timo dos vertebrados [6]^{XXVII}. Essas células não produzem anticorpo nem qualquer outro tipo de mediador específico para o antígeno, embora possam produzir mediadores (conhecidos como citocinas e quimiocinas) que agem sobre outras células sem serem, entretanto, dotados de nenhuma especificidade para o antígeno; ou seja: o mediador não será específico da bactéria ou da célula específica da bactéria e agirá nas células que estejam nas redondezas (atraindo, inclusive, outras para o local da resposta imune). Evidentemente, algumas das células presentes no local da resposta imune ali estão justamente por serem específicas do mesmo antígeno que desencadeou a ativação e resposta dos primeiros linfócitos T. Elas serão ativadas por esses que, já ativados, estão secretando – próximo a elas – tais mediadores. Outras células, entretanto, serão atraídas pelas propriedades quimiotáticas dos mediadores, ainda que não sejam espe-

cíficas do mesmo antígeno, e igualmente ativadas. Os receptores expressos na superfície de linfócitos T são denominados de receptores de células T (TCR, da expressão em inglês – *T-cell receptors*).

Há mais de um tipo de célula T: 1) as células T citotóxicas, matadoras ou assassinas (Tk de *killer*, em inglês) “matam” outras células por contato direto e liberação de substâncias “letais” (que, na verdade fazem morrer as células alvo espontaneamente por deflagrar nelas um tipo de morte celular programado); 2) as células T auxiliares (Th para *helper*, em inglês) que auxiliam outros linfócitos (T ou B) a exercer sua função. Sem esse auxílio, a resposta para a grande maioria dos antígenos é nula ou muito fraca, razão pela qual eles são chamados de antígenos T dependentes. Existem alguns poucos antígenos capazes de induzir a ativação de linfócitos B diretamente sem o auxílio de linfócitos T. Diz-se, nesse caso, antígenos T independentes. 3) Uma terceira sub-população corresponde a de células regulatórias T_{reg} (um anglicismo usado por imunologistas), conhecidas no passado como células supressoras, regulam a resposta imune controlando sua intensidade. Como as moléculas de Ig ou TCR de membrana de cada célula são iguais entre si, cada célula T também será específica de um só determinante antigênico e se ativará e proliferará unicamente em presença deste antígeno. Fala-se então em expansão do clone específico ou expansão clonal.

Anticorpos contra diferentes antígenos também são diferentes antígenos: os idiotipos, os anticorpos anti-idiotipos e a imagem interna do antígeno

Os espelhos deveriam pensar um pouco mais antes de reenviar as imagens^{XXIX}

No início dos anos 60, duas equipes trabalhando independentemente, Jacques Oudin (1908-1986) &

XXVI Nunca foi identificado em mamíferos um órgão equivalente à Bursa de Fabricius, que nas aves se situa perto da cloaca [4]. A denominação de linfócitos B permaneceu, ainda assim, pois todas as evidências se acumularam no sentido de mostrar que o amadurecimento e diferenciação dos linfócitos B nos mamíferos acontecem na própria medula óssea (bone marrow, em inglês).

XXVII Cada linfócito B expressa em sua superfície cerca de 10⁵ Imunoglobulinas de membrana (ou receptores de células B) todas idênticas às moléculas que ele produzirá e secretará como anticorpo no meio extra-celular em uma velocidade de 2.000 moléculas por segundo quando ativado [81].

XXVIII Considera-se que são os linfócitos T as verdadeiras células mestras do sistema imune uma vez que sabemos, desde os anos 70, que células T e B colaboram até para que as células B façam seu trabalho de produzir anticorpos. Na Aids (Síndrome de Imunodeficiência Adquirida) há um comprometimento importante do compartimento de células T auxiliares (ver legenda da Figura 5) resultando em dramática redução da capacidade dos pacientes em responder de forma eficiente a estímulos antigênicos externos e internos e na conhecida maior susceptibilidade e vulnerabilidade a doenças infecciosas e neoplasias.

XXIX “Les miroirs feraient bien de réfléchir un peu plus avant de renvoyer les images”. Jean Cocteau (1889-1963), cineasta, ator, encenador e autor de teatro francês, um dos mais talentosos artistas do século XX. Além de ser diretor de cinema, foi poeta, escritor, pintor, dramaturgo, cenógrafo, ator e escultor. Citação de Niels Jerne no início de seu artigo sobre a Rede Idiotípica [90].

Mauricette Michel [91], na França, e Henry George Kunkel (1916-1983) e colaboradores [92], nos EUA, mostraram que moléculas de um dado anticorpo, além de se ligarem a seus respectivos antígenos, podem se portar como antígeno e serem reconhecidas por anticorpos capazes de reagir unicamente com moléculas de anticorpos daquela especificidade. Por exemplo, os imunologistas franceses Oudin e Michel [92] observaram que um anticorpo específico de *Salmonella typhi* (vamos chamá-lo de anticorpo1 – Ac1), produzido em um coelho A, podia gerar, quando injetado em outro coelho (B), anticorpos (diz-se Ac2) que reconheciam especificamente os anticorpos anti *S. typhi* (Ac1) desse coelho A, mas não as Ig presentes no soro desse mesmo coelho A antes da imunização pela *S. typhi*, os anticorpos produzidos no mesmo coelho contra outras bactérias ou mesmo anticorpos produzidos contra o mesmo antígeno – *S. typhi* – em um outro coelho.

Oudin e Michel [93] propuseram o termo “idiotipo” (idios = individual, particular) para designar o conjunto de determinantes antigênicos (idiotopos) expressos (quase que exclusivamente) na porção V de uma molécula de Ig com uma determinada especificidade (Ac1)(Figura 10a). Tais idiotipos seriam reconhecidos imunitariamente por elementos (também da porção V) de anticorpos2 (Ac2 anti-idiotipos) com complementaridade para os Ac1. Uma pequena parcela dos anticorpos anti-id reconhecem idiotopos localizados dentro do sítio de ligação com o antígeno e sua ligação com o idiotipo correspondente pode inibir (por uma espécie de “atracamento espacial”) a ligação do anticorpo com o antígeno correspondente. Convencionou-se chamar esse tipo de anticorpo anti-id de 2 β ; assim: Ac2 β . Criaram-se, também, critérios para a identificação de um Ac2 β : 1) deve haver homologia estrutural entre a região V do Ac2 β e o antígeno; 2) o antígeno deve inibir a ligação do Ac2 β (anticorpo anti-id) com o idiotipo do anticorpo contra antígeno (Ac1) e 3) a injeção de Ac2 β em animais deve induzir a formação de anticorpos funcionais contra o antígeno [94].

Com base no conjunto de informações acumuladas desde os trabalhos pioneiros de Oudin & Michel

[91] e de Kunkel e colaboradores [92] em 1963 descrevendo as bases da idiotipia, Jerne [95] propôs sua famosa Teoria da Rede Idiotípica^{xxx}. Segundo a Teoria da Rede, idiotipos e anticorpos anti-id seriam conectores de todas as moléculas de Ig (e de todos os anticorpos) do organismo. Uma vez que linfócitos B usam Ig de membrana como receptores para antígeno em sua superfície, todos os clones de linfócitos-B^{xxxI} estariam conectados uns aos outros em uma rede de cognição com o potencial de regulação e controle da resposta imune. A existência de uma rede cognitiva conectando todos os receptores de antígeno e, conseqüentemente, todas as células cognitivas do sistema imune e a existência de similaridade entre elementos da rede, os Ac2 β , e antígenos exógenos caracteriza a existência em nossa maquinaria perceptora de imagens internas dos antígenos que necessitamos reconhecer. Nesse caso diz-se que o anticorpo Ac2 β é uma imagem interna do antígeno, como proposto originalmente por Jerne [95].

Assim, podemos dizer que para cada antígeno que podemos encontrar em nossas experiências de vida (uma bactéria, um pólen de flor, uma célula tumoral...) dispomos em nosso organismo de um anticorpo (Ac1) respectivo, que corresponde à imagem em espelho do antígeno (tal qual uma luva e uma mão) e funciona como o receptor do antígeno. Possuímos também, entre vários anticorpos anti-id que têm complementaridade com a porção variável desse Ac1, um tipo específico (Ac2 β) que se liga ao sítio de ligação do Ac1 com o antígeno e corresponde a uma “imagem interna”^{xxxII} do antígeno. Tal idéia significa que o dicionário de antígenos está refletido no dicionário de idiotipos de todos os indivíduos de espécies que tem um sistema imune. Os idiotipos foram exaustivamente caracterizados em diferentes sistemas antígeno-anticorpo demonstrando que nesse sistema cognitivo a noção de imagem interna não é um conceito abstrato [93,95].

Não há obviamente espaço nem seria aqui um fórum adequado para nos estendermos sobre a fisiologia da rede idiotípica, assunto que abordamos em outro artigo publicado também no periódico *Neu-*

XXX É surpreendente e, de certa forma, patético pensar que todos os elementos necessários para a formulação da teoria da rede estavam disponíveis desde o início dos anos 60 para os cientistas que os produziram – pensamos particularmente nos trabalhos altamente imaginativos de Oudin & Michel no Instituto Pasteur em Paris. O exemplo corresponde a uma ilustração de como a informação tratada de uma certa forma, em um determinado contexto e por um cérebro dotado de um perfil de vivências e repertório de representações mentais pode gerar conhecimento que não surgiria (pelo menos naquele momento) de outra forma.

XXXI Determinantes idiotípicos e especificidades anti-idiotípicas ocorrem tanto em células T quanto em células B, embora se tenha convencionado adotar a descrição da fenomenologia idiotípica / anti-idiotípica somente em moléculas de anticorpos unicamente em função de uma preocupação com a clareza.

XXXII Um artigo no qual lidamos com a idéia de “imagens internas” dos objetos (macro e microscópicos) do mundo real e sua importância no universo cognitivo dos sistemas nervoso e imune foi publicado por nós em um dos números anteriores da *Neurociências* [15].

rociências [15]. Aos interessados em se aprofundar no tema, sugerimos igualmente a leitura do livro “Idiotypes in medicine: autoimmunity, infection and cancer” de Yehuda Shoenfeld, Ronald C. Kennedy e Soldano Ferrone [96] para maiores informações sobre o assunto.

Comentários finais

Cada objeto é o espelho
de todos os outros^{XXXIII}

Este sobrevôo histórico, que deixa de fora vários autores, eventos e trabalhos, justifica-se por várias razões: a) pela importância e brilho dos protagonistas^{XXXIV}; b) por nos permitir entender como em pouco mais de um século a imunologia se desenvolveu e passou de uma subárea da bacteriologia a um ramo da ciência biológica em expansão cada vez maior; c) para nos lembrar que as *imagens* internas do sistema imune não correspondem a um conceito virtual ou a uma metáfora e representam, ao contrário, junto com os receptores específicos para o antígeno, parte da maquinaria perceptora da qual nos servimos para responder aos antígenos; e finalmente d) para deixar claro que todos esses elementos (anticorpos, idiotipos e *imagens internas* – os tais Ac β 2) preexistem à entrada de um antígeno no organismo.

Antes de concluir essa análise dos fatos e descobertas que pavimentaram os fundamentos do que definimos como imunologia cognitiva, talvez devamos ou, ao menos, possamos, por preocupação de transparência, mais do que de clareza, informar que tal conceituação não é consensual. Alguns imunologistas e pensadores consideram que o sistema imune (e mesmo, em alguns casos, o nervoso) não seja(m) cognitivo(s). Para alguns, como Maturana “... o conhecer é indissociável do viver...”, e “viver, sim, (o “sim” é nosso) é um processo... cognitivo” [99]. Para outros, como Mpodozis “... como não é um sistema cognitivo, o sistema imune não *conhece* nem *reconhece* nada...” nós é que “em nossa atividade cognitiva... podemos legitimamente comentar que o sistema imune conhece e reconhece coisas; mas..., esta “cognição” pertence ao nosso comentário, e não à dinâmica estrutural do sistema imune, nem a suas interações com o orga-

nismo do qual é um componente” [100].

Não estamos convencidos de que seja em decorrência de nossas prerrogativas de olhar e analisar cognitivamente o *modus operandi* do sistema imune que o classifiquemos de cognitivo. Também não pensamos que precisemos atribuir qualquer intencionalidade (sobretudo uma belicista e defensiva) ao sistema imune se o virmos (ou para o virmos) deste modo. Nossa opinião é a de que, mesmo como sistema autopoiético (ou ainda como componente de um organismo autopoiético), por envolver receptores específicos e memória processual, através de seu arco aferente de resposta o sistema imune dos vertebrados mandibulados “conhece” e “reconhece” coisas (antígenos) e deve, por isso, ser considerado como cognitivo, ainda que sem prejuízo da idéia de que sua existência e funcionamento sejam desprovidos de qualquer “noção”, consciência ou “propósito

Agradecimentos

Os autores são gratos ao Doutor Luis Anastácio Alves (IOC-Fiocruz) pela leitura e cuidadosa revisão do texto. CTDR é bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq e Cientista do Nosso Estado da Faperj e YCM é doutorando bolsista da CAPES.

Referências

1. Garagnon F. Business is business. Annecy, France: Monte-Cristo; 1991. p. 198.
2. Gowans JL, Mc GD, Cowen DM. Initiation of immune responses by small lymphocytes. *Nature* 1962;196:651-5.
3. Gowans JL, Uhr JW. The carriage of immunological memory by small lymphocytes in the rat. *J Exp Med* 1966;124(5):1017-30.
4. Glick B, Chang TS, Jaap RG. The bursa of Fabricius and antibody production. *Poultry Sci* 1956;35:224-34.
5. Cooper MD, Raymond DA, Peterson RD, South MA, Good RA. The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. *J Exp Med* 1966;123(1):75-102.
6. Miller JF. Immunological function of the thymus. *Lancet* 1961;2(7205):748-9.
7. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Aust J Sci* 1955;20:67-8.
8. Burnet FM. The clonal selection theory of acquired immunity. Cambridge: Cambridge University Press; 1959.

XXXIII *Chaque objet est le miroir de tous les autres.* Maurice Merleau-Ponty (1908-1961), filósofo fenomenologista francês [97].

XXXIV Emil Von Behring; Paul Ehrlich & Ilya Mechnikov; Charle Richet; Jules Bordet; Karl Landsteiner; Linus Pauling; Frank Burnet; Baruj Benacerraf, Jean Dausset & George Snell; Niels Jerne, Georges Köhler & César Milstein; Susumu Tonegawa; Rolf Zinkernagel e Peter Doherty ganharam, em anos diferentes, o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina [98].

9. La vaccine de la rage: l' inoculation du virus rabique au berger Jupille dans le laboratoire de M. Pasteur. L' Illustration: Journal Universel. 43e année – volume LXXXVI, numero 2228, samedi 7 nov 1885.
10. Jenner E. An inquiry into the causes and effects of the variolæ vaccine, or cow-pox; in Vaccination against smallpox. London: Sampson Low; 1798. p.153-60.
11. Silverstein AM. A history of immunology. San Diego: Academic Press; 1989.
12. Von Behring E, Kitasato S. Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei thieren. Dtsch Med Wochenschr 1890;16:1113-4.
13. Landsteiner K, Lampl H. Ueber die Antigeneigenschaften von Azoproteinen. XI. Mitteilung über Antigene. Z Immunitätsforsch 1917;26:258-93.
14. Landsteiner K, Lampl H. über die Abhängigkeit der serologischen Spezifität von der chemischen Struktur. (Darstellung von Antigenen mit bekannter chemischer Konstitution der spezifischen Gruppen.) XII. Mitteilung über Antigene. Biochem. Z. 1918;86:343-94.
15. Daniel-Ribeiro CT, Martins YC. Imagens internas e reconhecimento imune e neural de imagens externas: os caminhos e contextos das redes biológicas de cognição para a definição da identidade do indivíduo. Neurociências 2008;4(3):117-48.
16. Gay FP. Immunology: a medical science developed through animal experimentation. J Am Med Assoc 1911;56:578-83.
17. Talmage DW. Beyond cellular immunology. J Immunol 1979;123:1-5.
18. Talmage DW. The acceptance and rejection of immunological concepts. Ann Rev Immunol 1986;4:1-11.
19. Manchester KL. Antoine Béchamp: père de la biologie. Oui ou non? Endeavour 2001;25(2):68-73.
20. Waller J. The discovery of the germ: twenty years that transformed the way we think about disease. New York: Columbia University Press; 2002.
21. Gross CP, Sepkowitz KA. The myth of the medical breakthrough: smallpox, vaccination, and Jenner reconsidered. Int J Infect Dis 1998;3:54-60.
22. Peard PJ. Benjamin Jesty: new light in the dawn of vaccination. Lancet 2003;362:2104-9.
23. Ehrlich P. Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums. Klin Jahrb 1897;60: 299 – 326 [English translation in The Collected Papers of Paul Ehrlich, vol 2, pp. 107-125].
24. Bach JF. Traité d' Immunologie. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 1993.
25. Vaz NM, Faria AMC. Guia incompleto de imunobiologia: imunologia como se o organismo importasse. Belo Horizonte: Coopmed; 1993.
26. Von Behring EA. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1901. [citado 2009 oct 18]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1901/index.html.
27. Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life. Proceedings of the Royal Society 1900;66:424-48.
28. Ehrlich P, Morgenroth J. Ueber haemolysine. Dritte mittheilung. Berl Klin Wochenschr 1900;37:453-8
29. Donath J, Landsteiner K. Ueber paroxysmale Hamoglobinurie. Muench Med Wochenschr 1904;51:1590-3.
30. Talmage DW. Immunological Specificity: Unique combinations of selected natural globulins provide an alternative to the classical concept. Science 1959;129(3364):1643-7.
31. Pauling L. A Theory of the structure and process of formation of antibodies. J Am Chem Soc 1940;62:2643-57.
32. Talmage DW. Allergy and immunology. Ann Rev Med 1957;8:239-56.
33. Riedel S. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. BUMC Proceedings 2005;18:21-5.
34. Burnet FM, Fenner F. The production of antibodies. 2nd ed. Melbourne, London: MacMillan; 1949.
35. Jerne NK. The natural selection theory of antibody formation. Proc Natl Acad Sci 1955;41:849-57.
36. Owen RD. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. Science 1945;102:400-1.
37. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Nature 1953;172:603-6. Phil Trans Roy Soc London 1956;B239:357-414.
38. Duclaux E. Pasteur, histoire d'un esprit. Paris;1896. p. 391.
39. Edelman GM. Antibody structure and molecular immunology. Nobel Lecture, 1972. [citado 2009 out 26]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1972/edelman-lecture.html.
40. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Specific acquired immunity. Figura 2.11. In: Roitt's Essential Immunology. 11th ed. Massachusetts: Blackwell; 2006. [citado 2009 nov 2]. Disponível em URL: <http://www.roitt.com/scripts/Roitt/sub/images02.asp>.
41. Baney RN, Vazquez JJ, Dixon FJ. Cellular proliferation in relation to antibody synthesis. Proc Soc Exp Biol Med 1962;109:1-4.
42. Chen C, Nagy Z, Radic MZ, Hardy RR, Huszar D, Camper SA, Weigert M. The site and stage of anti-DNA B-cell deletion. Nature 1995;373:252-5.
43. Goodnow CC, Cyster JG, Hartley SB, Bell SE, Cooke MP, Healy JI, Akkaraju S, Rathmell JC, Pogue SL, Shokat KP. Self-tolerance checkpoints in B lymphocyte development. Adv Immunol 1995;59:279-368.
44. Hartley SB, Cooke MP, Fulcher DA, Harris AW, Cory S, Basten A, Goodnow CC. Elimination of self-reactive B lymphocytes proceeds in two stages: arrested development and cell death. Cell 1993;72:325-35.
45. Pernis B, Chiappino G, Kelus AS, Gell PG. Cellular localization of immunoglobulins with different allotypic specificities in rabbit lymphoid tissues. J Exp Med 1965;122:853-76.
46. Cebra JJ, Colberg JE, Dray S. Rabbit lymphoid cells differentiated with respect to alpha-, gamma-, and mu- heavy polypeptide chains and to allotypic markers Aa1 and Aa2. J Exp Med 1966;123:547-58.
47. Jerne NK. The somatic generation of immune recognition. Eur J Immunol 1971;1(1):1-9.
48. Tonegawa S, Steinberg C, Dube S, Bernardini A. Evidence for somatic generation of antibody diversity. Proc Natl Acad Sci U S A 1974;71(10):4027-31.
49. Brack C, Hlrama M, Lenhard-Schuller R, Tonegawa S. A complete immunoglobulin gene is created by somatic recombination. Cell 1978;15(1):1-14.

50. Tonegawa S. Somatic generation of immune diversity. *Biosci Rep* 1988;8(1):3-26.
51. Zinkernagel RM, Doherty PC. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*. 1974;248(450):701-2.
52. Dausset J. Iso-leuko-antibodies. *Acta Haematol* 1958;20(1-4):156-66.
53. Löwy I. Les métaphores de l'immunologie: guerre ET paix. *Manguinhos* 1996;3(1):7-23.
54. Lee WT, Shiledar-Baxi V, Winslow GM, Mix D, Murphy DB: Self-restricted dual receptor memory T cells. *J Immunol* 1998;161:4513-9.
55. Matis LA, Ezquerro A, Coligan JE. Expression of two distinct T cell receptor alpha/beta heterodimers by an antigen-specific T cell clone. *J Exp Med* 1988;168:2379-84.
56. del Senno L, Gandini D, Gambari R, Lanza F, Tomasi P, Castoldi G. Monoclonal origin of B cells producing k, lambda and k lambda immunoglobulin light chains in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 1987;11:1093-8.
57. Hardy RR, Dangl JL, Hayakawa K, Jager G, Herzenberg LA. Frequent lambda light chain gene rearrangement and expression in a Ly-1 B lymphoma with a productive kappa chain allele. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:1438-42.
58. Padovan E, Casorati G, Dellabona P, Meyer S, Brockhaus M, Lanzavecchia A. Expression of two T cell receptor alpha chains: dual receptor T cells. *Science* 1993;262:422-4
59. Cuisinier AM, Fumoux F, Fougereau M, Tonnel C. IGM kappa/lambda EBV human B cell clone: an early step of differentiation of fetal B cells or a distinct B lineage?. *Mol Immunol* 1992;29:1363-73.
60. Giachino C, Padovan E, Lanzavecchia A. kappa+lambda+ dual receptor B cells are present in the human peripheral repertoire. *J Exp Med* 1995;181:1245-50
61. Gollahon KA, Hagman J, Brinster RL, Storb U. Ig lambda-producing B cells do not show feedback inhibition of gene rearrangement. *J Immunol* 1988; 141:2771-80.
62. Pauza ME, Rehmann JA, LeBien TW. Unusual patterns of immunoglobulin gene rearrangement and expression during human B cell ontogeny: human B cells can simultaneously express cell surface kappa and lambda light chains. *J Exp Med* 1993;178:139-49.
63. Heath WR, Carbone FR, Bertolino P, Kelly J, Cose S, Miller JF. Expression of two T cell receptor alpha chains on the surface of normal murine T cells. *Eur J Immunol* 1995;25:1617-23.
64. Rezanka LJ, Kenny JJ, Longo DL. 2 BCR or NOT 2 BCR – receptor dilution: a unique mechanism for preventing the development of holes in the protective B cell repertoire. *Immunobiology* 2005;210:769-74
65. Portier P, Richet C. De l'action anaphylactique de certains venins. *Compt rend Soc de boil* 1902;54:170-2.
66. Richet C. Anaphylaxis. Nobel Lecture 1913. [citado 2009 dec 19]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1913/richet-bio.html.
67. Magendie F. Lectures on the blood. Philadelphia: Aswell, Barrington and Haswell; 1839.
68. Behring E. Infektion and Desinfektion. Leipzig: Thomas; 1894.
69. Flexner S. The pathological changes caused by certain so-called tox-albumines. *Med News* 1894;65:116.
70. Héricourt J, Richet C. Effets lointains des injections de serum d'anguille. *C R Seances Soc Biol Fil* 1898;5:137.
71. Nicole M. Contribution à l'étude du "phenomena d'Arthus". *Ann Inst Pasteur* 1907;21:128-37.
72. Otto R. Zur Frage de Serumüberempfindlichkeit. *Münich Med Wschr* 1907; 54:1665-70.
73. Dale HH, Laidlaw PP. Further observations on the physiological action of beta-iminapolyethylamine. *J Physiol* 1911;41:182-95.
74. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook M. Physicochemical properties of reaginic antibody. IV. presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* 1966; 97: 75–85.
75. Arthus N. Injections répétées de sérum de cheval chez Le lapin. *C R Seances Soc Biol Fil* 1903;55:817-20.
76. Von Pirquet C, Schick B. Die Serumkrankheit. Vienna: Deuticke; 1906.
77. Porter RR. The hydrolysis of rabbit gamma-globulin and antibodies with crystalline papain. *Biochem* 1959;73(1):119–27
78. Edelman GM. Dissociation of gamma globulin. *J Am Chem Soc* 1959;81:3155-66.
79. Edelman GM, Poulik MD. Studies on structural units of the g-globulins. *J Exp Med* 1961;113:861-84.
80. Porter RR. Structural studies of immunoglobulins. Nobel Lecture, December 12, 1972. [citado 2009 nov 2]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1972/porter-lecture.html.
81. Jerne NK. The generative grammar of the immune system. Nobel lecture 1984 [citado 2009 jul 25]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1984/jerne-lecture.pdf.
82. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, Lymphocyte Development and the Rearrangement and Expression of Antigen Receptor Genes. In: Cellular and Molecular immunology. 6th ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007. p. 153-87.
83. Foley, Gowans, JL. In: Floey. General Pathology. London: Lloyd; 1958. p. 98
84. Lent L. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Atheneu; 2004.
85. Rich AR. The pathogenesis of tuberculosis. 2 ed. Illinois: Thomas; 1951.
86. Landsteiner K, Chase MW. Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds. *Proc Soc Exp Biol Med* 1942;49:688-90.
87. Fagraeus A. The Plasma cellular reaction and its relation to the formation of antibodies in vitro. *J Immunol* 1948;58:1-13.
88. Benacerraf B, Gell PGH. Studies on hypersensitivity. I. Delayed and Arthus-type skin reactivity to protein conjugates in guinea pigs. *Immunology* 1959;2:53-63.
89. Benacerraf B, Levine BB. Immunological specificity of delayed and immediate hypersensitivity reactions. *J Exp Med* 1962;115:1023-36.
90. Jerne NK. Idiotypic Networks and other preconceived ideas. *Imm Reviews* 1984;79:5-24.

91. Oudin J, Michel M. Une nouvelle forme d' allotypie des globulines du sérum de lapin, apparemment liée à la fonction et à la spécificité anticorps. Note. C R Hebd Seances Acad Sci 1963;257:805-8.
92. Kunkel HG, Mannik M, Williams RC. Individual antigenic specificity of isolated antibodies. Science 1963;140(3572):1218-9.
93. Oudin J, Michel M. On the idiotypic specificity of rabbit anti-S. typhi antibodies. C R Hebd Seances Acad Sci D 1969;268(1):230-3.
94. Bona CA, Anti-idiotypes. In: Shoenfeld Y, Kennedy RC, Ferrone S, eds. Idiotypes in medicine: autoimmunity, infection and cancer. Amsterdam: Elsevier; 1997. p.11-8.
95. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. Ann Immunol (Paris) 1974;125C(1-2):373-89.
96. Shoenfeld Y, Kennedy RC, Ferrone S, editors. Idiotypes in medicine: autoimmunity, infection and cancer. Amsterdam: Elsevier; 1997.
97. Merleau-Ponty M. Phénoménologie de la perception. Paris: Gallimard; 1945.
98. All Nobel Laureates in Medicine in Nobelprize.org. [citado 2009 jul 25]. Disponível em URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates.
99. Maturana H. In: Maturana HR, Yanez, XD. Habitar humano – Em Seis Ensaios de Biologia-Cultural. São Paulo: Palas Athena; 2009. p.295-6
100. Mpdzisz J. O modo de ouvir. In: Ramos G, ed. Onde está o organismo. Derivas e outras histórias na biologia e imunologia. Florianópolis: UFSC; in press.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Os princípios da mente e da personalidade

Diogo Rizzato Lara

O sistema que compreende o cérebro e a mente certamente é complexo, mas nem por isso deve-se supor que os princípios e leis que governam o seu funcionamento sejam únicos ou exclusivos desse sistema. A começar pela própria relação entre cérebro e mente, em que a mente pode ser considerada propriedade emergente do cérebro, um fenômeno semelhante ao que ocorre em uma célula que expressa a propriedade emergente da vida. Uma visão atual da relação cérebro-mente é a concepção de um sistema monista ou unicista com duas facetas [1], ou seja, um sistema único com duas fases ou níveis de funcionamento integrado.

Nesse artigo a mente e a personalidade serão abordadas a partir de dois princípios fundamentais. A combinação desses dois princípios formará um modelo com vetores e camadas, mas que funciona de modo integrado.

Primeiro princípio: ativação, inibição e controle

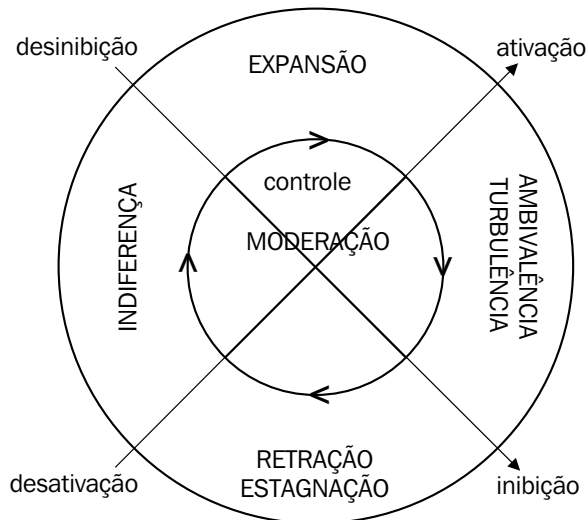
O cérebro-mente também parece ser organizado seguindo o princípio de opostos complementares, em que a coexistência de forças de sentido oposto em diversas combinações propicia controle e regulação dos processos de modo mais sofisticado e adaptável. A origem de dois pólos interdependentes de ativação-inibição pode ser historicamente reconhecida na filosofia ocidental na dialética e no oriente na relação yin-yang. Esse jogo de opostos ou contrários está presente em diversos fenômenos e sistemas. A interação dos dois vetores opostos produz uma resultante ou síntese. O padrão geral desse processo, que também se aplica ao cérebro-mente. É importante notar que ativação e inibição são independentes e dimensionais, portanto qualquer combinação de intensidade entre ativação e inibição é possível. De modo simplificado, como representado na Figura 1, a resultante de ativação alta com inibição baixa é de sintonia e de expansão. A situação oposta, com baixa ativação e alta inibição também é sintônica, mas de retração ou estagnação. Quando ativação e inibição estão altas, dá-se um quadro de antagonismos de forças, com a resultante de ambivalência ou turbulência. Quando ambas estão baixas, a situação final é de indiferença. Por fim, quando ocorrem em nível moderado ou se alternam dentro de uma faixa média, a resultante também é de moderação ou equilíbrio do sistema.

Professor Titular da Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS

Endereço para correspondência: Av. Ipiranga, 6681 Pd 12A 90619-900
Porto Alegre RS, E-mail: drlara@pucrs.br

Figura 1 - Esquema da interação bidimensional entre ativação e inibição, formando padrões sintéticos de expansão, retração, ambivalência, indiferença e moderação.

Princípio geral de ativação-inibição-controle



Como exemplos práticos desse processo aplicado a outros sistemas, pode-se entender que um carro tem o acelerador como força de ativação, o freio como força de inibição, e a velocidade é a resultante. Em outra situação, uma caixa d'água conta com a torneira ou a entrada de água como ativação, o ralo ou saída como inibição e o nível da água como resultante. Nesse caso, a ativação e a inibição estão ocorrendo simultaneamente durante a maior parte do tempo, ao contrário do carro, em que se alterna entre um e outro. Em seres vivos, podem-se reconhecer esses vetores de ativação e inibição em muitas situações: a ativação como entrada de energia (comida), a inibição como gasto de energia e a massa do indivíduo como resultante; ou a glicemia como resultante das forças que a aumentam (glucagon, cortisol, adrenalina...) e que a diminuem (insulina). No sistema nervoso periférico esse padrão também é aparente com a oposição entre os sistemas simpático e parassimpático. Em um grande número de órgãos essa interação propicia uma regulação aprimorada, tendo em geral como resultante algum tipo de tônus, seja vascular, intestinal, esfinteriano ou pupilar, entre outros. Uma vez que o sistema nervoso periférico obedece a esse princípio tão geral e comum, não seria surpreendente que o sistema nervoso central também o expressasse de algum modo.

A oposição ativação-inibição pode ser reconhecida em diversos níveis no sistema nervoso central, tanto no cérebro como na mente. Começando pelo

cérebro no nível celular, em particular o neurônio, o potencial de membrana (resultante) depende da relação entre a entrada e saída de cátions ativadores e ânions inibidores. No nível da neurotransmissão, essa relação se dá entre o neurotransmissor excitatório glutamato e o inibitório GABA. O sistema de transdução de sinal através da membrana celular também conta com proteínas-G inibitórias ou estimulatórias, que regulam o nível resultante de segundos mensageiros intracelulares. O nível de fosforilação de proteínas também depende da atividade de cinases e fosfatases e assim por diante.

Na mente, na esfera individual-emocional básica também podemos observar esse padrão dialético. O que ativa é o desejo ou a vontade, enquanto o que inibe é o medo, e a resultante dessas forças é o nível de humor ou estado de ânimo, já que o desejo está relacionado ao prazer (e, de modo geral, à subjetividade e à criação/inação) e o medo, às necessidades (e, de modo geral, à objetividade e à conservação). Dessa forma, se o desejo é alto e o medo é baixo, o comportamento e o ânimo ficam em estado expansivo, eufórico, altamente energético e direcionado ao desejo, com pouca atenção às necessidades. Já se houver a coexistência do medo alto com desejo alto, cria-se a situação de ambivalência. Se ambos desejo e medo forem baixos, dá-se a indiferença, enquanto alto medo e baixo desejo formam um estado depressivo ou de retração em que as necessidades e riscos estão ressaltados e o prazer está amortecido.

No entanto, a ativação pode acontecer de forma "positiva" ou "negativa". No caso da ativação emocional básica, a forma positiva e adaptada é a vontade, mas a sua forma negativa, distorcida ou caótica é a raiva. Em outras palavras, a energia da vontade/desejo e da raiva é essencialmente a mesma, mas pode estar em uma forma, em outra, ou nas duas formas concomitantemente. Um exemplo cotidiano disso é que quando se quer (desejo) algo que não acontece ou acontece algo que não se quer, pode-se ficar com raiva (transformação em ativação negativa) ou triste (queda da ativação, que leva à desistência do desejo), ou os dois ao mesmo tempo.

Há outra instância independente, que chamaremos de controle, que regula a ativação e a inibição, apesar de não conter uma energia intrínseca. O controle tem como função a monitorização do sistema e do ambiente, assim como a promoção da adaptação do sistema ao meio. No exemplo da caixa d'água, o controle é a bóia; no carro, é o próprio motorista, que também controla a direção do movimento.

Segundo princípio: níveis hierárquicos de organização

Além da ativação, inibição e controle no nível mental, outro princípio básico universal compreende a relação do indivíduo com o meio em diferentes níveis hierárquicos de organização [2]. Primeiro há a relação do indivíduo com ele mesmo. Em segundo lugar, a relação do indivíduo com outro indivíduo, formando um par ou poucos pares bem próximos. Depois, com alguns indivíduos, formando um grupo ou rede de amigos. Em uma esfera acima, se dá a relação do indivíduo com um grupo maior de indivíduos em contato mais esporádico ou ocasional. Esses níveis de relação são expressos linguisticamente pelos prefixos uni, bi, oligo e multi. Nos níveis mais amplos, já mais abstratos e transcendentais, acontece a relação do indivíduo com a sociedade, com o mundo e com o universo. A transição de uma esfera para a outra durante a evolução é gradual. À medida que a evolução ocorreu de répteis para mamíferos, macacos e hominídeos, as esferas cada vez mais abrangentes passaram a se expressar mais fortemente.

Esse princípio pode ser observado para qualquer indivíduo, seja uma célula, uma letra ou o ser humano. No caso de um neurônio, por exemplo, ele existe enquanto indivíduo, fazendo um par (sinapse), fazendo parte de uma rede de neurônios, de um sistema, de um órgão (cérebro), de um organismo, e esse organismo interage com o ambiente ao seu redor. No contexto da linguagem, uma letra pode ser concebida como um indivíduo, ao mesmo tempo em que forma pares ou trios (sílabas), que formam palavras (grupo). Essas palavras formam uma “comunidade” (frase) com uma identidade maior e o conjunto dessas “comunidades” forma o texto (mundo) com seus significados. No entanto, esse mesmo texto pode ser interpretado, gerando diferentes sentidos que vão além, ou seja, transcendem o significado mais aparente.

Um modelo de mente baseado na ativação-inibição-controle em 7 esferas

Esferas individual, familiar, grupal e social

Podemos entender a mente e a personalidade a partir da combinação dos dois princípios expostos acima, como representado na Figura 2. No nível emocional básico (esfera individual - 1), como descrito, a ativação positiva é o desejo, que gera atração, a raiva

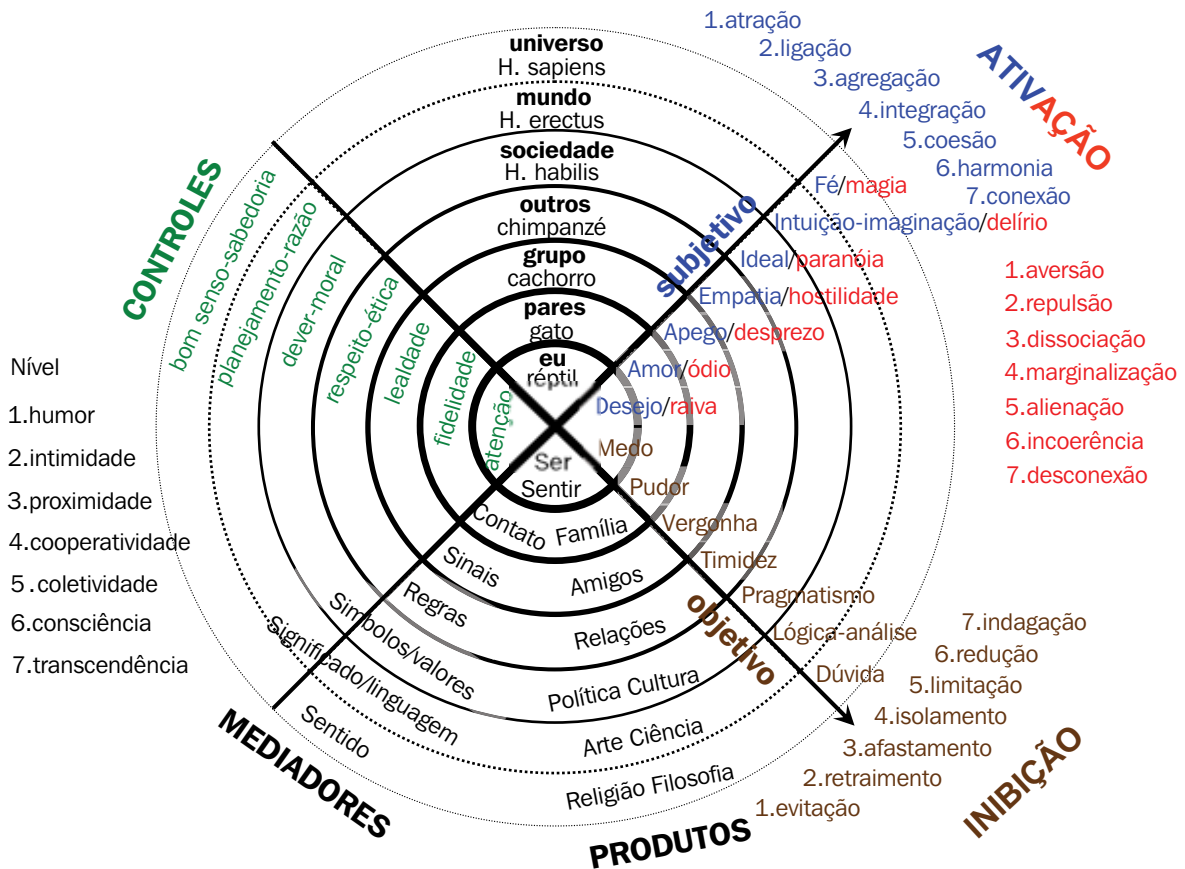
é a ativação negativa, associada à aversão e destruição, e o medo é a inibição, que opera como evitação. O controle é exercido nas formas de atenção, noção e aprendizado. Assim, o que é percebido do meio e aprendido pelo condicionamento servem para o ajustamento da ativação e da inibição às circunstâncias com fins adaptativos. As variações nesses registros principais definem o nível e a dinâmica essencial do humor e do comportamento. Essa função é presente em todos os animais, e por isso é representada como nossa porção mental “reptiliana”.

Na esfera seguinte, a esfera familiar ou do “eu com o outro” (esfera familiar - 2), dão-se as relações que formam pares, com características de alta intensidade e proximidade. A resultante nesse caso é o nível de intimidade. Como se trata da relação entre indivíduos, o vetor da ativação positiva passa a ter uma função de ligação e é exercida pelo amor, enquanto que a ativação negativa gera repulsão, mediada pelo ódio. A inibição se expressa pelo pudor e gera retraimento em relação ao indivíduo próximo. A instância de controle na esfera íntima é a fidelidade.

A relação é de grande intimidade se entre os indivíduos há muito amor e pouco ódio, associado a pouco pudor, e de baixa intimidade ou afastamento na situação contrária. A ambivalência se dá quando amor e pudor são altos ou quando amor e ódio coexistem ou se alternam rapidamente. A indiferença acontece quando amor/ódio e pudor estão baixos. Esse nível de relação íntima entre indivíduos no reino animal passa acontecer mais fortemente em aves e mamíferos, já que répteis tendem a ser isolados e não interagem com a prole. A formação de pares se dá tanto na formação de casais como entre pais (em especial mães) e filhos, e esse processo se estabelece principalmente pelo contato físico e/ou visual. Não por acaso, o que diferencia a relação entre casais da relação entre amigos é a intensidade, duração e frequência alta desse contato (ficar abraçado, de mãos dadas, no colo). As relações íntimas tendem a ocorrer muito mais em indivíduos da mesma espécie, mas é interessante notar que muitos têm esse tipo de relação íntima com seus animais de estimação, e vice-versa no caso de muitos mamíferos. O gato pode representar evolutivamente esse nível por ter relações íntimas com poucos indivíduos, mas tem pouco desenvolvida a próxima esfera, que é a grupal.

Na próxima esfera, do “eu com poucos” (esfera grupal - 3), estão as relações próximas que levam à formação de amizades e pequenos grupos. Comparado à formação de pares ou esfera familiar, a esfera grupal é mais ampla, mas menos intensa. A força

Figura 2 - Modelo bidimensional de ativação, inibição e controle aplicado às várias esferas da personalidade: 1) individual, 2) familiar, 3) grupal, 4) social, 5) cultural, 6) intelectual e 7) existencial. A ativação positiva está em azul, a ativação negativa em vermelho, a inibição em marrom e o controle está em verde.



que favorece a agregação a um grupo é o apego, enquanto que a força que gera dissociação do grupo é o desprezo. A inibição se dá pela vergonha e gera afastamento. O nível resultante é de proximidade ou pertencimento (*belonging*) àquele determinado grupo. O controle nesse nível grupal é a lealdade. O exemplo evolutivo para essa esfera é o cachorro, que, além de ter a relação a dois, é capaz de estabelecer uma relação com o grupo maior de indivíduos e tem mais senso grupal do que o gato. A comunicação entre os indivíduos de um grupo se dá por sinais, que pode incluir contato, mas tende a ser mais breve, menos intenso e mais distante do que entre os pares íntimos. Essa comunicação é mediada por sinais de vários tipos, como movimentos, toques curtos e sons. Os jogos e brincadeiras físicas são maneiras comuns de exercer esse tipo de contato entre animais. Em analogia, entre células vizinhas que formam um grupo, a liberação de sinalizadores por parte de uma célula é capaz de afetar as células ao redor dela que formam seu grupo, mas a relação de contato mais constante

é privilégio de bem poucas células vizinhas.

A esfera seguinte diz respeito ao “eu com os outros” (esfera social – 4), ou seja, que inclui indivíduos estranhos, distantes ou pouco conhecidos. A força que promove a integração social e o estabelecimento de relações com esses sujeitos é a empatia, enquanto a hostilidade gera a marginalização. A inibição é expressa pela timidez, que gera o isolamento social. O controle das relações sociais se dá pelo respeito e pela ética, e é moderado pela regras. Essa esfera já é bem desenvolvida em chimpanzés, que são capazes de interações com vários indivíduos e com indivíduos estranhos para formar relações de interesse mútuo (por exemplo, pesquisadores) ou aparentemente desprezido (como altruísmo ao compartilhar comida com outros que não a obtiveram). Além disso, chimpanzés podem prover suporte social para os membros mais idosos ou debilitados do grupo. A base neurobiológica para esse fenômeno parece estar relacionada aos neurônios espelho [3].

Esferas cultural, intelectual e existencial

Até a esfera social, as relações são entre sujeitos. A partir daí ocorre uma transformação e um acréscimo qualitativo que propicia a relação com a informação e conceitos mais abstratos. São as esferas cultural (relação com a sociedade como entidade em si), intelectual (relação com o mundo) e a espiritual ou existencial (relação como o universo). Essas são as esferas que mais diferenciam o gênero homo dos outros primatas e provavelmente estão associadas ao aumento da lateralização cerebral [4], além de um desenvolvimento cortical e cerebelar além do relacionado à ampliação das esferas de relação com os outros indivíduos [5].

A esfera cultural (esfera 5) diz respeito a valores do grande grupo (comunidade) e seus pressupostos morais e políticos. O que mantém a comunidade unida entre seus indivíduos é um grupo de regras e valores comuns, ou seja, se estabelece um contrato social entre indivíduos que não se conhecem, mas aceitam seguir as mesmas regras e padrões. Essa esfera já requer algum grau maior de percepção simbólica para conceber a identidade de uma sociedade específica. Em humanos modernos, identifica-se essa característica bem desenvolvida ao ser e se conceber como integrante de um país, de uma classe profissional ou de um clube (de futebol, por exemplo). O nível resultante é de coletividade. A ativação positiva dessa esfera se dá pelas idéias e ideais, que forjam a coesão da sociedade, enquanto a ativação negativa é a paranóia, que torna o indivíduo alienado. A inibição se dá pelo pragmatismo e pela abordagem concreta, que limita, consolida e “reduz” a relação com a sociedade. O controle se manifesta pelo senso de dever e pela moral. Pode se supor que essa esfera tenha se desenvolvido nos primeiros hominídeos, como o *Homo habilis*, que contavam com um cérebro maior do que os outros primatas. A novidade foi exercitar algum tipo de idéia nova para manipular um objeto para um fim novo e específico (como a pedra lascada para cortar). Esse tipo de capacidade e conhecimento possibilita a formação de uma cultura rudimentar que pode ser criada, compreendida e transmitida, mesmo que seja por imitação.

O próximo nível de relação se dá com o mundo (esfera intelectual – 6), que é mais ampla e menos intensa do que com a comunidade ou sociedade. A visão mais complexa de mundo requer uma capacidade cerebral e mental ainda mais desenvol-

vida. A ativação positiva nessa esfera se dá pela intuição, imaginação, indução e abstração, que são não-lineares, mas buscam e geram a harmonia. A ativação negativa se dá pela formação do delírio, que leva à incoerência, mas de certa forma à harmonia interna. A inibição ocorre através da lógica, constatação, dedução e análise, que são lineares e geram a redução e a fragmentação. A razão (que faz o balanço entre os pensamentos intuitivo e lógico), o planejamento e o conhecimento funcionam como controle. Nessa esfera intelectual aumenta a capacidade mental por se poder perceber o que está “um passo adiante” de maneira natural, seja no sentido de imaginar algo novo ou deduzir algo novo a partir de informações existentes. Um exemplo dessa abstração é um desenho, que representa a coisa, mas não é a própria coisa. Requer um passo intelectual a mais, é “como se fosse”. Esse processo de simbolização exige a capacidade de atribuir um novo significado ao desenho. De modo semelhante, ao observar um objeto ou material pode-se vislumbrar modificações que o transformem em uma nova ferramenta. Esse processo mental faz com que o indivíduo incorpore significado aos objetos, atos e às suas próprias vivências. A resultante desse processo é o nível de conhecimento e de consciência. Nessa esfera que se dá o pontapé inicial para o surgimento e o desenvolvimento da arte e da ciência. Também pela aumentada capacidade de imaginação, processamento simbólico e lógico, criam-se as condições para o desenvolvimento de uma linguagem mais desenvolvida. Essa linguagem, por sua vez, é usada para descrever e explicar o próprio mundo e formular uma noção mais ampla de tempo. Essa esfera passa a ser mais desenvolvida no *Homo erectus*, que tinha capacidade cerebral cerca de 50% maior do que a do *Homo habilis* e já bem perto da do *Homo sapiens*. O *Homo erectus* provavelmente manifestava uma linguagem vocal e gestual, passou a desenhar e a voluntária e conscientemente construir instrumentos mais sofisticados e variados [6]. Sua visão maior de mundo também se refletiu no fato de terem sido os primeiros hominídeos a migrar para outros continentes além da África. O fato de caçarem em grupo também demonstra sua maior capacidade maior de planejamento e inovação.

Na última e mais ampla esfera (existencial - 7), se dá a relação com o universo ou com o todo, ou seja, com o que está mais além. Enquanto na esfera anterior se busca o significado, na relação com o

universo se dá a busca de sentido e da verdade. A ativação nesse plano gera a conexão subjetiva com o universo ou com o todo e acontece através pela fé e crença na forma positiva, e na forma negativa pela magia e fanatismo. A ativação nessa esfera percebe sutilezas e opera no padrão “crer para ver”. A inibição gera separação, que se expressa pela dúvida, se foca no que é aparente e opera no padrão “ver para crer”. A função de controle é exercida pelo bom senso e pela sabedoria. Assim, nessa esfera se desenvolveram os campos da religião e da filosofia, que são bem mais recentes evolutivamente e provavelmente exclusivos do *Homo sapiens*. Houve também a expansão da percepção de tempo, que dá margem à esperança e visão no longo prazo. A ampliação da capacidade de interpretação dos fatos gera como resultante desse processo o nível de sabedoria e transcendência. Pode-se perceber que, por se tratarem de resultantes de esferas diferentes (mundo e universo), uma pessoa pode ter níveis bem diferentes de conhecimento e sabedoria. Na sociedade, atribuímos sabedoria aos líderes religiosos e aos filósofos, o conhecimento lógico-concreto a técnicos e cientistas, e o conhecimento simbólico-abstrato aos artistas.

Além da filogenia evolutiva, o desenvolvimento dessas esferas descritas tende a seguir um padrão ontogenético, em que as esferas mais internas ou inferiores se manifestam mais precocemente e desaceleram também mais cedo. Ou seja, primeiro começam as relações consigo mesmo e as íntimas (pares), para depois passarmos a nos relacionar com um grupo (amigos) nos primeiros anos de vida, e mais tarde ainda com os outros e a comunidade. A aquisição da cultura, o acúmulo de conhecimento e o desenvolvimento da consciência sobre o mundo também são mais tardios e se prolongam por um grande período, enquanto que a sabedoria e a transcendência aumentam ainda mais tardiamente. Em particular autotranscendência aumenta significativamente a partir da quarta década de vida [7].

Cada uma dessas sete esferas pode ser mais ou menos desenvolvida no sujeito, e podem estar em sintonia ou em relativo conflito entre si. Note-se que as regiões de ambivalência em cada uma das esferas são comuns (por exemplo, ter fé e dúvida ao mesmo tempo), e uma pessoa pode ser preferencialmente científica, lógica e analítica na relação com o mundo, mas ter uma crença predominantemente baseada na fé e religião com o universo, como é o exemplo de Francis Collins, coordenador do projeto genoma e cristão convicto [8].

Implicações do modelo para o entendimento dos transtornos psiquiátricos

Atualmente os transtornos psiquiátricos são classificados em categorias, partindo do princípio de que são entidades separadas, o que não condiz com a literatura [9,10]. Como se não bastasse, parte-se do princípio de que humor, comportamento, cognição e personalidade (e seus transtornos) são processados separadamente. No entanto, está claro de que o cérebro não tem regiões ou neurotransmissores específicos para cada uma dessas funções. Esses diferentes módulos teóricos operam de modo integrado e o nosso cérebro-mente faz um ótimo trabalho em nos passar a sensação de que somos um todo coerente, e não uma soma de partes.

O presente modelo permite entender os transtornos psiquiátricos como produto da desregulação por excesso ou deficiência de cada um dos vetores de ativação, inibição e/ou controle nas diversas camadas. A predisposição à saúde mental está representada na posição centralizada, mostrada como moderação na Figura 1. Assim, os chamados transtornos externalizantes, como transtorno bipolar, personalidade antisocial (com baixa empatia e alta hostilidade), abuso de drogas, excessos no comportamento (sexo, compras, jogo...), seriam decorrentes do excesso de ativação, frequentemente associados também à falta de inibição na esfera emocional básica. Os transtornos internalizantes, como depressão unipolar e vários transtornos de ansiedade são decorrentes do excesso de inibição e/ou deficiência de ativação (particularmente na depressão). A deficiência de apego também ocorre no autismo. Mas há muitos casos em que há a co-ocorrência de transtornos internalizantes e externalizantes, comum em pessoas de base temperamental ciclotímica, com tendência a transtorno de estresse pós-traumático, bulimia, paranóia, ataques de pânico e cleptomania, assim com transtorno de personalidade borderline. Esses pacientes apresentam desregulação da ativação mental (que oscila entre baixa e alta e/ou entre as formas positiva e negativa) e alta sensibilidade emocional. Já os transtornos obsessivos compulsivos envolveriam excessos de controle e de inibição em vários níveis (principalmente de análise e dúvida), mas também podem ocorrer obsessões e compulsões ao longo do vetor da ativação (como sexuais, agressivas ou religiosas). Aqueles com deficiência de ativação, inibição e controle apresentam déficit de atenção (ligado ao baixo controle e motivação) e hiperatividade (por desinibição).

É interessante notar, por exemplo, que alguém que apresente um quadro de mania eufórica tende a se manifestar de maneira expansiva em todas as esferas. Na esfera emocional, como alto desejo e baixo medo; nas esferas de relação, com alto apego, prodigalidade e grande interação social; na esfera da relação com o mundo (intelectual), apresentam-se em um estado altamente intuitivo e artístico e pouco racional e lógico; e na esfera da relação com o universo (existencial), relatam uma conexão com o universo, a sensação de sentido da vida e a proximidade com Deus, que pode chegar ao delírio de serem os próprios mensageiros de Deus. Esses casos mostram como essas esferas apresentam algum grau de interação e sincronia entre elas.

Na esfera das relações, aqueles com baixo apego e amor têm tendências autistas, enquanto os com alta expressão de amor e ódio concomitantemente tendem ao transtorno de personalidade *borderline* e a quadros de co-dependência afetiva. Já a esquizofrenia corresponde à baixa expressão dos níveis do afeto (eu com o outro, com o grupo e com a comunidade), assim como com o mundo e o universo. Por isso esses pacientes dão a impressão clínica de terem sido “desumanizados” pela doença. Do ponto de vista cognitivo, por exemplo, pacientes com esquizofrenia apresentam deficiências de lógica assim como de abstração.

A terapêutica de qualquer natureza pode promover a melhora do indivíduo agindo por meio da correção de excessos ou deficiências de ativação e/ou inibição nas diferentes esferas. Quanto à psicofarmacologia, os remédios disponíveis atualmente são capazes de desinibir (vários antidepressivos e ansiolíticos), de desativar (antipsicóticos e alguns estabilizadores de humor do tipo anticonvulsivantes), de ativar e aumentar o controle (metilfenidato e alguns antidepressivos dopaminérgicos) e de inibir (lítio e clonidina, parte do efeito de metilfenidato), particularmente na esfera emocional básica. As psicoterapias promovem o mesmo fenômeno, mas há um efeito potencial maior nas outras esferas das relações do indivíduo com o meio.

Conclusão

Esse modelo de mente parte de dois princípios norteadores bastante simples, mas suas interações geram um grau de complexidade maior. Pensar o ser e o diagnóstico psicológico/psiquiátrico em termos de ativação, inibição e controle nos planos individual, familiar, grupal, social, cultural, intelectual e existen-

cial ajuda a sistematizar o pensamento e a fornecer alguns insights para a compreensão integrada da mente, mas é uma construção didática.

O ser humano em geral parece ficar mais feliz quando exerce seus desejos, amplia suas capacidades e virtudes, estabelece relações amorosas, de amizade, interage bem com a comunidade, segue seus ideais e valores, desenvolve trabalhos criativos, tem uma vivência estética (como no caso da arte), quando é movido pela fé e exerce sua espiritualidade de algum modo [11]. O que faz com que cada uma dessas características dos eixos de ativação, inibição e controle seja adaptativa ou desadaptativa é a sua expressão e colocação nos contextos específicos de um sujeito específico. Como as pessoas têm predisposições distintas nas diversas esferas, pode-se pensar também que o mais adaptativo seja exercer as características mais naturais em ambientes favoráveis para elas. De qualquer forma, o indivíduo interage constantemente com o ambiente, e essas interações modificam e lapidam a ambos em um processo dinâmico e cíclico.

Referências

1. Panksepp J. Emotional feelings originate below the neocortex: toward a neurobiology of the soul. *Behav Brain Sci* 2007;30:101-3.
2. Engel GL. The clinical application of the biopsychosocial model. *Am J Psychiatry* 1980;137:535-44
3. Haidt J. The new synthesis in moral psychology. *Science* 2007;316:998-1002.
4. Corballis MC. From mouth to hand: gesture, speech, and the evolution of right-handedness. *Behav Brain Sci* 2003;26:199-208.
5. Dunbar RI. The social brain hypothesis and its implications for social evolution. *Ann Hum Biol* 2009;36:562-72.
6. Wynn T. The evolution of tools and symbolic behavior. In: Lock A, Peters C, eds. *Handbook of human symbolic evolution*. Oxford: Clarendon; 1996.
7. Cloninger CR, Svrakic DM, Przybeck TR. A psychobiological model of temperament and character. *Arch Gen Psychiatry* 1993;50:975-90.
8. Collins FS. *The language of God: a scientist presents evidence for belief*. New York: Free Press; 2006
9. Kendell R, Jablensky A. Distinguishing between the validity and utility of psychiatric diagnoses. *Am J Psychiatry* 2003;160:4-12
10. Lara DR, Pinto O, Akiskal K, Akiskal HS. Toward an integrative model of the spectrum of mood, behavioral and personality disorders based on fear and anger traits: I. Clinical implications. *J Affect Disord* 2006;94:67-87.
11. Cloninger CR. *Feeling good: the science of well-being*. New-York: Oxford University Press; 2004.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Cognição imune-neural: relações entre comportamento e imunidade

Immune-neural cognition: relationships between behavior and immunity

João Palermo Neto, Frederico Azevedo da Costa-Pinto

Resumo

O presente trabalho enfoca cognição imune-neural a partir de uma perspectiva centrada em neuroimunomodulação. Partindo da existência de receptores comuns para hormônios, neurotransmissores e citocinas em neurônios e células imunes e, da produção destas mesmas substâncias nos sistemas nervoso central e imune, faz-se uma ampla revisão de resultados provenientes de experimentos que analisaram as complexas relações entre comportamento e imunidade. São discutidos, em particular, os efeitos de diferentes estressores sobre o comportamento e sobre a imunidade de animais de laboratório e efeitos comportamentais induzidos imunologicamente. Mostra-se que neurônios e células imunes partilham de estratégias operacionais cognitivas comuns que lhes permitem os necessários ajustes às demandas que lhes são impostas. Dentre estas estratégias destacam-se as capacidades de fazer escolhas e de tomar decisões, de construir imagens concretas, abstratas e distribuídas do meio ambiente e de usar a experiência para se auto-organizar. Sugere-se, que o paradigma cognitivo neuroimune tenha relevância em imunologia por priorizar o estudo da interação neurônios-células imunes em detrimento da análise cartesiana de cada parte isoladamente.

Palavras-chave: neuroimunomodulação, estresse, comportamento, ansiedade, imunidade, cognição, eixo HPA, citocinas.

Abstract

The present work considers immune-neural cognition from a neuroimmunomodulation point of view. The common existence of receptors for hormones, cytokines and neurotransmitters within neurons and immune cells and the presence of those substances on both central nervous and immune systems was taken as the starting point for a large review of studies about behavioral and immune relationships. In particular, data coming from the effects of different stressors on behavior and immunity of laboratory animals and those providing from evidences of induced immunologically behavioral changes, were taken up for discussion. Neurons and immune cells were shown to share cognitive operational strategies that allow them the necessary output adjustments to internal or external environmental claims. As cognitive systems, they combine three properties: they can exercise options (decisions), they construct internal images of their environments and they use experience to build up and update their internal structures and images (self-organization). The cognitive neuroimmune paradigm proposed was suggested to present a higher immunological relevance to both immune analysis and nervous-immune systems relationships studies than the separated studies of the involved parts through a cartesian-type analysis.

Key-words: neuroimmunomodulation, stress, behavior, anxiety, immunity, cognition, HPA axis, cytokines.

Grupo de Pesquisa em Neuroimunomodulação, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. João Palermo Neto, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, 05508-200 São Paulo SP, Tel: (11) 3091-7957, E-mail: jpalermo@usp.br

“E conheceu Adão a Eva, sua mulher...”
Gênesis 4:1

Considerações iniciais: o contexto

Paulo Freire, um dos maiores educadores brasileiros recomendava que se buscasse decodificar e refletir sobre o título proposto para uma conferência ou artigo antes de iniciar sua preparação [1]. No caso em tela, o título é simples. Porém, o conteúdo a ele inerente vem inserido em um contexto de complexidade maior: é parte de um todo que se propõe analisar Cognição Imune e Neural. Há, pois que refletir, ainda que brevemente, sobre o eixo condutor maior das considerações que se pretende fazer sobre as relações entre comportamento e imunidade.

Aurélio Buarque de Holanda nos dá o significado de cognição: aquisição de um conhecimento, percepção. A palavra deriva do Latim *cognoscere* que significa conhecer. E conhecer é palavra interessante de inúmeros significados: ter noção, ter relação, ter experiência de, distinguir, julgar, apreciar, avaliar, sentir, prever, ter competência para, e, entre tantos outros, intervir em. A palavra cognição refere-se, enfim tanto a um estado interno de consciência como às respostas emitidas quando de uma demanda por desempenho. Segundo Irun R. Cohen [2] a palavra reconhecimento também preserva o senso de consciência – através da ação inerente à cognição. O reconhecimento é a lembrança do conhecido, a consciência disparada pelo contato. Em seu sentido bíblico, como na frase de abertura deste texto, Adão e Eva se conheceram através daquilo que juntos fizeram.

Assim pensando, poder-se-ia supor que apenas o Sistema Nervoso Central seria capaz de cognição. E, se de fato ligarmos cognição apenas aos atributos restritos à consciência, talvez assim o seja. No entanto, a existência de cognição tem sido considerada, também em outros sistemas como, por exemplo, no sistema imune. De fato, se considerarmos a cognição como um conjunto de estratégias operacionais que nos permitem lidar, nos ajustar ao mundo, talvez seja possível estender este conceito também para as células imunes. Do ponto de vista instrumental as células do sistema imune poderiam levar a cabo suas atribuições usando princípios operacionais semelhantes àqueles dos neurônios.

Neste contexto, cabe perguntar quais os atributos de um sistema capaz de cognição? Segundo Cohen [2] os sistemas cognitivos orgânicos diferem essencialmente dos outros por combinar três propriedades:

1. Eles podem fazer opções; escolher, tomar decisões.
2. Eles constroem imagens internas do meio ambiente.
3. Eles usam a experiência para construir e atualizar suas estruturas internas e imagens; eles se auto-organizam.

Atuando em conjunto, estes atributos possibilitam às criaturas cognitivas uma interação com o meio ambiente que suplanta o determinismo genético. Não cabem neste espaço considerações aprofundadas sobre como os sistemas nervoso e imune atendem a estes atributos. Para isto, os leitores são encaminhados à excelente obra de Irun R. Cohen *Tending Adam's garden: evolving the cognitive immune self* [2]. São, também convidados a visitar os trabalhos de Brownlee [3], Tauber [4], Jerne [5-7] e Vaz [8-11]. É relevante ter em mente, no entanto, que o sistema cognitivo nervoso - imune possibilita a sobrevivência dos indivíduos ao permitir a eles a realização de escolhas, a construção de imagens internas e externas do ambiente e a auto-organização. Assim como o sistema nervoso, o sistema imune recebe e integra sinais e a eles responde através da escolha de um padrão particular de resposta colhida de seu repertório de respostas [toma uma decisão funcional] e, ao final do processo registra os resultados e se auto-organiza.

De todos os sistemas orgânicos, apenas os sistemas nervoso e imune são capazes de fazer escolhas. Assim, os rins saudáveis produzem urina, o coração bombeia o sangue, os pulmões respiram; todos, porém, sem a possibilidade de escolha. Por certo que estes sistemas se submetem a uma grande variedade de solicitações e a elas respondem com diferentes ajustes. No entanto, eles não têm a capacidade de decidir entre diferentes opções, de fazer escolhas. Desta forma, ao fazer escolhas, os sistemas nervoso e imune se individualizam. Gêmeos idênticos, nascidos com a mesma carga genética, desenvolvem diferentes padrões de imunidade da mesma forma que diferentes comportamentos. O sistema imune de cada pessoa registra uma história única de individualidade porque ele assim como o cérebro se organiza e se reorganiza constantemente através da experiência, das escolhas que faz.

Neste contexto, é importante ressaltar que não se encontrarão conceitos de cognição imune nos clássicos livros de imunologia como ocorre para a cognição neural naqueles de neurobiologia. Porque não? Ainda segundo Cohen [2], a razão é simples.

A imunologia tradicional tende a ver o sistema imune do ponto de vista da teoria da seleção clonal, praticamente reduzindo o complexo comportamento do sistema imune às análises bioquímicas ou moleculares de seus componentes predeterminados, excluindo qualquer possibilidade de interações de ordem superior entre seus componentes e deles com outros sistemas. Ademais, assumindo-se a especificidade da reação ligante-receptor como sendo um fato consolidado, corre-se o risco de se enfatizar demasiadamente a proteção adaptativa dos indivíduos contra os perigos, prestando-se pouca atenção a outros atributos ligados à manutenção imune em andamento, não se fazendo provisão da regulação deste enorme repertório de respostas.

Gerard M. Edelman em seu livro *Neural Darwinism* [3] propõe uma teoria para a organização neural que, segundo o autor, responderia pelo desempenho das funções cognitivas do cérebro dos mamíferos. Edelman sugere que o cérebro mapeia o meio ambiente de forma dinâmica através de mecanismos de degenerescência e redundância em centros neuronais múltiplos que, de forma independente permite a eles registrar diversos aspectos do mundo percebido. Segundo o autor, estes centros influenciam-se e atualizam-se mutuamente através de processos de re-entrada. Em outras palavras, o cérebro re-organizaria as conexões de suas redes neuronais através de processos seletivos. Por certo que neurônios não são linfócitos ou macrófagos e que estas células diferem de forma significativa umas das outras; no entanto, a teoria de Edelman provê sustento para a idéia de que estes dois sistemas compartilhem de estratégias operacionais comuns. De fato, desde os primórdios da imunologia concebe-se a idéia de cognição imune. A identificação de algo estranho ao corpo requer, implicitamente, a existência de um sistema capaz de reconhecer; e reconhecimento implica em percepção, pressupõe existência de um aparelho cognitivo. Segundo Karush [13] a palavra “reconhecimento” é apenas uma de um rol de muitas outras metáforas ligadas a habilidades cognitivas frequentemente usadas pelos imunologistas como, por exemplo, “treinamento”, “aprendizado” e “memória” imunológica. Segundo Niels Jerne [5-7] o sistema imune seria cognitivo por ter um vocabulário próprio, uma linguagem que traduziria todo um universo de estímulos para seu próprio universo. Neste sentido metafórico e ainda segundo o autor, a linguagem química do sistema imune, assim como a linguagem humana teria sintaxe, isto é, capacidade de abstrair, de conectar um

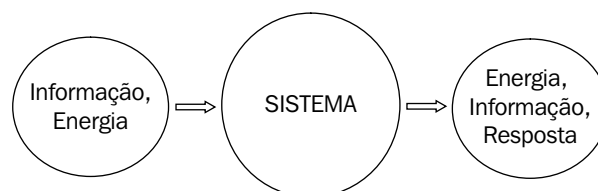
conjunto de atividades ontogeneticamente diferentes de células e moléculas em uma ação.

A neuroimunomodulação, neste sentido, ao mostrar a existência de receptores comuns para neurotransmissores, citocinas e hormônios em neurônios e células imunes, a produção destas substâncias nos sistemas nervoso central e imune bem como as interações bidirecionais entre estes sistemas [14] contribui, ainda que por outros caminhos para a idéia da existência de um sistema cognitivo imune-nervoso. É neste contexto que se pretende sejam compreendidas as considerações feitas em sequência sobre comportamento e imunidade.

Sistemas de causalidade

Mais uma vez é o dicionário que empresta significado à palavra sistema: um conjunto de elementos entre os quais se encontra ou se define alguma relação; disposição das partes ou dos elementos de um todo coordenado entre si e que funciona como estrutura organizada, um todo coerente. Cohen [2] representou os sistemas de forma simplificada como apresentado na Figura 1.

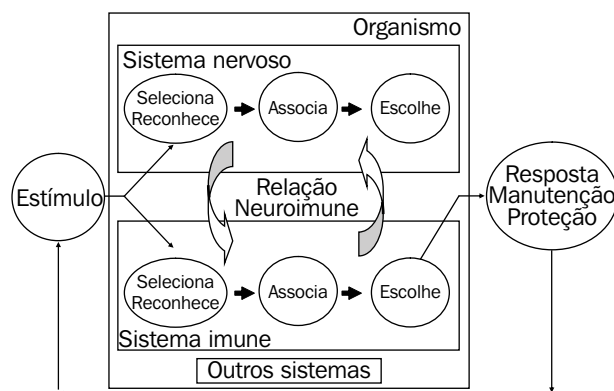
Figura 1 - Diagrama de um sistema. Modificado de Cohen [2].



Nesta figura, os círculos representam entidades, idéias, processos ou unidades e as setas as conexões existentes entre eles; o sentido para o qual a seta aponta, por sua vez mostra que o item anterior produz, induz, modifica ou influencia o item subsequente.

Tendo este diagrama em mente, pode-se tentar a representação dos sistemas nervoso e imune e suas relações. O esquema da Figura 2, construído a partir das idéias de Cohen [2], ao representar os sistemas imune e nervoso dentro de um todo orgânico permite uma melhor compreensão da cognição neuroimune analisada em sequência. De sua leitura observa-se que estímulos relevantes provenientes dos meios externo ou interno adentram desencadeando nos mesmos uma série de modificações nas atividades dos sistemas nervoso e imune que resultam na emissão de respostas que se influenciam mutuamente na busca da manutenção da homeostase orgânica e, assim, a sobrevivência daqueles indivíduos enquanto seres ou espécie.

Figura 2 - Proposta de diagrama para o Sistema Neuroimune.



Assim, por exemplo, situações de perigo como a presença de um predador ou de uma ameaça uma vez percebidas pelo indivíduo, mobilizam regiões específicas do sistema nervoso central que põem em andamento escolhas de respostas de um repertório que inclui comportamentos como, por exemplo, correr, enfrentar, lutar, argumentar, discutir e, entre tantos outros até mesmo nada fazer. Ao mesmo tempo, ativam-se outras regiões nervosas responsáveis por funções autonômicas como, por exemplo, do sistema nervoso simpático, produzindo contração dos vasos sanguíneos, aumento da frequência cardíaca, redução da profundidade e aumento da frequência respiratória e, entre tantos outros, liberação de adrenalina na circulação; nestes momentos, ocorre também ativação de centros relacionados à atividade endócrina, dos quais cabe destacar pela relevância no presente contexto, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal responsável pela liberação na circulação dos hormônios glicocorticóides (cortisol em humanos e corticosterona em roedores e outros animais). A adrenalina e os glicocorticóides assim como outros neurotransmissores, hormônios e peptídeos endógenos (como endorfinas) respondem, neste momento pela ativação e recrutamento das células imunes que orquestradas colocam o sistema imune no centro do processo [14].

No entanto, este processo pode originar-se a partir do reconhecimento do estímulo pelo sistema imune. Assim, por exemplo, e de maneira muito simplificada, células e moléculas do sistema imune ao reconhecer elementos estranhos à integridade orgânica como corpos estranhos, agentes infecciosos (como bactérias, fungos e vírus), células tumorais ou moléculas estranhas a este organismo põem em andamento escolhas de respostas de um repertório

que inclui recrutamento e ativação de células como macrófagos, neutrófilos, células NK, eosinófilos e mastócitos, linfócitos T e B bem como a produção de substâncias químicas como anticorpos, proteínas plasmáticas, complemento, enzimas e mediadores, moléculas de adesão e citocinas que iniciam uma série de eventos de ativação mútua, de seleção de respostas e de ações que buscam excluir estes agentes estranhos da economia orgânica. Nestas ocasiões citocinas liberadas como interleucina 1 (IL-1) e IL-6, caindo na circulação sistêmica dirigem-se ao sistema nervoso central onde entre outros efeitos e através de ações diretas ou indiretas terminam por produzir alterações de comportamento e ativação do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, com conseqüente liberação de glicocorticóides na circulação [14-16]. Percebe-se assim que o segundo “braço” das relações neuroimunes entra em cena, fazendo com que um estímulo originalmente de natureza imune produza manifestações comportamentais e endócrinas, isto é de ativação do sistema nervoso central.

Abordaremos as relações cognitivas neuroimunes em suas duas vertentes mais importantes: do sistema nervoso para o sistema imune e do sistema imune para o sistema nervoso.

Relações comportamento-imunidade

Relatos da existência de influências mútuas entre o sistema nervoso central e o sistema imune são inúmeros na literatura. Galeno (131-201 d.C.), médico que viveu em Roma e na Grécia, já dizia em seus escritos serem mulheres melancólicas mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores que outras consideradas por ele como “normais” [15,16]. Nas últimas décadas, a análise sistemática e organizada destas informações resultou no estabelecimento de uma nova área de estudo chamada, entre outros sinônimos, de neuroimunomodulação (NIM), psiconeuroimunologia ou imunoneuroendocrinologia.

Um marco no desenvolvimento da NIM foi o trabalho de Hans Selye que de maneira pioneira compilou uma série de observações fisiológicas, histológicas e psicológicas de animais submetidos a diversas situações ditas estressantes, isto é, que resultavam na ativação do sistema nervoso central [15]. A chamada “síndrome de adaptação geral” proposta por Selye antecipava o interesse pelo importante papel desempenhado pelo estresse na sociedade moderna. De fato, desde este trabalho pioneiro, a literatura vem sendo pontuada por trabalhos que atribuem às interações neuroimunes,

toda a gama de alterações induzidas pelo estresse quer na atividade do sistema nervoso central e no comportamento quer na atividade do sistema imune [17-19]. Uma grande quantidade de dados tem sido gerada a partir de relatos clínicos ou experimentos laboratoriais mostrando de forma inequívoca a relevância das interações analisadas em NIM para a manutenção da homeostase e da saúde e para o entendimento da fisiopatologia de doenças.

Neste contexto, os trabalhos iniciais em NIM enfocavam particularmente os efeitos supressivos do estresse sobre a imunidade e consideravam os agentes estressores como fazendo parte de um grupo homogêneo, desde que os efeitos que desencadeavam eram considerados como sendo estereotipados. No entanto, as décadas passadas testemunharam o desenvolvimento de novas teorias neuropsiquiátricas e neurobiológicas sobre cognição neuroimune e sobre o papel do estresse em neuroimunomodulação. Estes novos conceitos têm enfatizado as diferenças entre os tipos de estressores em especial em relação à sua origem e natureza (físicos ou psicológicos) e padrão temporal (agudos versus crônicos). Mais que

isso, têm sido acessados diferentes parâmetros de imunidade, inata ou adaptativa, adicionando complexidade e variabilidade aos trabalhos anteriormente divulgados nesta área. Em todos eles, no entanto, permanece inalterada a existência de mecanismos comuns em neurônios e células imunes. De qualquer forma, o estresse tem assumido um papel mais intrincado de um potencial neuroimunomodulador em uma ampla variedade de respostas biológicas. Algumas situações analisadas em nossos laboratórios serão aqui revistas na tentativa de chamar a atenção dos leitores para a atuação conjunta dos sistemas nervoso e imune nas respostas diferenciadas que são eliciadas pelos diferentes estressores analisados.

A Tabela I resume alguns os dados que serão abaixo discutidos. Da leitura desta tabela, depreende-se que analisamos os efeitos de diferentes estressores sobre o comportamento de animais de laboratório empregando registro semi-automatizado de parâmetros de comportamento animal como, por exemplo, atividade motora e ansiedade registrados na arena de um campo aberto¹ ou no labirinto em cruz elevado², respectivamente. A imunidade inata,

Tabela I - Compilação de resultados comportamentais, químicos e imunes de animais submetidos a diferentes tipos de estressores.

Estressor	Cérebro	Comportamento	Imunidade	Corticosterona	Referência
Choque inescapável	Aumento Turnover NA no hipotálamo	Ansiedade no labirinto em cruz	Diminuição da atividade macrófagos e da resistência a tumores	Aumento de níveis plasmáticos	9,10
Observação do choque	Aumento Turnover NA no hipotálamo	Ansiedade no labirinto em cruz	Diminuição da atividade macrófagos e da resistência a tumores	Aumento de níveis plasmáticos	9
Choque pré-natal	Aumento turnover NA no hipotálamo	Ansiedade no labirinto em cruz	Diminuição da atividade macrófagos	Aumento de níveis plasmáticos	11
Coabitação com doente	Aumento turnover NA no hipotálamo	Aumento de atividade motora no campo aberto	Diminuição da atividade de células imunes e da diferenciação de células dendríticas	Níveis basais não alterados	12,13
Alojamento individual	Aumento turnover NA no hipotálamo	Ansiedade no labirinto em cruz	Diminuição da atividade neutrófilos e da resistência a tumores	Níveis basais não alterados Aumento após novo estresse	14
Subordinação social	Aumento turnover NA no hipotálamo	Ansiedade no labirinto em cruz	Diminuição da atividade de células imunes e da resistência a tumores	Aumento de níveis plasmáticos	15

- 1 Trata-se de uma arena de madeira pintada de branco e dividida em círculos concêntricos usada para avaliar a atividade geral dos animais (em especial a locomoção) e os níveis de ansiedade dos animais (animais mais ansiosos andam menos e o fazem apenas na periferia da arena, evitando a zona central).
- 2 Trata-se de um labirinto em forma de uma cruz, com dois braços abertos e dois braços fechados. Os animais mais ansiosos permanecem por mais tempo explorando os braços fechados, evitando os abertos.

por outro lado, foi avaliada através do registro da atividade de macrófagos e neutrófilos e da resistência orgânica à implantação e desenvolvimento de células tumorais. Em alguns experimentos analisamos, também a atividade de células NK e o fenótipo de células dendríticas.

Em um dos trabalhos, comparamos os efeitos da aplicação diária e por seis dias de um pequeno estímulo aversivo evitável ou inevitável nas patas de ratos [20]. Mostramos nos animais que não tinham condições de evitar o estímulo aversivo, a ocorrência de maiores níveis de ansiedade medida no labirinto em cruz elevado, fato este associado a um aumento tanto no *turnover*³ de noradrenalina medida no hipotálamo como nos níveis circulantes de corticosterona; ao mesmo tempo, os animais submetidos a este estresse inescapável apresentaram uma diminuição na atividade de macrófagos, colhidos de suas cavidades peritoneais, em resposta a bactérias e células tumorais. Estes mesmos animais mostraram ainda uma diminuição da resistência à instalação e crescimento de um tumor experimentalmente inoculado, o tumor ascítico de Erlich. Estes efeitos neuroimunes, no entanto não foram observados nos animais que tinham a possibilidade de evitar o estímulo aversivo, mostrando este fato que a possibilidade de atuar sobre um agente estressor altera sua percepção pelo organismo e, conseqüentemente seus efeitos sobre as esferas comportamental e imune. Relevante notar que os sistemas nervoso central e imune responderam de maneira similar aos dois tipos de estressores, numa demonstração evidente da existência de mecanismos de cognição.

De forma interessante mostrou-se, em outro trabalho, que quando os efeitos do estresse inevitável foram analisados sobre outro processo imune – uma reação alérgica pulmonar produzida pela sensibilização com albumina de ovo (OVA), observou-se ser o estresse capaz de exacerbar os sinais de asma desencadeados pela inalação de OVA e de aumentar o número de células imunes recrutadas para os pulmões dos animais alérgicos após o desafio com o antígeno (OVA) [21]. Em seu conjunto, estes trabalhos mostram que a escolha de um repertório imune na vigência de um estresse depende do tipo de desafio enfrentado. Também analisamos os efeitos de um estresse pré-natal sobre a esfera neuroimune, empregando camundongos que recebiam uma estimulação aversiva durante a gestação [22]. Ca-

mundongos provenientes de proles estressadas do 15^o ao 19^o dia pré-natal (último terço da gestação) mostraram aumento de atividade no campo aberto e aumento de ansiedade medida no labirinto em cruz elevado; este estresse produziu, ainda, diminuição da atividade de macrófagos colhidos do peritônio e aumento dos níveis de corticosterona (dados não publicados). De forma interessante, o estresse pré-natal interferiu, também, com a resposta da prole a demandas impostas por estímulos externos na fase adulta dos animais [22].

A comunicação entre animais também desempenha papel relevante na esfera da cognição neural e imune. Assim, camundongos que apenas presenciaram a aplicação de estímulos aversivos inescapáveis em conspécíficos mostraram alterações comportamentais e imunes semelhantes àquelas registradas em seus companheiros estressados [20]. Neste contexto, experimentos conduzidos com animais que conviveram com outros que se encontravam doentes trouxeram alguns subsídios importantes sobre a percepção de uma doença. Assim, camundongas mantidas juntas em uma mesma gaiola com companheiras portadoras de um tumor experimental (tumor de Ehrlich), apresentaram aumento de atividade em um campo aberto, aumento nos níveis de noradrenalina no sistema nervoso central, e redução da atividade de neutrófilos colhidos do sangue periférico; curiosamente, no entanto, os níveis circulantes de corticosterona dos animais não estavam alterados ao menos nas condições basais [23,24]. Desta forma, quer nos parecer que a imunidade mediada por células destes animais estava diminuída. Este fato foi confirmado em outra linhagem de camundongos pela observação de alterações no fenótipo de células dendríticas e na diferenciação de células da medula de camundongas que conviveram com portadoras do melanoma B16 F10 [24].

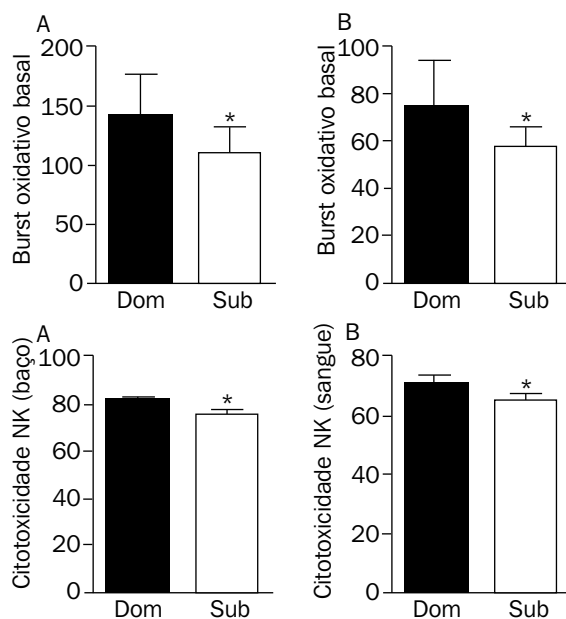
Embora os dados de literatura sejam algumas vezes controversos sobre esse assunto, mostramos que o alojamento individual de animais também produz alterações neuroimunes. Camundongos isolados socialmente apresentaram aumento de atividade motora em um campo aberto, aumento dos níveis de noradrenalina no córtex pré-frontal, redução da atividade de macrófagos colhidos de seus peritônios após desafio por estímulos bacterianos e tumorais e diminuição de resistência à instalação de um processo tumoral [25]. Curiosamente, os níveis de

3 Relação entre a velocidade de síntese e de degradação do neurotransmissor. Um aumento de turnover geralmente indica aumento de atividade do sistema neuronal.

corticosterona circulantes somente foram alterados pela condição social imposta, após desafio por um agente estressor [25].

Neste sentido e do ponto de vista etológico estressores sociais são extremamente importantes, pois tendem a reproduzir situações naturais enfrentadas durante a vida. Assim, avaliamos também aspectos neuroimunes de camundongos dominantes e submissos [26]. Camundongos subordinados dentro de uma hierarquia estável mostraram maiores níveis de ansiedade quando avaliados no campo aberto e no labirinto em cruz elevado que seus companheiros dominantes. Como mostra a Figura 3, estes animais apresentaram, ainda, aumento no turnover de noradrenalina no hipotálamo e menor atividade de neutrófilos circulantes e células NK (*natural killer*), importantes para a defesa orgânica contra processos infecciosos e tumorais. De fato e talvez por isso, estes animais submissos mostraram menor resistência ao desenvolvimento de um melanoma transplantável (induzido por células B16F10).

Figura 3 - Efeitos do ranqueamento social sobre a produção de radicais livres de oxigênio por neutrófilos e monócitos em condições basais e na citotoxicidade de células NK colhidas do sangue periférico e do baço. Neutrófilos (A) e monócitos (B) colhidos do sangue de animais submissos mostram uma reduzida capacidade de produção de radicais livres de oxigênio. Além do mais, as células NK colhidas do baço (C) e do sangue periférico destes animais mostram uma reduzida citotoxicidade contra células tumorais B16F10. N = 10 animais por grupo; *P < 0,05 comparado com os animais dominantes (teste t de Student).



O balanço entre as citocinas circulantes parece ser crucial, neste sentido, para a manifestação das respostas imunes acima apresentadas e relacionadas a diferentes tipos de estressores. De fato, comportamentais e as citocinas podem ter efeitos diferenciais sobre o cérebro e seus níveis sabidamente podem ser influenciados pela atividade do sistema nervoso central direta ou indiretamente através, entre outros hormônios, da adrenalina e dos glicocorticóides circulantes. Assim, é possível que os diferentes estressores tenham sido percebidos de forma diferenciada pelo sistema nervoso central e, desta forma, tenham modificado de maneira também diferencial o delicado balanço existente entre citocinas e, conseqüentemente o papel destas na resposta imune. Neste sentido, os glicocorticóides despontam como o principal fator a ligar os efeitos dos estressores analisados sobre a resposta imune; e, de fato, muitos dos efeitos acima descritos para os estressores em linfócitos podem ser atribuídos a estes hormônios. Alguns estressores suprimem respostas imunes adaptativas do tipo Th₁, deslocando o balanço para um perfil Th₂ de secreção de citocinas [15] e os glicocorticóides sabidamente mudam este balanço ao influenciar a polarização das células T *naive*, com isto diminuindo a resistência orgânica a processos infecciosos, como observado freqüentemente em pessoas submetidas a estresse, particularmente quando prolongado. Diversas alterações imunes produzidas pelo estresse são abolidas pelo tratamento com metirapona, um fármaco que bloqueia a síntese de corticosterona, reforçando a hipótese acima.

De qualquer forma, existem casos em que a imunidade altera-se durante o estresse na ausência de modificações nos níveis de glicocorticóides, apontando para a existência de mecanismos redundantes nos sistemas nervoso e imune através dos quais se busca manter a homeostasia. As catecolaminas, em especial a adrenalina desponta, neste contexto como tendo papel relevante; de fato as células imunes apresentam em suas membranas receptores onde se podem ligar estas substâncias que modificam, também, a secreção de citocinas.

Em seu conjunto, os resultados destes experimentos neuroimunes realizados com estresse, assim como outros da literatura apóiam a existência de cognição imune neural ao mostrar que neurônios e células imunes são capazes de escolher suas respostas, de responder de forma diferenciada a estímulos externos e de se auto-organizar, atributos considerados por Cohen [2] como próprios de sistemas dotados de cognição.

Relações imunidade – comportamento

As doenças alérgicas têm emergido como um dos principais problemas de saúde pública em função do dramático aumento de suas ocorrências nos últimos anos [27-30]. Os mecanismos subjacentes às alergias são complexos e podem variar de um indivíduo para outro e até mesmo de acordo com fatores sociais e geográficos; no entanto, eles parecem ser mediados por repostas que envolvem células T-helper do tipo 2 (Th₂), caracterizadas por um aumento da secreção de citocinas do tipo 2 (principalmente IL-4, IL-5 e IL-13) com participação dos linfócitos T CD4+ [28].

Estas respostas alérgicas parecem responder por uma miríade de sintomas que envolvem as vias aéreas, o trato gastrointestinal e a pele [29]. Muitos dos sintomas iniciais das reações alérgicas são disparados pela descarga dos mastócitos que acompanha a ligação de anticorpos IgE a receptores de alta afinidade existentes em suas membranas (Fc ϵ RI). A fase tardia desta reação compreende usualmente uma inflamação na qual linfócitos T, eosinófilos e citocinas desempenham um importante papel [30]. Como se depreende, este intrincado diálogo molecular pode ser analisado através da exploração de atributos de comunicação: combinação de sinais, semântica, sintaxe e contexto. Mais uma vez, atributos da cognição.

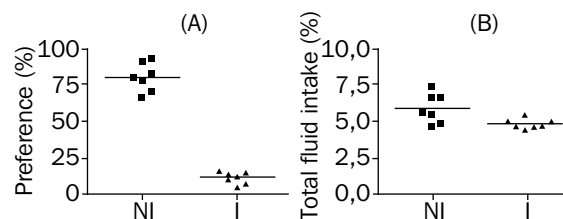
Um lado menos explorado destas reações imunes, no entanto, é o efeito que produzem sobre o sistema nervoso central e sobre o comportamento. Em um trabalho que se tornou clássico nesta área, Mackenzie descreveu o “efeito da rosa”: pacientes alérgicos ao pólen e perfume de rosas apresentavam sinais de broncoconstrição quando se confrontavam com uma flor artificial [31]. Alterações emocionais e comportamentais têm sido associadas a crises asmáticas [32]. Pacientes humanos hospitalizados em função de portarem alergias alimentares apresentaram altos níveis de ansiedade e depressão [33].

Diversos experimentos foram realizados em nossos laboratórios buscando por alterações comportamentais e de atividade do sistema nervoso central induzidas imunologicamente. Alguns dados obtidos serão aqui reproduzidos na tentativa de ilustrar as relações entre imunidade e comportamento dentro de um contexto de cognição imune-neural.

Utilizando um teste de preferência ao sabor idealizado por Cara *et al.* [34], mostramos que camundongos imunizados com OVA preferiam ingerir água

ao invés de uma solução aquosa de sacarina a 0,5% acrescida de uma solução com 20% de OVA; animais não imunizados, ao contrário, davam preferência e ingeriam grandes quantidades de solução adocicada com OVA [35]. A Figura 4 ilustra estes resultados. Replicamos, assim, os dados anteriormente obtidos por Cara e validamos em nossos laboratórios a metodologia utilizada nos diversos experimentos relatados em sequência.

Figura 4 - Comportamento alimentar de camundongos. Animais imunizados ou não com OVA foram submetidos ao teste de preferência ao sabor, onde teriam de escolher entre beber água ou uma solução adocicada de sacarina contendo OVA. (A) enquanto animais imunizados (NI) mostraram uma nítida preferência pela solução adocicada, os animais imunizados (I) evitaram beber desta solução preferindo ingerir água. (B) o consumo total de líquido não foi alterado pela prévia imunização com OVA. Os valores individuais são mostrados pelos quadrados ou triângulos e as linhas horizontais representam as medianas. N = 7 animais por grupo. P < 0,05 (teste U de Mann Whitney).

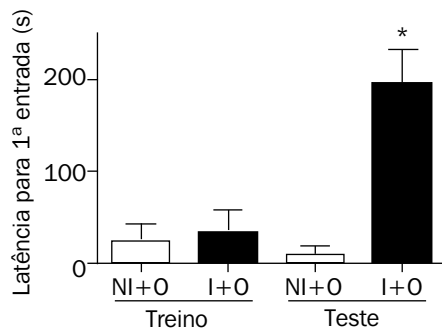


Esta alteração comportamental de animais sensibilizados foi confirmada, posteriormente, por Frederico A. Costa-Pinto empregando um modelo de asma induzida experimentalmente pela sensibilização com OVA seguida, algum tempo após, pela inalação deste antígeno. Observou-se que animais OVA sensibilizados evitavam ficar do lado escuro de uma caixa de esQUIVA passiva se este lado da caixa tivesse sido pareado anteriormente com a presença de vapores de OVA enquanto animais não sensibilizados preferiam, como usualmente o fazem, o lado escuro da caixa [36]. A Figura 5 ilustra estes resultados.

Em outro trabalho, Alexandre S. Basso e seus colaboradores analisaram os níveis de ansiedade de animais OVA sensibilizados ou não e desafiados ou não com OVA pela via oral, empregando o labirinto em cruz elevado. Nossos resultados mostraram aumento dos níveis de ansiedade apenas nos animais sensibilizados e que recebiam OVA pela via oral. Estes animais apresentaram também maiores níveis

circulantes de corticosterona em relação aos outros grupos [37].

Figura 5 - Comportamento de camundongos em uma caixa de esquiwa passiva. Animais imunizados ou não com OVA foram submetidos a uma sessão de treinamento na caixa de esquiwa passiva, sendo nebulizados com OVA ao passar para o lado escuro da caixa; no dia seguinte (sessão teste) avaliou-se a latência dos animais para passar do compartimento claro para o escuro da caixa. Embora os animais imunizados (IO+O) tenham se comportado de maneira semelhante aos não imunizados (NI+O) na sessão de treino, eles evitaram o lado escuro da caixa previamente associado à nebulização com OVA na sessão de teste. N = 5 animais por grupo. P < 0,05 ANOVA seguida do teste de Dunnet).

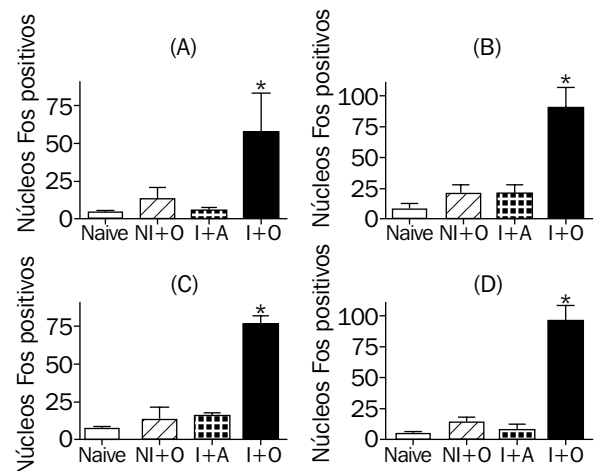


Em sequência, avaliamos os níveis de atividade neuronal dos camundongos destes quatro grupos após desafio com OVA pelas vias oral e respiratória; para tanto, analisamos a expressão da proteína Fos na amígdala e no núcleo paraventricular do hipotálamo. Pela relevância, os dados obtidos estão ilustrados na Figura 6. Como se depreende de sua análise, o número de núcleos positivos para a proteína Fos foi maior nos animais OVA-sensibilizados e desafiado seja pela via oral seja pela respiratória, numa clara indicação de aumento de atividade neuronal nas áreas cerebrais analisadas, intimamente relacionadas com manifestações de ansiedade e estresse [37].

O papel desempenhado por anticorpos anafiláticos (IgE e IgG1 em camundongos) nas alterações comportamentais e de atividade neural desencadeadas por OVA em animais OVA-sensibilizados foi avaliado através de dois procedimentos: uso de anticorpos anti-IgE e desenvolvimento de tolerância imunológica, produzida pelo fornecimento de uma solução de OVA por via oral antes ou durante a sensibilização primária com OVA. A diferença entre estes procedimentos está no fato de que a administração de OVA dos dias -7 a -2 (antes da sensibilização

com OVA) impede a produção dos dois tipos de anticorpos enquanto que camundongos que recebem OVA dos dias 0 a +5 produzem anti-OVA IgG1 mas não IgE [38].

Figura 6 - Marcação Fos de áreas cerebrais relacionadas à ansiedade de camundongos alérgicos. Animais imunizados e desafiados com OVA (I+O) mostram uma intensa marcação Fos no núcleo paraventricular do hipotálamo (painéis A e C) e no núcleo central da amígdala (painéis B e D) 90 minutos após o desafio com OVA. Os painéis A e B representam dados de animais desafiados pela instilação nasal de OVA; C e D expressam dados de OVA administrada por gavagem. N = 5 a 7 animais por grupo. P < 0,05 (ANOVA seguida do teste de Tuckey-Kramer).



Nossos resultados mostraram que o tanto o uso de anti-IgE como o desenvolvimento de tolerância oral preveniram as manifestações de preferência alimentar [35] e aquelas de aversão ao compartimento escuro da caixa de esquiwa passiva [36]. De forma idêntica, a ativação dos núcleos paraventricular do hipotálamo e central da amígdala também foi impedida pelo uso de anti-IgE [35]. Uma vez que a administração de solução de OVA do dia 0 ao dia +5 reverteu a marcação Fos induzida pela sensibilização e desafio dos animais com OVA, pode-se concluir que o fenômeno era mediado pela IgE, sendo independente de IgG1.

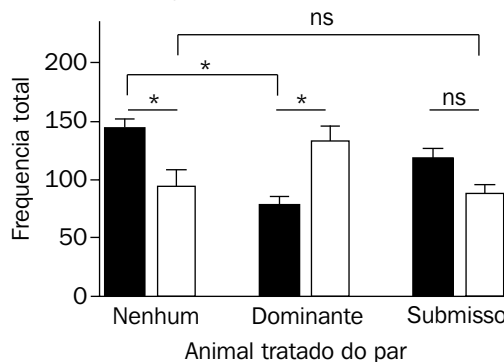
Outros trabalhos conduzidos dentro desta temática mostraram que as alterações comportamentais e de atividade do sistema nervoso central induzidas imunologicamente envolviam a desgranulação de mastócitos e, pelo menos em parte, fibras nervosas

do tipo C, uma vez que foram reduzidas pelo uso de cromoglicato de sódio e capsaicina neonatal, respectivamente [37].

Finalmente, é relevante que se comente também a linha de pesquisa conduzida por Daniel H. Cohn em nossos laboratórios. Este pesquisador analisa os efeitos do LPS um lipopolissacarídeo proveniente da membrana celular de bactérias Gram negativas que, adentrando um organismo, produz os clássicos sinais e sintomas do chamado “comportamento doentio”, isto é, aquele que acompanha processos infecciosos. Especificamente, o autor procura por diferenças nas respostas ao LPS de animais dominantes e submissos [16,39]. Esta proposta de trabalho tem como fundamentação científica as propostas que sugerem deva ser o “comportamento doentio” analisado a partir de uma perspectiva motivacional [40-42]. Em outras palavras, o comportamento dos animais doentes não seria consequência de um estado de debilitação geral, mas, e ao contrário, o resultado de uma delicada estratégia desenvolvida pelos organismos para sobreviver à injúria ou infecção. A partir desta perspectiva, as alterações comportamentais encontradas quando de doenças podem ser vistas como decorrentes de uma reorganização de prioridades que favoreceria a recuperação dos animais, independente do tipo de injúria. Seguramente um processo cognitivo.

Desta forma, após determinar o ranqueamento social de pares de camundongos, isto é, o animal dominante e o submisso dentro de um par, o pesquisador formou os seguintes grupos: controle, onde nenhum dos animais foi tratado, dominante, onde apenas o camundongo dominante do par era tratado e submisso, quando o animal submisso do par recebia o LPS. Observou que camundongos dominantes tratados com o LPS expressavam um número significativamente menor de emissão de comportamentos em suas gaiolas de moradia em relação aos do grupo controle, não tratados; este fato, porém não acontecia quando o animal tratado com LPS era o submisso [39]. Desta forma, mostrou que a expressão de “comportamento doentio” diferiu entre animais submissos e dominantes dentro de uma dupla. Mais adiante, analisou especificamente a interação social dos camundongos assim tratados; embora o tempo de interação social dos animais antes do tratamento tenha sido semelhante, a injeção do LPS produziu efeitos apenas quando administrado no animal dominante do grupo. A Figura 7 ilustra estes resultados.

Figura 7 - Porcentagem de tempo gasto em interação social em camundongos dominantes (barras pretas) e submissos (barras brancas). Notar que a administração do LPS reduziu o tempo de interação social dos animais dominantes em relação àqueles não tratados, fato não observado nos animais submissos. N = 8 pares de animais. *P < 0,05 teste U de Mann Whitney.



Dados posteriores do grupo mostraram que a redução do comportamento social de animais dominantes após o tratamento com LPS não era consequência de uma diminuição da atividade motora induzida pelo mesmo; de fato, os autores observaram que os efeitos do LPS sobre a atividade motora dos animais não foram diferentes entre camundongos submissos e dominantes. Em seu conjunto, estes resultados indicam claramente uma mudança seletiva de comportamentos dos animais dominantes após o LPS; de fato, os animais dominantes não apenas diminuíram a emissão de comportamentos, mas também e principalmente os contatos sociais, um fato não observado nos animais submissos. Estes resultados mostram que a manifestação de comportamentos associados a uma doença depende de um estado de reorganização motivacional interna de forma tal que o estabelecimento de prioridades pelos animais depende da hierarquia social que apresentam antes de ficarem doentes.

Conclusão

Os experimentos discutidos acima ao exemplificar as complexas relações bidirecionais existentes entre comportamento e imunidade, apontam para a existência de cognição imune - neural ou, por que não ousar, cognição neuroimune. De fato, eles sugerem que a simplificação no entendimento das relações entre neurônios e células imunes pode ser mais prejudicial para seus entendimentos que a ausência de verticalização na busca por mecanismos celulares ou moleculares que expliquem o fenômeno enfocado.

Este fato talvez explique porque às vezes não se reproduz *in vivo* resultados que se esperam obter após realização de experimentos *in vitro*; de fato, a experimentação *in vitro* não leva em conta dados de individualidade como, por exemplo, ranqueamento social, interação social, presença de companheiros doentes e, entre tantos outros, resposta a um tipo determinado de estressor. É evidente que têm sido obtidos avanços significativos na compreensão de fenômenos obscuros da NIM a partir de estudos *in vitro*, principalmente os provenientes de animais *knockout* e sistemas transgênicos. No entanto, quer nos parecer seja obvio que paradigmas artificiais podem não ser suficientes para responder por toda a gama de complexidade dos organismos vivos, mesmo quando em situações tão simples como permanecer sozinho na gaiola.

E, assim não acontece, porque o sistema neuroimune é cognitivo no sentido de que cumpre um conjunto de estratégias operacionais para lidar ou se ajustar às demandas impostas pelo ambiente. Ele escolhe opções de resposta, ele constrói imagens e se auto-organiza.

Escolhe porque exercita a opção do aprendizado; tem diversos padrões operacionais que lhe permite ver e responder. A cada tipo de estresse, uma resposta. A cada molécula que adentra um organismo, uma resposta. A cada demanda uma mobilização diferenciada do repertório comportamental e de citocinas Th1 ou Th2, para ficar apenas em alguns exemplos. Neurônios e células imunes são confrontados com opções e, assim, precisam tomar decisões funcionais sempre que programam um caminho particular de ação. Decidir é o processo através do qual os sistemas nervoso e imune, trabalhando individualmente ou de forma integrada, determinam o tipo de resposta a ser emitida na vigência de estímulos percebidos. O que estou “vendo” como vejo e o que farei a respeito.

Constrói imagens porque mapeia internamente o meio ambiente em que vive. Mapas são adaptativos. Mapas evitam perda de tempo e erros. Mapas antecipam o caminho a ser percorrido. Uma habilidade dos sistemas cognitivos é aprender ao longo do percurso, construindo imagens das experiências vivenciadas. E as imagens neuroimunes são concretas, abstratas e distribuídas. Concretas no sentido de que se baseiam em pontos de contato, como, por exemplo, aqueles que ocorrem entre uma chave e a fechadura. Abstratas porque a troca de informações neuroimunes, como discutido, ocorre em um espaço informacional abstrato que permeia os agentes participantes do processo. Em uma

reação neuroimune, comportamento e imunidade, neurônios e células imunes, neurotransmissores e citocinas, hormônios e anticorpos entre tantos outros elementos participantes, seguindo orientação prévia de um mapa, eliciam o tipo particular de resposta. Finalmente, distribuídas porque as imagens formadas não se limitam a um tipo particular de estímulo, mas a um padrão de estímulos semelhantes. O padrão de comportamento ou um dado repertório de células T em um dado momento são imagens distributivas de uma série de outras que ocorreram até aquele dado momento. Este padrão momentâneo de resposta expressa, assim, um aspecto particular da história de vida de um indivíduo.

Finalmente, se auto-organiza porque evoluem biologicamente; porque linfócitos e cérebro participam da preservação das espécies. Se auto-organizam porque aprendem. E não é a aprendizagem um dos atributos que autentica a cognição? Neurônios e células imunes, através da experiência, adquirem novas capacidades e comportamentos. Uma vez aprendidas, estas novas habilidades são armazenadas para futura recuperação e uso. É o que chamamos de memória. O aprendizado e a memória estão tão intimamente ligados à cognição humana e, talvez, não seja necessário acrescentar mais nada a esta discussão. Entretanto, é preciso salientar que a auto-organização neural e imune não provém apenas de informações genéticas contidas no DNA, mas também da capacidade de lidar com o imprevisível. Auto-organização significa adição progressiva de novas informações através de processos como imprevisibilidade e redundância; imprevisíveis porque os estímulos que demandam por resposta nunca são os mesmos e redundantes porque uma resposta nova não se constrói a partir da destruição de um padrão anterior, mas de seu uso para construção de um novo paradigma, isto é, preserva-se intacta a cópia original e adiciona-se a ela um novo padrão.

Por tudo quando exposto e discutido, sugere-se a existência de cognição neural e imune ou, cognição neuroimune. Por certo que o protótipo de sistema cognitivo seja o cérebro; mas como se mostrou, atributos de cognição são partilhados também por células imunes. O sistema imune assim como o cérebro aprende através de experiência individualizada, o que lhe permite uma organização interna e um comportamento externo. Este paradigma cognitivo sugere que o caminho mais lógico para a compreensão de patologias, para a cura de doenças para o sucesso dos transplantes e para o desenvolvimento de vacinas cada vez mais efetivas, seja aquele que

valorize mais a interação cognitiva das partes que a mera verticalização cartesiana em cada uma delas.

Referências

1. Freire P. Educação e mudança. 8ª ed. São Paulo: Paz e Terra; 1984. 79p.
2. Cohen RI. Tending Adam's garden: evolving the cognitive immune self. San Francisco: Academic Press; 2000. 266p.
3. Brownlee J. Cognition, immunology, and the cognitive paradigm. CIS Technical Report 2007;070504A:1-6.
4. Tauber AI. Historical and philosophical perspectives concerning immune cognition. *J Hist Biol* 1997;30:419-40.
5. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol* 1974;125C:373-439.
6. Jerne NK. Idiotypic and other preconceived ideas. *Immunol Rev* 1884;79:5-24.
7. Jerne NK. The generative grammar of the immune system. *EMBO J* 1985;4:847-52.
8. Vaz NM et al. The conservative physiology of the immune system. A non-metaphoric approach to immunological activity. *Clin Develop Immunol* 2006;13:133-42.
9. Vaz NM, Carvalho CR. Immunological specificity as metaphor. *Braz J Med Biol Res* 1993;26:665-71.
10. Vaz NM, Varela FJ. Self and non-sense; an organism-centered approach to immunology. *Med Hypothesis* 1978;4:238-53.
11. Vaz NM et al. The conservative physiology of the immune system. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:13-22.
12. Endelman GM. Neural darwinism. New York: Basic Books; 1987. 302p.
13. Karush F. Metaphors in immunology. In: Masundar PMH, ed. *Immunology 1930-1980, Essays on the history of immunology*. Toronto: Wall and Thompson; 1989. p.73-80.
14. Vismari L, Alves GJ, Palermo-Neto J. Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema. *Rev Psiquiatr Clín* 2008;35:196-204.
15. Costa-Pinto FA, Palermo-Neto J. Neuroimmuneinteraction in stress. *Ann N Y Acad Sci* 2009; article in press.
16. Costa-Pinto FA et al. Behavior a relevant tool for brain-immune system interaction studies. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1153:107-19.
17. Besedowsky H, Sorkin E. Network of immune-neuroendocrine interactions. *Clin Exp Immunol* 1977;27:1-12.
18. Blalock JE. The immune system as a sensory organ. *J Immunol* 1984;132:1067-70.
19. Dunn AJ. Mechanisms by which cytokines signal the brain. *Int Rev Neurobiol* 2002;16:398-410.
20. Palermo-Neto J, Massoco CO, Souza WR. Effects of physical and psychological stressors on behavior, macrophage activity and Ehrlich tumor growth. *Brain Behav Immun* 2003;17:43-54.
21. Portela CP, Lima WT, Palermo-Neto J. Stress-induced increment on total bronchoalveolar cell count in OVA-sensitized rats. *Physiol Behav* 2001;72:415-20.
22. Fonseca ES, Massoco CO, Palermo-Neto J. Effects of prenatal stress-induced changes in behavior and macrophage activity of mice. *Physiol Behav* 2002;77:205-15.
23. Alves GJ, Vismari L, Palermo-Neto J. Cohabitation with a sick cage mate: effects on noradrenaline turnover and neutrophil activity. *Neurosci Res* 2006;56:172-9.
24. Tomiyoshi MY et al. Cohabitation with a melanoma-bearer cage mate influences behavior and dendritic cell phenotype in mice. *Brain Behav Immun* 2009;23:558-67.
25. Palermo-Neto J et al. Effects of individual housing on behavior and resistance to tumor growth in mice. *Physiol Behav* 2008;95:435-40.
26. Sá-Rocha VM, Sá-Rocha LC, Palermo-Neto J. Variation in behavior, innate immunity and host resistance to B16Cf10 melanoma growth in mice that present social stable hierarquical ranks. *Physiol Behav* 2006;88:108-15.
27. Umetsu DT et al. An epidemic of dysregulated immunity. *Nat Immunol* 2002;3(8):715-20.
28. De Sousa Mucida et al. Unconventional strategies for the suppression of allergic asthma. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2003;2:187-95.
29. Crowe SE, Perdue MH. Gastrointestinal food hypersensitivity: basic mechanisms of pathophysiology. *Gastroenterology* 1992;103:1075-95.
30. Maddox L, Schwartz DA. The pathophysiology of asthma. *Ann Rev Med*. 2002;53:477-98.
31. Mackenzie JN. The production of the so-called rose cold by means of an artificial rose, with remarks and historical notes. *Am J Med Sci* 1886;91:45-57.
32. Lehrer PM, Isemberg S, Hochron SM. Asthma and emotion: a review. *J Asthma* 1993;30:5-21.
33. Addolorato G et al. Anxiety and depression: a common feature of health care seeking patients with irritable bowel syndrome and food allergy. *Hepatoendocrinology* 1988;45:1559-64.
34. Cara DC, Conde AA, Vaz NM. Immunological induction of flavor aversion in mice. *Braz J Med Biol Res* 1994;27:1331-41.
35. Basso AS et al. Neural correlates of IgE-mediated food allergy. *J Neuroimmunol* 2003;140:69-77.
36. Costa-Pinto FA et al. Avoidance behavior and neural correlates of allergen exposure in a murine modelo f athsma. *Brain Behav Immun* 2005;19:52-60.
37. Costa-Pinto FA et al. Neural correlates of IgE-mediated allergy. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1088:116-31.
38. Costa-Pinto FA. Neural and behavioral correlates of experimental allergic asthma in mice.[Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2004. 161p.
39. Cohn DH, Sá-Rocha LC. Differential effects of lipopolysaccharide in the social behavior of dominant and submissive mice. *Physiol Behav* 2006;87:932-7.
40. Aubert A. Sickness and behavior in animals: a motivational perspective. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23:1029-36.
41. Aubert A et al. Differential effects of liopolysaccharide on pup retrieval and nest building in lactating mice. *Brain Behav Immun* 1997;11:107-18.
42. Aubert A., Kelley RW, Dantzer R. Differential effects of lipopolysaccharide on food hoarding behavior and consumption in rats. *Brain Behav Immun* 1997;11:229-38.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Fisiopatologia da atividade imunológica

Nelson Monteiro Vaz

A memória imunológica

Como usualmente entendida e estudada, a Imunologia é uma ciência “cognitiva”, pois está centralmente apoiada no conceito de “memória” imunológica. Esta “memória” representa a imunidade melhor que a especificidade de resposta e supostamente explica o que se passa na vacinação anti-infecciosa. As vacinas condicionam respostas imunes de intensidade progressiva a cada novo encontro com um antígeno já contactado, permitindo respostas mais sensíveis, mais rápidas, mais intensas e duradouras. Assim sendo, qualquer alteração importante no entendimento da “memória” imunológica afetará toda uma maneira de ver e determinará mudanças na pesquisa e no ensino de imunologia.

Ao mesmo tempo em que é “cognitiva”, a Imunologia é clonal, descreve a atividade imunológica como um conjunto de respostas imunes específicas não relacionadas entre si, entendidas como rápidas expansões de clones linfocitários cujos receptores foram originalmente gerados por rearranjos ao acaso de segmentos gênicos. Admite-se que a memória imunológica resulte de um aumento da frequência de clones de linfócitos reativos a um determinado antígeno, que representariam “células de memória”. Esta maior frequência clonal resultaria em um maior número de expansões clonais e de aumentos progressivos das mesmas.

Um modelo assim, ultra-simplificado, seria suicida quando as respostas imunes falhassem em eliminar o antígeno do organismo, ou se o antígeno fosse repetidamente encontrado no meio. Isto levou à formulação de hipóteses de regulação da intensidade e tipo de respostas imunes, uma tendência que culminou na caracterização de tipos celulares especiais dotados de propriedades reguladoras, tais como linfócitos T Foxp3+ CD25+ CD4+ [1] e, mais recentemente, também linfócitos B reguladores [2].

Mas, dentro da visão estímulo-resposta dominante na imunologia, não há mecanismos que regulem a própria regulação [3]. Na maneira tradicional de ver, a regulação só pode ser concebida como uma resposta regulatória, que por sua vez demandaria outras respostas e criaria uma recursão infinita.

Médico, Doutor em Bioquímica e Imunologia, Professor aposentado de Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

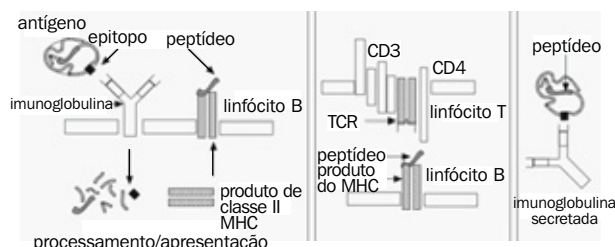
Endereço para correspondência:

Departamento de Bioquímica e Imunologia, ICB-UFMG, Caixa Postal 486 Pampulha 30161-970 Belo Horizonte MG, Fax: (31) 3499-2640, E-mail: nvaz@icb.ufmg.br

Linfócitos B e T interagem com estruturas distintas

Um aspecto pouco enfatizado em descrições da atividade imunológica é a ausência de relação entre os detalhes estruturais (epitopos) aos quais se ligam anticorpos, quer livres, quer como receptores de linfócitos B (BCR), e a estrutura de peptídeos conjugados a produtos do MHC que são apresentados aos receptores de linfócitos T (TCR) (Figura 1). Deve se levar em conta também que proteínas diferentes, expressando epitopos totalmente não relacionados, cujos anticorpos não reagem cruzado, através do processamento / apresentação podem gerar peptídeos similares, como é o caso da ovoalbumina, uma hemaglutinina do vírus da influenza e a mioglobina de baleia [4].

Figura 1 - Os peptídeos resultantes do processamento do antígeno e aos quais se ligam os TCR na apresentação não guardam relações estruturais com os epitopos aos quais se ligaram originalmente os BCR.



Há também uma restrição nos tipos de peptídeos capazes de se ligar a determinados produtos do MHC. Portanto, a especificidade imunológica é tripartite, pois depende da ligação de epitopos por BCR, da ligação de peptídeos a produtos do MHC [5] e da ligação do conjugado peptídeo-MHC ao TCR. Nesta complexidade aumentada, é difícil configurar uma memória concebida como reatividade progressiva e decidir quais dos aspectos da resposta se expandem.

Anti-anticorpos

Outra camada de complexidade foi adicionada por Jerne ao propor que a formação de anti-anticorpos (anticorpos anti-idiotípicos) desempenha um papel importante na atividade imunológica e que esta atividade, digamos, interna ao organismo, longe de ser episódica, organiza formas definidas de auto-conduta (Eigen behaviour) em uma rede relações entre linfócitos e imunoglobulinas: a rede idiotípica [6]. Incompletas e mal compreendidas, após alguns anos de intensa pesquisa, estas idéias não chegaram

a ser assimiladas pela comunidade de imunologistas [7]. A conectividade anti-idiotípica (anticorpo-anti-anticorpo) foi vista como uma maneira adicional de regular respostas imunes específicas, e não como uma integração da atividade de todos os linfócitos entre si, uma integração que seria uma explicação global da atividade imunológica, em vez de atomizá-la em respostas específicas a materiais externos.

Jerne não deixou isto claro em seus textos mais conhecidos, mas no relatório anual do *Basel Institute for Immunology*, do qual era Diretor, no mesmo ano em que publicou a teoria da rede idiotípica, ele disse que a atividade imunológica é essencialmente fechada sobre si mesma:

“Noções sobre redes

Ao contrário das noções dos anos 1960, que viam a grande coleção de paratopos de um sistema imune como um conjunto “aberto” de elementos reconhecedores. a maioria dos quais nunca encontraria um antígeno que se encaixasse neles, precisamos agora *aceitar que o sistema imune é essencialmente “fechado” ou auto-suficiente a este respeito*: (ênfase adicionada) o paratopo de qualquer domínio-V (V-domain) reconhecerá idiotopos em muitos outros domínios-V, e o idiotopo de qualquer domínio-V será reconhecido pelos paratopos de muitos outros domínios-V. A conseqüência possível (sic) da rede resultante de interações na ontogenia e na regulação do sistema imune estão atraindo uma atenção crescente.” [8]

Ontem como ainda hoje, não foi aceita a idéia de uma clausura operacional na atividade dos linfócitos, ou melhor, uma organização definida, como propusemos pouco depois da proposta de Jerne [9].

A tolerância imunológica

A tolerância imunológica é, ao mesmo tempo, o avesso de “memória” imunológica e o protótipo da regulação da atividade imunológica. A auto-tolerância ou tolerância natural, concebida inicialmente como a abolição ou inibição permanente de respostas imunes a componentes do próprio organismo, na realidade, é melhor descrita como uma forma robustamente estável de atividade imunológica, descrita como uma auto-reatividade fisiológica [10]. Na realidade, o prefixo auto, já denota uma entidade - o organismo - e falar de uma auto-reatividade fisiológica é um pleonasma, uma redundância desnecessária.

A estabilidade robusta encontrada na tolerância imunológica é mais facilmente compreendida em animais tornados tolerantes a uma proteína externa

por via oral [11]. Na tolerância a alimentos, chamada de “tolerância oral”, há sempre uma reatividade residual, isto é, mesmo animais tornados tolerantes formam anticorpos específicos, embora com intensidade significativamente menor que animais que não ingeriram o antígeno. Mas, ao contrário de animais imunizados com baixas doses de antígeno, que exibem “memória” imunológica e disparam respostas cada vez mais intensas a contatos subsequentes com o antígeno, os níveis de anticorpos formados na “tolerância oral” são robustamente estáveis; mesmo quando re-imunizados repetidamente com o mesmo antígeno, esta formação permanece nos mesmos níveis [12].

Isto é muito importante porque o que caracteriza um organismo sadio não é a ausência de “auto-anticorpos” [13] ou de linfócitos T reativos a peptídeos autólogos [14], mas sim uma discreta reatividade que é robustamente estável – impropriamente denominada auto-reatividade fisiológica - que não varia embora os linfócitos estejam continuamente expostos aos auto-antígenos correspondentes. O mesmo se passa nas doenças alérgicas, ou seja, anticorpos responsáveis por reações alérgicas, por exemplo, à poeira domiciliar, estão presentes em títulos moderados também indivíduos não alérgicos, mas esta formação é robustamente estável a despeito da contínua exposição as estes alergenos.

O que acontece nas doenças alérgicas e nas chamadas doenças autoimunes, portanto, é uma flagrante instabilidade dos níveis de reatividade específica, que não é observada em organismos sadios. Os imunologistas estão, finalmente, chegando a conclusão de que esta estabilidade da atividade imunológica depende de interações entre linfócitos. Mas não chegaram ainda a concluir que as interações abrangem todos os linfócitos, ou seja, que esta estabilidade é uma característica da organização de uma rede de relações entre todos os linfócitos e destes linfócitos com o organismo do qual fazem parte e que ajudam a construir e a manter [6,10].

Precisamos substituir a descrição de uma reatividade episódica e progressiva, pela idéia de um processo dinâmico estável, pelo qual uma rede de relações de linfócitos entre si e destes linfócitos com o organismo, mantém invariante uma certa configuração - uma organização. Nesta maneira de ver, a estabilidade do sistema imune não mais seria preservada por respostas imunes específicas contra materiais estranhos e sim pela conservação de certas relações internas ao organismo.

A reatividade progressiva como patogênica

Na realidade, é provável que a reatividade progressiva, até hoje estudada como a essência da atividade imunológica, seja uma expressão de desvios de sua fisiologia, uma coleção de exemplos de imunopatologia [10,15]. Isto é coerente com a origem histórica da imunologia, que surgiu no estudo de doenças infecciosas humanas. Nesta maneira de ver, as expansões clonais progressivas que compõem as respostas imunes específicas e a memória imunológica seriam expressões da patologia da atividade imunológica, enquanto que sua fisiologia seria representada pela estabilidade robusta de níveis de atividade específica.

Esta interpretação é corroborada por estudos recentes da formação de imunoglobulinas naturais, tanto por formas modificada de *immunoblotting* [16], quanto pela análise de micro-arrays contendo centenas de proteínas distintas [17] e também por múltiplos exemplos de variações previsíveis e não-aleatórias nestes perfis de reatividade de doenças autoimunes [18] e parasitoses crônicas graves [19].

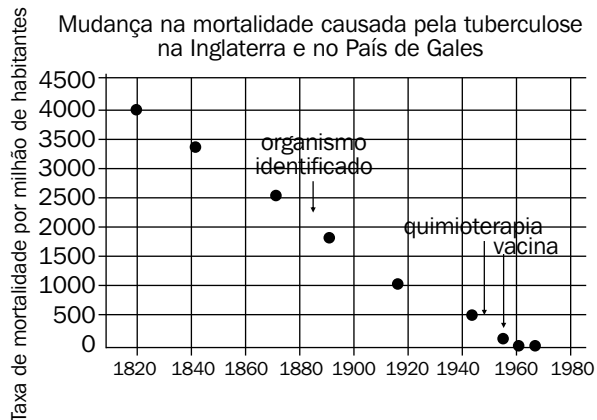
Consequências práticas

Uma pergunta surge imediatamente: De que maneira(s) estas mudanças conceituais ajudariam na solução de problemas que as formas tradicionais de pensar têm tido dificuldade em resolver? Por exemplo, como isto nos ajudaria a inventar novas vacinas anti-infecciosas? Ou, a desenvolver tratamentos eficazes para doenças alérgicas e autoimunes? Haveria algum impacto dessas idéias na saúde pública?

Estas são perguntas importantes que devemos analisar melhor, antes de tentar respondê-las. pois elas estão baseadas na suposição de que: a) vacinas anti-infecciosas são formas eficazes de prevenção de doenças infecciosas, em geral; e, que b) vacinas podem ser inventadas para todas as doenças infecciosas. Estas duas suposições são questionáveis.

A eficácia das vacinas como usualmente entendida foi questionada por McKeow, que se notabilizou por criticar o papel da medicina e argumentou que mesmo antes do uso de vacinas e outras providências médicas, a incidência e a letalidade de muitas doenças já estava em declínio. Isto está ilustrado na Figura 2, para o caso da tuberculose. McKeow traçou gráficos similares para muitas outras doenças infecciosas [20,21].

Figura 2 - Variação da mortalidade por tuberculose na Inglaterra e no País de Gales. A mortalidade segue um curso descendente desde 1840 e não parece afetada pela identificação do agente etiológico, pela quimioterapia ou imunização (re-desenhado a partir de Mc Keow, 1976) [20].



Em algumas doenças infecciosas, como na difteria e no tétano, onde se conhece em detalhes moleculares o mecanismo de patogênese, a proteção criada pela vacinação pode ser atribuída à formação de anticorpos neutralizantes (anti-toxinas) e é possível que várias doenças causadas por vírus também possam ser evitadas pela ação de anticorpos neutralizantes. Estes anticorpos impedem a ligação das toxinas ou dos vírus a receptores celulares e assim interrompem o processo infeccioso.

Mas na grande maioria das doenças infecciosas e parasitárias, o papel desempenhado por anticorpos específicos é ainda pouco claro, para dizer o mínimo. Não se conhece exatamente o mecanismo de ação de vacinas eficazes na proteção contra doenças infecciosas humanas. Isto não impede que elas sejam utilizadas e há mesmo sugestões de usar vacinas comprovadamente eficazes, como a vacina contra a febre amarela, como veículo de vacinas muito necessárias ainda não disponíveis, como é o caso da malária [22]. Em resumo, não está claro que será possível desenvolver vacinas contra todas as doenças infecciosas e somente um conhecimento mais adequado das doenças infecciosas poderá esclarecer este problema.

A imunidade natural

Mesmo que pairassem dúvidas sobre a eficácia protetora de muitas vacinas, restaria a evidência indubitável da proteção resultante da imunidade natural que resulta de muitas doenças infecciosas, como as

viroses infantis. Se o mecanismo da proteção criada pela imunização ativa, natural ou artificial, não é a memória imunológica, como argumentamos acima, é necessário propor outro mecanismo explicativo. Este mecanismo pode estar baseado em uma característica fundamental da atividade imunológica: sua diversidade natural.

Como sugerido por Talmage há meio século [23], a especificidade imunológica pode ser explicada por combinações peculiares de imunoglobulinas naturais, todas específicas para o antígeno ou seus diversos epitopos, com diferentes afinidades de ligação, mas também capazes de se ligar a outros epitopos. Segundo o conceito clássico, à imensa diversidade de antígenos que o organismo contata, corresponderia uma diversidade comparável de anticorpos, numa base um-a-um (unívoca). Talmage propõe uma alternativa multívoca, mais realista, de relações muitos-a-muitos. Como mencionado acima, o mesmo se aplica à especificidade de linfócitos T [4].

Encontrar a pergunta adequada

O que se passa, então, na “imunidade natural” que a maioria dos organismos exhibe em relação a imensa variedade de micróbios, vírus e parasitas multicelulares com os quais entra em contato? Por que maioria dos organismos não adoece, mesmo durante surtos e epidemias? Como explicar esta variabilidade individual? O que se passa com a minoria de indivíduos que efetivamente adoece? Queremos entender como a atividade linfocitária participa da geração e manutenção da saúde e como, eventualmente, surge a doença; nada mais e nada menos que isto, é o que temos que ousar.

Em nosso modo de ver, o conhecimento já disponível sobre a atividade imunológica sugere uma explicação. E como saber que já explicamos o que gostaríamos de explicar? Quando o mecanismo gerativo que propomos for aceito como capaz de explicar a manutenção da saúde e a eventual geração da doença em todos os casos conhecidos. E qual é este mecanismo gerativo? O que precisaria ser aceito pela comunidade de imunologistas? Precisaríamos transformar a pergunta “Como adoecemos?” em “Como, eventualmente, adoece um portador são de agentes potencialmente patogênicos?” Similarmente, podemos perguntar: “Como, eventualmente, adoece um reator são a materiais potencialmente alergênicos?” e “Como, eventualmente, surgem doenças autoimunes em um organismo sadio que continuamente forma auto-anticorpos [13] e ativa

linfócitos T reativos a peptídeos autólogos [14] que são potencialmente patogênicos?”

Uma única resposta a todas estas perguntas seria: A atividade imunológica é robustamente estável e mantém dinamicamente invariante um conjunto de relações entre linfócitos e destes linfócitos com o organismo. Ou seja: a atividade imunológica tem uma organização invariante. Esta estabilidade robusta é sempre plural e multi-conectada como resultado da imensa diversidade clonal dos linfócitos e das imunoglobulinas naturais. Esta estabilidade robusta está sempre sofrendo ajustes (é dinâmica, cambiável) e quando se rompe transitória ou definitivamente, o organismo adoce e, eventualmente, se desconjunta, se desintegra, morre.

A reatividade progressiva como patogênica

A literatura atual está repleta de exemplos de associações entre estados patológicos clínicos ou experimentais e uma ativação dita oligoclinal de linfócitos T, uma ativação com baixa diversidade clonal; as referências são demasiadamente numerosas para serem citadas. Elas abrangem imunodeficiências congênitas, como a síndrome de Omenn [24]; doenças infecciosas e parasitárias [25]; doenças alérgicas, como a rinite por pólen [26]; e várias doenças autoimunes [27-29].

Uma organização invariante

Todas estas associações não foram suficientes para localizar o problema mais geral em perturbações da organização invariante da atividade imunológica, pela simples razão de que esta organização e esta invariância nunca foram reconhecidas como o fundamento da atividade biológica. No entanto, a manutenção de uma organização auto-criadora e auto-mantenedora (autopoiética) é uma condição de existência para todos os seres vivos, assim como o é a conservação da adaptação às circunstâncias (ao meio) em que estes seres vivos vivem, como está repetidamente afirmado em um conjunto de postulados conhecido como Biologia do Conhecer e da Linguagem criado por Maturana *et al.* [30-32].

Além da organização autopoiética que todos os seres vivos mantêm invariante enquanto vivem, podemos descrever sub-sistemas que criam espaços particulares durante este viver, tais como o sistema nervoso e o sistema imune de vertebrados

mandibulados. Estes sistemas interagem entre si e com o organismo, ou seja, interagem com o meio em que operam, que é o organismo do qual fazem parte. Na imunologia, esta visão foi prejudicada pela idéia de discriminação self/nonself, porque usualmente a atividade imunológica é descrita como um estranhamento (uma atividade cognitiva) e seus defeitos (imunodeficiências, doenças infecciosas, alérgicas e autoimunes). Mas, no que se refere à dinâmica estrutural dos linfócitos a discriminação self/nonself é um pseudoproblema, pois os linfócitos individualmente ou em conjunto não conseguem discriminar entre aquilo que pertence ou não pertence originalmente ao organismo, apenas participam da manutenção da organização invariante da atividade imunológica através de uma conectividade que é sempre plural.

Todas as teorias já propostas sobre a atividade imunológica são teorias sobre a produção de anticorpos específicos e ativação linfocitária, e não teorias sobre a fisiologia do organismo e seus sub-sistemas. Duas exceções notáveis - a Teoria das Cadeias Laterais de Ehrlich [33]; e a Teoria da Rede Idiotípica [6] - foram esquecidas. Logo após a proposta de Jerne [6], mostramos a necessidade de adicionar à teoria a noção de clausura operacional, ou melhor, de uma organização invariante para o sistema imune [9], mas esta contribuição passou despercebida. O valor de teorias científicas é proporcional à possibilidade de testá-las experimentalmente e o que propomos aqui pode ser testado de inúmeras maneiras. Mas antes que isto se passe, o que propomos precisa ser aceito como uma possibilidade interessante.

Referências

1. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, Shimizu J, Takahashi T, Nomura T. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev* 2006;212:8-27.
2. Mizoguchi A, Bhan AK. A Case for Regulatory B Cells. *J Immunol* 2006;176:705-10.
3. Stockinger B, Barthlott T, Kassiotis G. T cell regulation: a special job or everyone's responsibility? *Nat Immunol* 2001;2:757.
4. Sette A, Buus S, Colon S, Milles C, Grey H. I-A binding peptides derived from unrelated proteins share a common structural motif. *J Immunol* 1988;141:45-8.
5. Elliott T, Neefjes J. The complex route to MHC class I-peptide complexes. *Cell* 2006;127:249-55.
6. Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol* 1974;125C:373-92.
7. Eichmann K. The network collective - rise and fall of a scientific paradigm. Berlin: Birkhauser; 2008.

8. Jerne NK. Network notions. Annual Report of the Basel Institute for Immunology; 1974. page 6, BII Report. Disponível em URL: <http://www.bii.ch>.
9. Vaz NM, Varela FG. Self and nonsense: an organism-centered approach to immunology. *Med Hypothesis* 1978;4:231-57.
10. Vaz NM, Ramos GC, Pordeus V, Carvalho CR. The conservative physiology of the immune system. A non-metaphoric approach to immunological activity. *Clin Dev Immunol* 2006;13:133-42.
11. Faria AMC, Weiner HL. Oral tolerance. *Immunol Rev* 2005;206:232-59.
12. Verdolin BA, Ficker SM, Faria AM, Vaz N, Carvalho CR. Stabilization of serum antibody responses triggered by initial mucosal contact with the antigen independently of oral tolerance induction. *Braz J Biol Med Res* 2001;34:211-9.
13. Coutinho A, Kazatchkine MD, Avrameas S. Natural autoantibodies. *Curr Opin Immunol* 1995;7:812-8.
14. Pereira P et al. Autonomous activation of B and T lymphocytes in antigen-free mice. *Eur J Immunol* 1986;16:685-8.
15. Milner J, Ward J, Keane-Myers A, Min B, Paul WE. Repertoire-dependent immunopathology. *J Autoimmun* 2007;29:257-61.
16. Nobrega A, Stransky B, Nicolas N, Coutinho A. Regeneration of natural antibody repertoire after massive ablation of lymphoid system: robust selection mechanisms preserve antigen binding specificities. *J Immunol* 2002;169:2971-8.
17. Merbl Y, Itzchak R, Vider-Shalit T, Louzoun Y, Quintana F, Vadai E, Eisenbach L, Cohen IR. A systems immunology approach to the host-tumor interaction: large-scale patterns of natural autoantibodies distinguish healthy and tumor-bearing mice. *PLoS ONE* 2009;4:e6053.
18. Quintana FJ, Farez MF, Viglietta V, Iglesias AH, Merbl Y, Izquierdo G, Lucas M, Basso AS, Khoury SJ, Lucchinetti CF, Cohen IR, Weiner HW. Antigen microarrays identify unique serum autoantibody signatures in clinical and pathologic subtypes of multiple sclerosis. *PNAS* 2008;105:18889-94.
19. Vaz NM, Nóbrega A, Silva Neto AF, Secor WE, Colley DG. Severity of schistosomiasis mansoni in male CBA mice is related to IgG profiles reacting with mouse liver extracts in Panama-blot. In: XVI Reunião Annual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FESBE), Caxambu MG; 2001. p.136 (abstract 24.003)
20. McKeow T. The role of medicine: dream, mirage or nemesis? Oxford: Blackwell; 1976.
21. McKeow T. The origins of human disease. Oxford: Blackwell; 1988.
22. Lambert P-H, Liu M, Siegrist C-A. Can successful vaccines tell us how to induce efficient protective immune responses? *Nat Med* 2005;11:554-62.
23. Talmage DW. Immunological specificity, unique combinations of selected natural globulins provide an alternative to the classical concept. *Science* 1959;129:1643-8.
24. Leavy O. Modelling Omenn syndrome. *Nat Rev Immunol* 2007;7:416-7.
25. Finger E, Brodeur PH, Hernandez HJ, Staderker MJ. Expansion of CD4 T cells expressing a highly restricted TCR structure specific for a single parasite epitope correlates with high pathology in murine schistosomiasis. *Eur J Immunol* 2005;35:2659-69.
26. Davies JM, O'Hehir RE. VH gene usage in immunoglobulin E responses of seasonal rhinitis patients allergic to grass pollen is oligoclonal and antigen driven. *Clin Exp Allergy* 2004;34:429-36.
27. van den Elzen P, Menezes JS, Ametani A, Mavarakis E, Madakamutil L, Tang XL, Kumar V, Sercarz EE. Limited clonality in autoimmunity: drivers and regulators. *Autoimmun Rev* 2004;3:524-9.
28. Guilherme L, Fae KC, Oshiro SE, Tanaka AC, Pomerantzeff PM, Kalil J. Rheumatic fever: how S. pyogenes-primed peripheral T cells trigger heart valve lesions. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1051:132-40.
29. Krupica T, Fry TJ, Mackall CL. Autoimmunity during lymphopenia: a two-hit model. *Clin Immunol* 2006;120:121-8.
30. Maturana H, Poerksen B. From being to doing: the origins of biology of cognition. Heidelberg: Carl-Auer; 2004.
31. Cecchi C, Vargas A, Villagra C, Mpodozis J. Answering Cuvier. Notes on the systemic/historic nature of living beings. *Cybernetics & Human Knowing* 2004;11:11-9.
32. Ramos GC, Vaz NM, Saafeld K. Wings for flying, lymphocytes for defense: Spandrels, exaptation and specific immunity. *Complexus* 2006;3:211-6.
33. Ehrlich P. On immunity, with special reference to cell life. *Proc Roy Soc (London)* 1900;66:424-48.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Mimetismo apoptótico: burlando a discriminação entre o próprio e o não-próprio

Poliana Deolindo*, Marcello A. Barcinski**

Apoptose e mimetismo apoptótico

A apoptose é um tipo de Morte Celular Programada (MCP) que apresenta um importante papel no desenvolvimento, mantém um número estável de células e controla funções em vários sistemas como o imune, o nervoso e o sanguíneo [1]. Diferente de uma célula necrótica que apresenta ruptura na membrana e liberação do conteúdo intracelular, uma célula apoptótica é rapidamente fagocitada como corpos apoptóticos intactos por células do tecido ou por fagócitos como os macrófagos e células dendríticas imaturas. Desta forma células auto-reativas, que já desempenharam sua função, que foram infectadas ou que sofreram algum tipo de estresse físico ou químico, são eliminadas sem iniciar um processo inflamatório danoso ao tecido adjacente [2].

As modificações bioquímicas sofridas por uma célula em apoptose resultam na exposição de múltiplos ligantes na superfície. Eles podem ser reconhecidos por diversos receptores na membrana dos fagócitos, atuando de modo redundante e otimizando a capacidade do organismo em remover rapidamente estas células [3,4]. Estes ligantes diferenciam as células apoptóticas das viáveis, facilitando o reconhecimento pelos fagócitos, e foram descritos na literatura como “*eat-me signals*”. Outras moléculas de superfície, como o CD31 e o CD47, foram descritas como “*don't eat-me signals*”, servindo como sinalizadoras de inibição da fagocitose destas células [5,6]. Um dos mais bem caracterizados “*eat-me signal*” apresentado por células apoptóticas é o fosfolípido fosfatidilserina (PS), exposto na superfície da célula em consequência da perda de simetria da membrana plasmática [7,8]. A exposição do PS na superfície da célula apoptótica não compromete a integridade da membrana e precede os eventos de degradação do DNA [9]. O PS exposto serve como um sinal para a remoção não-inflamatória das células apoptóticas, que será descrito com mais detalhes a seguir [7,9,10].

Reconhecimento da fosfatidilserina (PS)

O PS exposto na superfície da célula apoptótica pode ser reconhecido a partir da ligação de fatores séricos que possuem afinidade por este fosfolípido e fazem a ligação entre a célula apoptótica e o fagócito. O PS exposto em células apoptóticas também pode ser reconhecido por componentes do sistema complemento. Païdassi *et al.* [11] demonstraram que a região globular do C1q interage com o domínio

*Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, RJ, **Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, SP
- Este trabalho fez parte da tese de doutoramento de Poliana Deolindo

Endereço para correspondência:
Poliana Deolindo, E-mail: p_deolindo@yahoo.com.br, Marcello Barcinski, E-mail: barcinski@icb.usp.br, barcinsk@inca.gov.br

de fosfoserina do PS. A interação entre estas duas moléculas é inibida na presença de anexina V e pode ser observada nos estágios iniciais de apoptose, quando a exposição de PS está organizada em forma de *patches* na membrana.

Outra forma de reconhecer o PS na superfície das células apoptóticas é através de receptores específicos presentes na membrana dos fagócitos. O primeiro receptor foi descrito por Fadok *et al.* [12]. Neste trabalho os autores identificaram um anticorpo monoclonal que bloqueia a fagocitose de células apoptóticas de forma dependente de PS. O epítipo reconhecido por este anticorpo foi isolado pela técnica de *phage display* e o gene que codifica para este epítipo foi identificado como sendo o receptor de PS (PSR). O PSR foi descrito como uma proteína transmembrana e a expressão deste receptor em células não fagocíticas aumentou a eficiência de fagocitose destas células [12]. No entanto a localização nuclear do PSR já havia sido demonstrada anteriormente em células de mamíferos [13] e em *Hydra* [14] e foi descrita recentemente em *Drosophila* [15], contradizendo os resultados apresentados por Fadok *et al.* [12].

Consequências do reconhecimento de PS pelas células fagocíticas

A fagocitose das células apoptóticas modula o perfil de expressão de citocinas secretadas pelos fagócitos, contribuindo para a remoção silenciosa destas células do tecido. Experimentos *in vitro* demonstram que macrófagos que fagocitam células apoptóticas secretam citocinas como TGF- β e IL-10, prostaglandina E₂ (PGE₂) e PAF (*Platelet-activating factor*) que podem potencialmente inibir o processo inflamatório [16,17]. Entre as citocinas pró-inflamatórias que são inibidas após o reconhecimento das células apoptóticas, destacam-se o TNF- α , IL-10, IL-8 e IL-12. A inibição da produção destas citocinas é observada mesmo após o tratamento dos macrófagos com LPS [16,17].

A exposição do PS na célula apoptótica tem sido demonstrada como importante moduladora da resposta de fagócitos a estas células. A produção de TGF- β pelos macrófagos ocorre de forma dependente do reconhecimento de PS na superfície da célula apoptótica [18] e sua ação autócrina/parácrina está envolvida na inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias [17]. Kim *et al.* [19] demonstraram que o contato da célula apoptótica induz no fagócito a ligação de GC-BP (uma proteína com domínio *zinc finger*) ao promotor da IL-12, inibindo a produção desta citocina. Este efeito

também foi observado com a adição de lipossomas de PS, indicando que o reconhecimento deste fosfolípido na membrana da célula apoptótica é responsável pela inibição da produção de IL-12.

Apoptose em organismos unicelulares

No final da década de 90, diversos trabalhos demonstraram características de morte celular programada em vários organismos unicelulares, sugerindo o aparecimento deste tipo de morte na escala evolutiva antes mesmo do desenvolvimento da multicelularidade. Utilizando diferentes mecanismos para a indução de morte, como privação de nutrientes ou adição de drogas, características do processo de morte celular programada foram descritas em diversos microorganismos, com destaque para os tripanosomatídeos *Trypanosoma cruzi* [1], *T. brucei brucei* [20], *T. brucei rhodesiense* [21], *Leishmania donovani* [22,23], *L. amazonensis* [24], *L. mexicana* e *L. major* [25]. A vantagem deste tipo de morte celular para a homeostase e o desenvolvimento de organismos multicelulares é inquestionável e falhas nos mecanismos de reconhecimento ou endocitose destas células resultam no aparecimento de tumores ou de doenças auto-imunes. No entanto, a partir destes trabalhos, várias discussões sobre as vantagens do processo de morte celular programada para um organismo unicelular foram levantadas. Analisando a população com um todo, a morte controlada ou induzida de alguns indivíduos poderia ser importante no controle populacional em um ambiente com privação de nutrientes, manutenção da viabilidade do hospedeiro evitando uma infecção exacerbada ou na eliminação de indivíduos não funcionais, mantendo o potencial infectivo e a sobrevivência da população. Semelhante ao que ocorre no reconhecimento de células apoptóticas foi demonstrado que um microorganismo apoptótico pode se beneficiar dos processos antiinflamatórios induzidos no momento do seu reconhecimento. Zandbergen *et al.* [26] demonstraram que o sucesso da infecção com promastigotas de *L. major*, em modelos *in vitro* e *in vivo*, depende da presença de parasitas apoptóticos no inóculo no momento da infecção. Durante a fase estacionária de culturas de promastigotas, aproximadamente 50% dos parasitas morre por apoptose com arredondamento do corpo celular, desorganização da estrutura do cinetoplasto, condensação da cromatina nuclear e exposição de PS. O reconhecimento dos parasitas apoptóticos induz a produção

de TGF- β pelos neutrófilos criando um ambiente anti-inflamatório que propicia a sobrevivência das formas não apoptóticas. Mecanismos semelhantes de cooperação entre promastigotas apoptóticos e viáveis no momento da infecção também foram observadas em promastigotas de *L. amazonensis* [27]. Em populações de *Toxoplasma gondii* purificadas do peritônio de camundongos, células que expõem PS na superfície representam aproximadamente 50% da cultura. A exposição de PS é um fator de virulência importante durante a infecção por este parasita e resulta em mecanismos de evasão da ativação macrofágica, com inibição da produção de NO e aumento da produção de TGF- β pelos macrófagos [28]. Em experimentos com diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*, foi observado que apenas as formas infectivas deste parasita, ou seja, as tripomastigotas, apresentam exposição de PS na superfície [29]. O reconhecimento desta molécula na superfície das tripomastigotas também está relacionado à inibição da produção de NO por macrófagos. Estes trabalhos sugerem que a habilidade em induzir uma resposta antiinflamatória utilizando características de células apoptóticas parece ser um mecanismo comum entre parasitas intracelulares, que precisam lidar com mecanismos microbicidas da células hospedeiras.

Características gerais e ciclo de vida das *Leishmanias* spp

Os protozoários do gênero *Leishmania* são parasitas flagelados pertencentes à ordem *Kinetoplastida* e à família *Trypanosomatidae*. Estes protozoários caracterizam-se pela presença de uma estrutura denominada cinetoplasto, formada de minicírculos e maxicírculos de ácido desoxirribonucléico (DNA) altamente compactado dentro da única mitocôndria da célula [30]. Existem aproximadamente 21 espécies de *Leishmania*, agrupadas em dois grandes subgêneros: *Leishmania* e *Viannia* [31]. As espécies também podem ser classificadas de acordo com a distribuição geográfica das áreas endêmicas como espécies do Velho Mundo (Europa e Ásia) e do Novo Mundo (Américas).

Durante o seu ciclo de vida, o parasita apresenta duas formas evolutivas: promastigotas presentes em insetos vetores e amastigotas intracelulares encontrados em hospedeiros vertebrados. As formas promastigotas são transmitidas por fêmeas de insetos hematófagos da subfamília *Phlebotominae* (Diptera, Psychodidae), denominados genericamente de flebótomos. Os insetos estão representados por centenas de espécies, ocupando extensas áreas geográficas

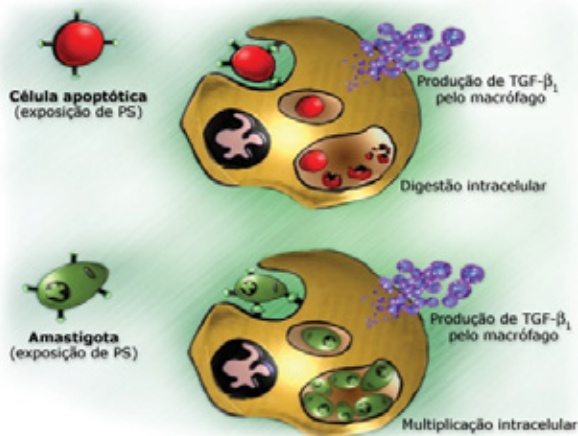
nos diversos continentes. Flebótomos do gênero *Lutzomyia* estão mais associados à transmissão de espécies de *Leishmania* do Novo Mundo, enquanto que flebótomos do gênero *Phlebotomus*, estão mais associados com as espécies do Velho Mundo. A infecção do inseto ocorre no momento da alimentação, quando ele suga o sangue contendo amastigotas ou macrófagos infectados. No trato digestivo, ocorre rompimento da membrana dos macrófagos e as amastigotas liberadas diferenciam-se na forma promastigota. Estas formas são afiladas, apresentam flagelo externalizado e são capazes de se multiplicar no intestino. Após a digestão do sangue, as promastigotas migram para a região anterior do intestino e sofrem um processo de diferenciação denominado metaciclologênese [32]. Durante a metaciclologênese, as promastigotas apresentam redução de tamanho do corpo celular, tornam-se extremamente móveis e altamente infectivas, passando a ser denominadas de metacíclicas. As formas metacíclicas migram para a probóscide e são transferidas ao hospedeiro vertebrado no momento da picada, durante um novo respaço sanguíneo do inseto. No local da picada, as formas metacíclicas são fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear presentes na derme. No interior dos fagossomas, as formas promastigotas se diferenciam em amastigotas, células arredondadas e com flagelo internalizado. Este período de diferenciação pode levar de 2 a 5 dias [33]. Os fagossomas contendo o parasita fundem com vesículas endocíticas e com lisossomas. As amastigotas são resistentes às enzimas e ao pH ácido do fagolisossoma, conseguindo se multiplicar no interior desta organela. Após diversas multiplicações, os macrófagos ficam super infectados e rompem, liberando as amastigotas que são rapidamente fagocitadas por novos macrófagos, estabelecendo e disseminando a infecção.

Mimetismo apoptótico em *Leishmania amazonensis*

Uma sub-população das formas promastigotas de *L. amazonensis* morrem por apoptose quando submetidas a choque térmico. Isto foi observado em experimentos de transferência dos parasitas da temperatura de crescimento *in vitro*, para a temperatura de crescimento *in vivo* (de 22°C para 37°C, respectivamente) [24]. Durante este processo, os parasitas apresentam mudanças morfológicas características de uma célula apoptótica como fragmentação da cromatina e clivagem de DNA [24]. Formas amastigotas desta espécie, quando purificadas de lesões

em camundongos, expõem PS na superfície [34]. No entanto, estas células são viáveis, altamente infectivas e replicam em macrófagos após a infecção, o que sugere que não estão morrendo por apoptose. Os autores observaram que, semelhante ao que ocorre durante o reconhecimento de células apoptóticas, o reconhecimento destas amastigotas pelo macrófago induz um fenótipo anti-inflamatório, com produção de TGF- β , IL-10 e inibição da produção de NO [34]. Por estas características, o mecanismo de exposição de PS em amastigotas de *L. amazonensis* purificadas de lesão foi denominado Mimetismo Apoptótico, demonstrado esquematicamente na figura 1 [34].

Figura 1 - Mimetismo apoptótico em amastigotas de *Leishmania amazonensis*. Semelhante ao que ocorre durante o reconhecimento de células apoptóticas, a exposição de fosfatidilserina na superfície da amastigota induz a produção de citocinas anti-inflamatórias pelo macrófago, como o TGF- β . Desta forma, os mecanismos microbicidas são inibidos, favorecendo o crescimento do parasita (Desenho de Fernando Real).



A exposição de PS na superfície das amastigotas pode variar de acordo com o perfil genético do camundongo infectado. Quando isoladas de lesões em camundongos BALB/c (suscetíveis à leishmaniose), as amastigotas expõem significativamente mais PS na superfície que quando isoladas de camundongos C57BL/6 (resistentes à doença) [35]. A quantidade de PS exposta na superfície do parasita contribui significativamente para a infectividade. Amastigotas isoladas de camundongos BALB/c desenvolvem lesões maiores em camundongos F1 (BALB/c x C57BL/6) que amastigotas isoladas de camundongos C57BL/6. Estes resultados foram confirmados em experimentos *in vitro* com infecção de macrófagos isolados de também de camundongos F1 [35]. A exposição de PS nas

amastigotas induz a internalização destas células por processo de macropinocitose, assim como demonstrado para células apoptóticas. A ativação da macropinocitose, a indução da produção de TGF- β e IL-10 e a inibição da síntese de NO são processos diretamente dependentes da quantidade de PS exposta na superfície das amastigotas. Todos estes processos podem ser revertidos através do bloqueio do reconhecimento deste fosfolípido com Anexina V [35].

A necessidade de invadir células hospedeiras fez com que as formas infectivas de *Leishmania* desenvolvessem estratégias para este fim. A exposição de PS facilita tanto a internalização como a sobrevivência e proliferação do parasita no interior dos macrófagos. A exposição deste fosfolípido nas formas promastigotas e amastigotas apresenta características diferentes. Nas formas promastigotas aparecem como parte de um processo de morte celular, após os parasitas alcançarem a diferenciação terminal como metacíclicos [27]. Nas formas amastigotas, a exposição pode ser modulada pelo hospedeiro e ainda não está elucidado se ela faz parte de um processo de morte ou se é transiente, acontecendo apenas no momento da infecção do macrófago.

Em conjunto, nossos resultados demonstram que a exposição de PS na superfície das amastigotas representa um importante mecanismo de virulência, contribuindo para a infecção, formação do vacúolo parasitóforo característico desta espécie e modulação da ativação macrofágica. A sinalização por este fosfolípido é importante não apenas durante o reconhecimento das amastigotas na superfície, mas é capaz de sinalizar também a partir da membrana do vacúolo parasitóforo. A exposição de PS pela amastigota no interior do vacúolo parece orquestrar os mecanismos de inativação da célula hospedeira, mesmo após longos períodos de infecção. A formação de agregados de fosfolípidios na membrana da amastigota sugere que esta distribuição é importante durante a sinalização pelo parasita dentro do vacúolo parasitóforo.

Referências

1. Welburn SC, Barcinski MA, Williams GT. Programmed cell death in trypanosomatids. *Parasitol Today* 1997;13:22-5.
2. Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature* 2001;412:133-5.
3. DeCathelineau AM, Henson PM. The final step in programmed cell death: phagocytes carry apoptotic cells to the grave. *Essay Biochem* 2003;39:105-17.
4. Moreira MEC, Barcinski MA. Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems. *Ann Acad Bras Ciências* 2004;76:93-115.

5. Brown S, Heinisch I, Ross E, Shaw K, Buckley CD, Savill J. Apoptosis disables CD31-mediated cell detachment from phagocytes promoting binding and engulfment. *Nature* 2002;418:200-4.
6. Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, Janssen WJ, Starefeldt A, Murphy-Ulrich JE, Bratton DL, Oldenburg PA, Michalak M, Henson PM. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell* 2005;123:321-334.
7. Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol* 1992;148:2207-16.
8. Van der Eijnde SM. Phosphatidylserine exposure in apoptotic cells is phylogenetically conserved. *Apoptosis* 1998;3:9-16.
9. Venhoven B, Schlegel RA, Williamson P. Mechanisms of phosphatidylserine exposure, a phagocyte recognition signal, on apoptotic T lymphocytes. *J Exp Med* 1995;182:1597-601.
10. Fadok VA, Cathelineau A, Daleke DL, Henson PM, Bratton DL. Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts. *J Biol Chem* 2001;276:1071-7.
11. Païdassi H, Tacnet-Delorme P, Garlatti V, Darnault C, Ghebrehiwet B, Gaboriaud C, Arlaud GJ, Frachet P. C1q binds phosphatidylserine and likely acts as a multiligand-bridging molecule in apoptotic cell recognition. *J Immunol* 2008;180:2329-38.
12. Fadok VA, Bratton DL, Rose DM, Pearson A, Ezekewitz RAB, Henson PM. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* 2000;405:85-90.
13. Cui P, Qin B, Liu N, Pan G, Pei D. Nuclear localization of the phosphatidylserine receptor protein via multiple nuclear localization signals. *Exp Cell Res* 2004;293:154-63.
14. Cikala M, Alexandrova O, David CN, Pröschel M, Stiening B, Cramer P, Böttger A. The phosphatidylserine receptor from Hydra is a nuclear protein with potential Fe(II) dependent oxygenase activity. *BMC Cell Biol* 2004;5:26-37.
15. Kreiser RJ, Moore FE, Dresnek D, Pellock BJ, Patel R, Huang A, Brachmann C, White K. The Drosophila homolog of the putative phosphatidylserine receptor functions to inhibit apoptosis. *Develop* 2007;134:2407-14.
16. Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997;390:350-1.
17. Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE₂ and PAF. *J Clin Invest* 1998;101:890-8.
18. Huynh MLN, Fadok VA, Henson PM. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cells promotes TGF- β 1 secretion and the resolution of inflammation. *J Clin Invest* 2002;109:41-50.
19. Kim S, Elkon KB, Ma X. Transcriptional suppression of interleukin-12 gene expression following phagocytosis of apoptotic cells. *Immunity* 2004;21:643-53.
20. Ridgley EL, Xiong ZH, Ruben L. Reactive oxygen species activate a Ca²⁺-dependent cell death pathway in the unicellular organism *Trypanosoma brucei brucei*. *Biochem J* 1999;340:33-40.
21. Welburn SC, Lillico S, Murphy NB. Programmed cell death in procyclic form *Trypanosoma brucei rhodesiense* – identification of differentially expressed genes during Con A induced death. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:229-234.
22. Das M, Mukherjee SB, Shaha C. Hydrogen peroxide induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. *J Cell Sci* 2001;114:2461-9.
23. Lee N, Bertholet S, Debrabant A, Muller J, Duncan R, Nakhasi HL. Programmed cell death in the unicellular protozoan parasite *Leishmania*. *Cell Death Differ* 2002;9:53-64.
24. Moreira MEC, Portillo HA, Milder RV, Balanco JMF, Barcinski MA. Heat shock induction of apoptosis in promastigotes of the unicellular organism *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *J Cell Physiol* 1996;167:305-13.
25. Zangger H, Mottram JC, Fasei N. Cell death in *Leishmania* induced by stress and differentiation: programmed cell death or necrosis? *Cell Death Differ* 2002;9:1126-39.
26. Zandbergen G, Bollinger A, Wenzel A, Kamhawi S, Voll R, Klinger M, Müller A, Hölscher C, Herrmann M, Sacks D, Solbach W, Laskay T. *Leishmania* disease development depends on the presence of apoptotic promastigotes in the virulent inoculum. *PNAS* 2006;103:13837-42.
27. Wanderley JL, Pinto da Silva LH, Deolindo P, Soong L, Borges VM, Prates DB, de Souza AP, Barral A, Balanco JM, do Nascimento MT, Saraiva EM, Barcinski MA. Cooperation between apoptotic and viable metacyclics enhances the pathogenesis of leishmaniasis. *PLoS One* 2009;4:e5733.
28. Seabra SH, Souza W, DaMatta RA. *Toxoplasma gondii* exposes phosphatidylserine inducing a TGF- β 1 autocrine effect orchestrating macrophage evasion. *Biochem Biophys Res Comm* 2004;324:744-52.
29. DaMatta RA, Seabra SH, Deolindo P, Arnholdt ACV, Manhães L, Goldenberg S, Souza W. *Trypanosoma cruzi* exposes phosphatidylserine as an evasion mechanism. *FEMS Microbiol Lett* 2007;266:29-33.
30. Stuart K. Kinetoplast DNA, mitochondrial DNA with a difference. *Mol Biochem Parasitol* 1983;9:93-104.
31. Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT. Dermal and visceral leishmaniasis and their causative agents. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987;81:702-3.
32. Sacks DL, Perkins PV. Identification of an infective stage of *Leishmania* promastigotes. *Science* 1984;223:1417-9.
33. Courret N, Fréhel C, Gouhier N, Pouchet M, Prina E, Roux P, Antoine JC. Biogenesis of *Leishmania*-harbouring parasitophorous vacuoles following phagocytosis of the metacyclic promastigote or amastigote stages of the parasites. *J Cell Sci* 2002;115:2303-16.
34. Balanco JMF, Moreira MEC, Bonomo A, Bozza PT, Amarante-Mendes G, Pirmez C, Barcinski MA. Apoptotic Mimicry by an obligate intracellular parasite downregulates macrophage microbicidal activity. *Curr Biol* 2001;11:1870-3.
35. Wanderley JLM, Moreira MEC, Benjamin A, Bonomo AC, Barcinski MA. Mimicry of apoptotic cells by exposing phosphatidylserine participates in the establishment of amastigotes of *Leishmania (L) amazonensis* in mammalian hosts. *J Immunol* 2006;176:1834-9.

Iª Jornada Fluminense sobre Cognição Imune e Neural

Sintaxe comum e conexões imunoneuroendócrinas

Common syntax and immunoneuroendocrine connections

Wilson Savino

Resumo

A comunicação entre os sistemas imune e neuroendócrino é atualmente bem conhecida. Ligantes e receptores similares usados nestes dois sistemas permitem a existência cotidiana de circuitos fisiológicos intra- e inter-sistemas, e que desempenham papel relevante na homeostasia. Células do sistema imune produzem hormônios e neuropeptídeos clássicos, ao passo que glândulas endócrinas e células do tecido nervoso podem produzir uma série de citocinas. Além disso, receptores específicos para diferentes famílias moleculares podem ser detectados em células dos sistemas imune e neuroendócrino, configurando assim uma sintaxe molecular comum entre os dois sistemas. Tais conceitos podem ser exemplificados no timo, órgão central no desenvolvimento de linfócitos T. Assim, várias funções de proliferação, morte, diferenciação e migração intratímica de linfócitos podem ser moduladas por vários hormônios e neuropeptídeos. Além disso, há produção constitutiva de vários hormônios no interior do órgão, configurando a possibilidade de efeitos endócrinos e parácrinos/autócrinos de vários hormônios. Por fim, o conhecimento acumulado sobre o significado fisiológico de interações imunoneuroendócrinas começa a ser usado para o melhor entendimento de algumas doenças, e alguns ensaios de intervenção terapêutica de base imunoneuroendócrina permitem vislumbrar um futuro promissor neste campo do conhecimento.

Palavras-chave: hormônios, linfócitos, timo, migração celular, células epiteliais tímicas, integrinas, quimiocinas.

Abstract

Communication between the immune and neuroendocrine systems is presently well established. Similar ligands and receptors used by the two systems allow the daily existence of physiologic circuits, both within and inter-systems, playing a relevant role in homeostasis. Cells of the immune system produce classic hormones and neuropeptides, whereas cells of endocrine glands and nervous tissue can produce a number of cytokines. Additionally, specific receptors of the distinct molecular families can be detected in cells of both immune and neuroendocrine systems, thus yielding a common molecular syntax between the two systems. These concepts can be illustrated in the thymus, the central organ for development of T lymphocytes. Accordingly, several functions such as proliferation, death, differentiation and migration of lymphocytes within the organ can be modulated by hormones and neuropeptides. Moreover, there is a constitutive intrathymic production of several hormones, thus placing the possibility that hormones can exert endocrine as well as paracrine/autocrine effects in the organ. Lastly, it is noteworthy that the cumulated knowledge on the physiological significance of immunoneuroendocrine interactions begins to be used for better understanding diseases, and recent immunoneuroendocrine-based therapeutic interventions lead us to envision a promising future in the field.

Key-words: hormones, lymphocytes, thymus, cell migration, thymic epithelial cells, integrins, chemokines.

Laboratório de Pesquisas sobre o Timó, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

Endereço para correspondência:

Wilson Savino, Laboratório de Pesquisas sobre o Timó, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365 Manguinhos 21045-900, Rio de Janeiro RJ, Tel: (21) 3865-8101, E-mail: savino@fiocruz.br, w_savino@hotmail.com

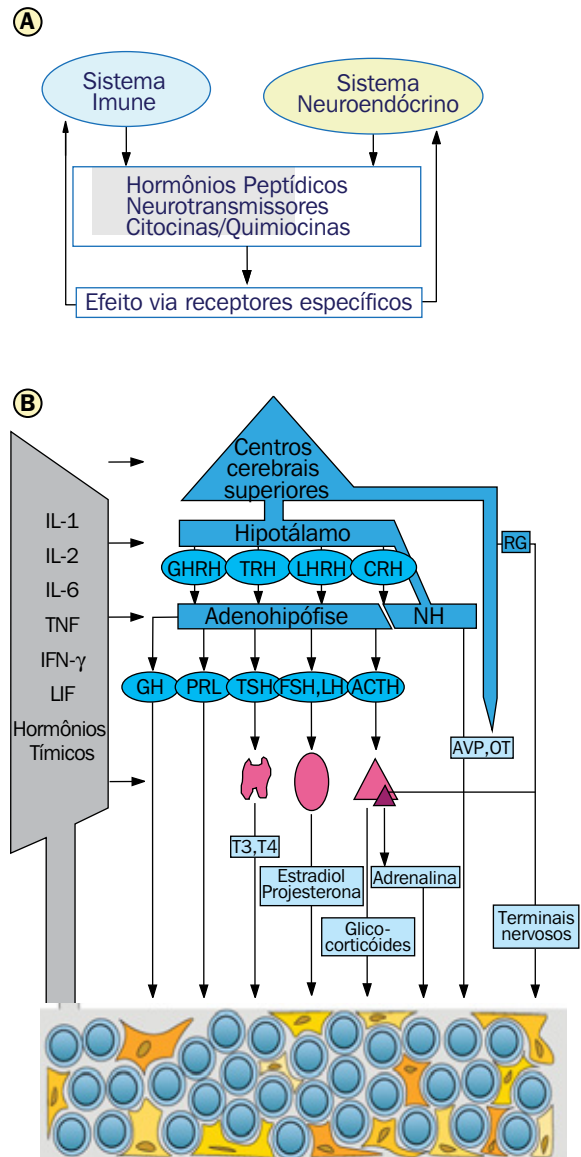
Os sistemas imune e neuroendócrino se comunicam cotidianamente

A intercomunicação (*cross-talk*) entre os sistemas imune e neuroendócrino é atualmente bem conhecida. Ligantes e receptores similares usados nestes dois sistemas permitem a existência cotidiana de circuitos fisiológicos intra- e inter-sistemas (Figura 1a), e que desempenham papel relevante na homeostasia. Assim, não apenas as células do sistema imune são capazes de produzir hormônios e neuropeptídeos clássicos, mas também glândulas endócrinas e células do tecido nervoso podem produzir uma série de citocinas (Figura 1b). Além disso, receptores específicos para diferentes famílias moleculares podem ser detectados em células do sistema imune (Tabela I) e também em células de eixos neuroendócrinos. Em outras palavras, os sistemas imune e neuroendócrino usam uma sintaxe comum [1,2], muito importante na manutenção de um equilíbrio homeostático, e que, se perdida, pode estar relacionada a determinados processos patológicos, como por exemplo doenças infecciosas e doenças autoimunes [3,4]. Para exemplificar esta assertiva, tomaremos o timo, órgão central do sistema imune onde são diferenciados os linfócitos T.

Figura 1 - Conceitos gerais de interações imunoneuroendócrinas.

No painel **A**, ilustramos o conceito de sintaxe comum entre os sistemas imune e neuroendócrino. Ambos podem utilizar os mesmos ligantes e receptores, permitindo uma comunicação celular no interior de cada sistema, assim como entre os dois sistemas. No painel **B**, vemos tal comunicação inter-sistemas de forma mais específica, com centros nervosos e glândulas endócrinas podendo estimular tecidos linfóides, através de inervação direta e de secreção de hormônios e neuropeptídeos. Por outro lado, células do sistema imune podem produzir uma série de citocinas, quimiocinas e hormônios tímicos que podem atuar sobre eixos neuroendócrinos. IL: Interleucinas; TNF: Fator de necrose tumoral; LIF: Fator inibidor de linfomas; GH-RH: Hormônio de liberação do hormônio do crescimento; TRH: hormônio de liberação de tireotrofina; LH-RH: hormônio de liberação de gonadotrofinas; CRH: Hormônio de Liberação de corticotrofina; GH: hormônio do crescimento; PRL: prolactina; TSH: tireotrofina (hormônio estimulante da tireóide); FSH: hormônio folículo estimulante; LH: hormônio luteinizante; ACTH: corticotrofina (hormônio adrenocor-

trocitrófico); NH: neurohipófise; RG: gânglio da raiz dorsal; AVT: arginina-vasopressina; OX: oxitocina; T₃: triiodotironina; T₄: tiroxina.



Importância do timo na homeostasia: diferenciação de timócitos e microambiente tímico

O timo é um órgão linfóide primário, no qual precursores de células T, oriundos da medula óssea, sofrem um processo de diferenciação, que culmina com a migração daqueles timócitos que sofreram seleção positiva, e que irão emigrar do órgão, indo colonizar as chamadas áreas timo-dependentes dos órgãos linfóides secundários. Esse processo envolve a expressão sequencial de várias proteínas, e rearranjo dos genes que codificam para o receptor

de antígeno de células T (TCR). Os timócitos mais imaturos não expressam, nem o TCR, nem as moléculas acessórias CD4 e CD8, sendo chamados de timócitos duplo-negativos, representando 3-5% do total de timócitos. Conforme avança a maturação, as células passam a expressar as moléculas CD4 e CD8, gerando os timócitos CD4⁺CD8⁺ duplo-positivos, que compreendem cerca de 80-85% da população de timócitos. Neste estágio, os genes do TCR são rearranjados, e os rearranjos produtivos permitem a expressão membranar do TCR em baixa densidade (TCR^{low}). As células que não sofrem rearranjo produtivo dos genes do TCR morrem por apoptose, enquanto que as outras irão interagir com peptídeo apresentados por moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), expresso nas células microambientais do órgão. Essa interação irá determinar eventos de seleção positiva e seleção negativa, cruciais para o desenvolvimento normal dos timócitos. Aqueles timócitos selecionados positivamente evoluem para células maduras, simples positivas para CD4 (TCR^{high}CD4⁺CD8⁻) ou CD8 (TCR^{high}CD4⁻CD8⁺), estágio este que corresponde a cerca de 15% dos timócitos, os quais poderão deixar o órgão [5].

A diferenciação de timócitos ocorre à medida que as células migram no interior dos lóbulos tímicos: as células de fenótipos TCR⁺CD4⁺CD8⁻ e TCR⁺CD4⁺CD8⁺ localizam-se no córtex, enquanto que as células maduras TCR⁺CD4⁺CD8⁻ e TCR⁺CD4⁻CD8⁺ são en-

contradas na medula. Ao longo desta *jornada*, os timócitos irão interagir com diferentes componentes do microambiente tímico, uma rede tridimensional formada de células epiteliais tímicas (TEC), macrófagos, fibroblastos e componentes da matriz extracelular [6]. Nosso Laboratório mostrou que interações TEC/timócitos são parcialmente mediadas pela matriz extracelular (ECM); interação esta que é relevante para a migração de timócitos [7]. Além disso, as células do microambiente participam do controle da migração intratímica de células T através de quimiocinas por elas secretadas, incluindo CXCL12, CCL21 e CCL25. Posteriormente, definimos experimentalmente a existência de uma ação combinada de elementos de ECM e quimiocinas governando a migração de timócitos [8,9], e mais recentemente definimos outras famílias de moléculas envolvidas da migração de timócitos, tais como as interações mediadas por neuropilinas e semaforinas de classe 3 [10,11]; interações estas tipicamente encontradas no sistema nervoso. De fato, os estudos mostrando uma quantidade crescente de interações moleculares fisiologicamente envolvidas neste processo migratório nos lóbulos tímicos nos levou a postular que a migração intratímica de linfócitos segue um sistema multivetorial, onde cada vetor representa uma dada interação ligante/receptor, e a migração propriamente dita é representada por um vetor resultante, que pode ser definido pelo somatório dos vetores individuais [12-14].

Tabela I - Células do Sistema Imune expressam receptores para hormônios, neuropeptídeos e neurotransmissores.

Tipo de receptor	Tipo celular no sistema imune
Receptores de hormônios	
Receptores de glicocorticóides	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Monócitos; Macrófagos; Células dendríticas; Neutrófilos; Mastócitos; Células epiteliais tímicas.
Receptores de hormônios sexuais	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Monócitos; Macrófagos; Células dendríticas; Mastócitos; Células epiteliais tímicas.
Receptor de hormônio de crescimento	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Macrófagos; Neutrófilos; Células Epiteliais Tímicas.
Receptor de prolactina	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Macrófagos; Células dendríticas; Neutrófilos; Mastócitos; Células epiteliais tímicas.
Receptor de insulina	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Monócitos; Macrófagos; Granulócitos,
Receptor de leptina	Timócitos; Linfócitos T; Linfócitos B; Macrófagos
Receptores de neuropeptídeos	
Receptores de VIP	Macrófagos; Linfócitos T; Células dendríticas; Linfócitos B; Granulócitos
Receptor do neuropeptídeo Y	Células NK; Linfócitos T.
Receptores de neurotransmissores	
Receptores alfa- e beta-adrenérgicos	Timócitos; Linfócitos Th1; Linfócitos B; neutrófilos; basófilos, eosinófilos, monócitos; Células epiteliais tímicas
Receptores de acetilcolina	Timócitos; Linfócitos T; Células epiteliais tímicas
Receptores de serotonina	Linfócitos T; Macrófagos

A rede de TEC é heterogênea em termos de morfologia e fenótipo. Um complexo linfoepitelial, a célula *nurse* tímica (TNC), corresponde a uma estrutura multicelular formada por uma célula epitelial e números variáveis de timócitos (principalmente células CD4+CD8+), estando localizadas na região cortical dos lóbulos tímicos. TNCs espontaneamente liberam timócitos *in vitro*, e as células epiteliais derivadas de TNC são capazes de reconstituir complexos linfoepiteliais após co-cultura com timócitos fetais. Juntas, essas características fazem das TNCs como um modelo *in vitro* da migração no contexto de TECs [7,8,15].

Controle neuroendócrino sobre o Timo

Vários autores demonstraram que hormônios tipicamente conhecidos por serem secretados por glândulas endócrinas, podem também ser produzidos no interior do timo [revisado em 16]. Assim, utilizando a lógica de uma sintaxe comum, e comparando o timo com a hipófise, vemos que diversos hormônios, neuropeptídeos e citocinas são produzidos em ambos os órgãos [17], como podemos ver de forma esquemática na Figura 2. Ainda nesse sentido, é importante frisar que, tanto linfócitos quanto células do microambiente tímico expressam constitutivamente uma série de receptores para hormônios peptídicos e esteróides, além de neuropeptídeos e neurotransmissores [16]. No entanto, é provável que os hormônios tipicamente *hipofisários* produzidos no timo, tenham um efeito local (parácrino), mais que um efeito endócrino propriamente dito.

O controle neuroendócrino sobre o timo pode ser observado tanto no compartimento linfóide quanto no seu microambiente (Figura 3). A proliferação e a morte intratímica de linfócitos podem ser moduladas por hormônios: glicocorticóides induzem apoptose, particularmente em timócitos imaturos CD4+CD8+, enquanto que prolactina tem efeito co-mitogênico, não apenas sobre linfócitos, mas também sobre células epiteliais tímicas [16]. Por outro lado, vimos que o tratamento do epitélio tímico por hormônios hipofisários ou hormônios da tireóide promovia um aumento da adesão de timócitos às células epiteliais; efeito este mediado pelo aumento na expressão de ligantes e receptores de matriz extracelular [18,19]. Ao contrário, as interações TEC-timócitos mediadas por semaforinas 3A e 3F resultam em efeito de adesivo [10,11].

Figura 2 - Sintaxe comum entre a hipófise e o timo. Ilustramos aqui o fato de tanto o timo quanto a hipófise serem capazes de produzir uma série de hormônios e citocinas. IL: Interleucinas; TNF: Fator de necrose tumoral; LIF: Fator inibidor de linfomas; TGF- β : Fator transformante de crescimento; GH-RH: Hormônio de liberação do hormônio do crescimento; LH-RH: hormônio de liberação de gonadotrofinas; CRH: Hormônio de Liberação de corticotrofina; GH: hormônio do crescimento; PRL: prolactina; LH: hormônio luteinizante; ACTH: corticotrofina (hormônio adrenocorticotrófico).

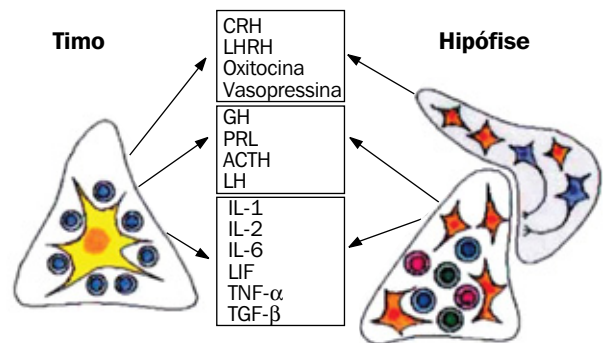
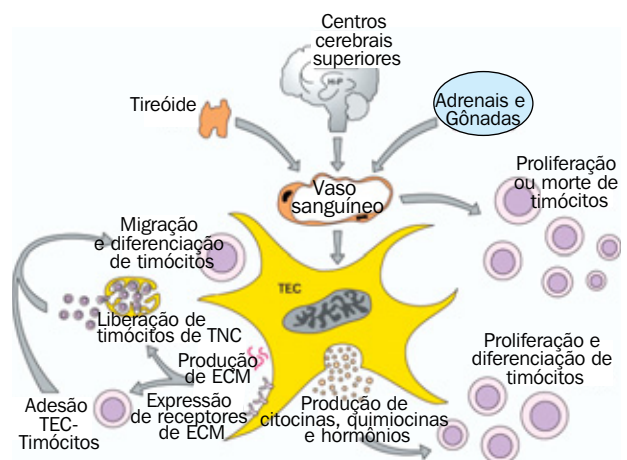


Figura 3 - Controle neuroendócrino sobre o timo. Esta figura mostra que várias funções tímicas, incluindo proliferação, morte, diferenciação e migração de timócitos podem estar sob influência de hormônios e neuropeptídeos, seja por ação direta sobre os linfócitos, seja por efeito primeiro sobre células do microambiente tímico, como, por exemplo, as células epiteliais (TEC).



Um cenário global daquilo que podemos conceber no chamado controle neuroendócrino sobre o timo pode ser apreendido a partir dos estudos versando sobre os efeitos do GH sobre este órgão, e que resumimos a seguir.

Efeitos do hormônio do crescimento sobre o timo

Conforme mencionado anteriormente, um dos efeitos do GH é sua capacidade de aumentar a proliferação de timócitos. Experimentos realizados *in vitro* mostraram que este é um efeito co-mitogênico, potencializando, por exemplo, a proliferação induzida quando ocorre estimulação do complexo CD3-TCR nos timócitos [20]. Mais importante, no entanto, é o fato que *in vivo*, a injeção intratímica de GH, assim como administração endovenosa deste hormônio levaram ao aumento da celularidade do órgão, em camundongos e humanos, respectivamente [21,22]. Ainda neste sentido, vimos que em camundongos transgênicos para GH, o número de timócitos é maior quando comparado aos valores de animais selvagens da mesma idade [23]. Ao contrário, em camundongos nocautes para o receptor de GH, há uma diminuição drástica do tamanho e celularidade do timo [24]. Assim tomados em conjuntos estes dados mostram claramente que o GH é relevante na manutenção do *pool* intratímico de linfócitos, e que flutuações nos níveis deste hormônio ou na capacidade das células responderem ao estímulo por ele induzido, levam a perturbações na homeostasia do órgão. No entanto, podemos também lançar mão deste conceito para intervenções terapêuticas. Por exemplo, em pacientes portadores de SIDA, há uma intensa atrofia tímica com diminuição no número de linfócitos que saem do órgão [22,25]. Quando estes pacientes foram tratados por um ano com GH, observou-se um aumento significativo do timo, e aumento no número de células CD4 circulantes [22].

Além deste efeito direto sobre a proliferação de linfócitos no timo, o GH modifica vários parâmetros da biologia do epitélio tímico, o que poderá refletir-se sobre os próprios linfócitos. Por exemplo, a produção do hormônio tímico timulina é aumentada em cultivos de TEC tratados com GH. Além disso, ratos tratados com este hormônio, ou camundongos transgênicos para GH, apresentam níveis aumentados de timulina circulante, o que também ocorre em pacientes portadores de acromegalia [26,27]. Por outro lado, animais nocautes para o receptor de GH mostram diminuição nos níveis sérios deste hormônio tímico [24].

Além da timulina, outros produtos de secreção do epitélio tímico são modulados positivamente pelo GH. Camundongos transgênicos para GH apresentam aumento na produção da quimiocina CXCL12, e ainda de laminina. Como comentamos acima, ambas estas moléculas estão envolvidas na migração de timócitos [23].

De fato, experimentos anteriores já apontavam para o fato de que GH pudesse ter efeito sobre a entrada de precursores de célula T no timo, já que a GH recombinante foi capaz de aumentar a entrada de células T humanas em timo de camundongo SCID, efeito que pode ser abolido com anticorpos anti- β 1 integrinas [28]. Além disso, vimos que o tráfego de linfócitos nos complexos linfoepiteliais do tipo nurse é aumentado pelo GH [18]. Experimentos realizados com camundongos transgênicos para GH mostraram ainda que a resposta migratória de linfócitos é aumentada, após estímulo combinado ou isolado de laminina e CXCL12, e que há um aumento na exportação de linfócitos T CD4⁺, particularmente no que diz respeito ao seu endereçamento para linfonodos [23]. É interessante notar que resultados semelhantes foram obtidos em camundongos normais que sofreram injeção intratímica de GH [21]. Além disso, em termos conceituais, é relevante frisar que o controle neuroendócrino sobre a migração de timócitos não se restringe ao GH: vimos que o tratamento *in vivo* com o hormônio tireoidiano T3 produz resultados semelhantes [29,30].

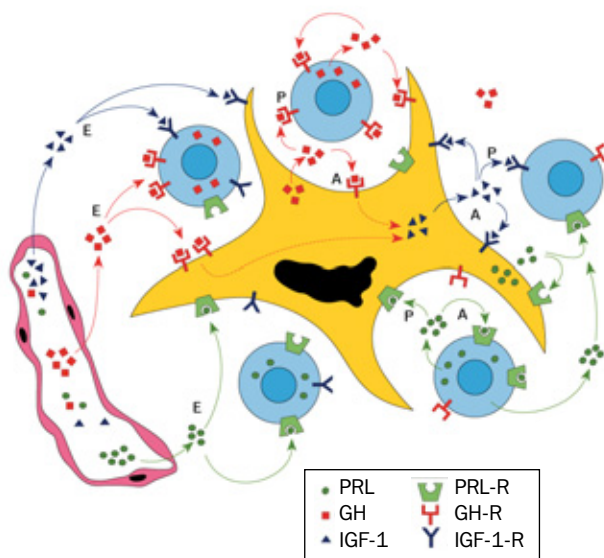
Circuito intratímico mediado por GH e IGF-1

Apesar de todo o conhecimento resumido acima sobre os efeitos de GH no timo, ainda permanece a ser esclarecido, se os efeitos vistos são apenas endócrinos ou se a produção intratímica de GH é relevante para a fisiologia do órgão. Ainda assim, vale à pena comentar que tanto o epitélio tímico quanto os timócitos são capazes de produzir GH de forma constitutiva, além de expressarem, também constitutivamente, o receptor de GH [31]. Portanto, podemos perfeitamente conceber um circuito intratímico envolvendo GH e ativação de seu receptor.

Por outro lado, em vários sistemas biológicos, os efeitos de GH são mediados pela produção do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1 (IGF-1). Também no timo, o IGF-1 é expresso, tanto por timócitos quanto por células epiteliais. Além disso, experimentos *in vitro* mostraram que o tratamento de células epiteliais tímicas por GH aumenta a produção de IGF-1 por estas células, assim como os níveis de expressão do receptor de IGF-1 [32]. Finalmente, mostramos que os efeitos de GH sobre a produção de timulina e aumento de adesão TEC-timócitos podem ser neutralizados se tratarmos as TEC com anticorpos monoclonais anti-IGF-1 ou anti-receptor de IGF-1 [18,27].

Por conseguinte, podemos conceber que os efeitos de GH no timo possam ocorrer via endócrina, parácrina ou mesmo autócrina, e que estes efeitos ocorrem por estimulação de IGF-1. Esta circuitaria está ilustrada na Figura 4.

Figura 4 - Circuitos intratímicos de natureza endócrina, parácrina e autócrina, envolvendo GH e IGF-1. Segundo este conceito, o GH, seja ele de origem intra- ou extra-tímica, estimula a produção de IGF-1 por linfócitos ou células epiteliais tímicas. O IGF-1 por sua vez, atua sobre seu receptor específico modulando funções em ambos os tipos celulares.



Conclusão

Os conceitos e resultados apresentados acima são uma parte ínfima do universo biológico das interações imunoneuroendócrinas. Vimos que tais interações ocorrem cotidianamente, e que podem existir entre sistemas e no interior de um mesmo sistema, pelo uso de uma mesma *sintaxe molecular*. Não abordamos com profundidade o fato de que desvios patológicos destas interações podem estar associados à patogênese e/ou fisiopatologia de diversas doenças. Só para dar um último exemplo, identificamos em modelo murino de doença de Chagas, um desequilíbrio no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, com aumento de glicocorticóides circulantes e diminuição na produção de GH e prolactina [33,34]. Nesse sentido, dados bastante recentes apontam que GH possa ser utilizado como estratégia terapêutica complementar no tratamento da doença de Chagas [35].

Em conclusão, podemos dizer que dispomos hoje de um conhecimento sólido sobre o significado fisiológico de interações imunoneuroendócrinas, e já começamos a descortinar alguns aspectos sobre tais interações em condições patológicas, incluindo a possibilidade de intervenções terapêuticas de base imunoneuroendócrina. Em estudos futuros, certamente este horizonte será ampliado o que nos permitirá uma melhor avaliação holística de nosso organismo.

Agradecimentos

Os dados apresentados decorrem de financiamento pela Fiocruz, CNPq, Faperj e Capes (Brasil), e no contexto do Laboratório Internacional Associado Fiocruz-CNRS de Imunologia e Imunopatologia (França-Brasil).

Referências

1. Blalock ED. The syntax of immune-neuroendocrine communication. *Immunol Today* 1994;15:504-11.
2. Savino W, Dardenne M. Immunoneuroendocrine interactions. *Immunol Today* 1995;17:318-22.
3. Savino W. Neuroimmunomodulatory interactions in the genesis and outcome of autoimmune disease. *Neuroimmunomodulation* 2008;15:5-6.
4. Perez AR, Bottasso O, Savino W. The impact of infectious diseases upon neuroendocrine circuits. *Neuroimmunomodulation* 2009;16:96-105.
5. Ciofani M, Zuniga-Pflucker JC. The thymus as an inductive site for T lymphopoiesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007;23:463-93.
6. Petrie HT, Zuniga-Pflucker JC. Zoned out: functional mapping of stromal signaling microenvironments in the thymus. *Annu Rev Immunol* 2007;25:649-79.
7. Savino W, Villa Verde DMS, Lannes Vieira J. Extracellular matrix proteins in intrathymic T cell migration and differentiation? *Immunol Today* 1993;14:158-61.
8. Savino W, Mendes da Cruz DA, Silva JS, Dardenne M, Cotta de Almeida V. Intrathymic T cell migration: a combinatorial interplay of extracellular matrix and chemokines? *Trends Immunol* 2002;23:305-13.
9. Savino W, Mendes-da-Cruz DA, Smaniotto S, Silva-Monteiro E, Villa-Verde DMS. Control of thymocyte migration: an interplay of distinct cellular interactions. *J Leukocyte Biol* 2004;75:951-61.
10. Lepelletier Y, Smaniotto S, Hadj-Slimane R, Villa-Verde DMS, Nogueira AC, Dardenne M, Hermine H & Savino W. Control of human thymocyte migration by Neuropilin-1/Semaphorin-3A mediated interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:45-5550.
11. Mendes-da-Cruz DA, Lepelletier Y, Brignier AC, Smaniotto S, Renand A, Milpied P, Dardenne M, Hermine O, Savino W. Neuropilins, semaphorins, and their role in thymocyte development. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1153:20-8.
12. Savino W. Neuroendocrine control of T cell development in mammals: role of growth hormone

- in modulating thymocyte migration. *Exp Physiol* 2007;92:813-17.
13. Mendes-da-Cruz DA, Smaniotto S, Keller AC, Dardenne M, Savino W. Multivectorial abnormal cell migration in the NOD mouse thymus. *J Immunol* 2008;180:4639-47.
 14. Savino W. Intrathymic T cell migration is a multivectorial process under a complex neuroendocrine control. *Neuroimmunomodulation* 2010;17:142-5 Villa Verde DMS, Mello-Coelho V, Lagrota-Cândido JM, Savino W. The thymic nurse cell complex: an in vitro model for extracellular matrix-mediated intrathymic T cell migration. *Braz J Med Biol Res* 1995;28:907-12.
 15. Savino W, Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocrine Rev* 2000;21:412-43.
 16. Savino W, Arzt E, Dardenne M. Immunoneuroendocrine connectivity: the paradigm of the thymus-hypothalamus/pituitary axis. *Neuroimmunomodulation* 1999;6:126-36.
 17. Mello Coelho V, Villa Verde DMS, Dardenne M, Savino W. Pituitary hormones modulate cell-cell interactions between thymocyte and thymic epithelial cells. *J Neuroimmunol* 1997;76:39-49.
 18. Ribeiro-Carvalho MM, Farias-de-Oliveira DA, Villa-Verde DMS, Savino W. Triiodothyronine modulates extracellular matrix-mediated interactions between thymocytes and thymic microenvironmental cells. *Neuroimmunomodulation* 2002;75:139-50.
 19. Postel-Vinay MC, Mello-Coelho V, Gagnerault MC, Dardenne M. Growth hormone stimulates the proliferation of activated mouse T lymphocytes. *Endocrinology* 1997;138:1816-20.
 20. Smaniotto S, Ribeiro-Carvalho MM, Dardenne M, Savino W, Mello-Coelho V. Growth hormone stimulates the selective trafficking of thymic CD4+CD8- emigrants to peripheral lymphoid organs. *Neuroimmunomodulation* 2004;11:299-306.
 21. Napolitano LA, Schmidt D, Gotway MB, Ameli N, Filbert EL, Ng MM, Clor JL, Epling L, Sinclair E, Baum PD, Li K, Killian ML, Bacchetti P, McCune JM. Growth hormone enhances thymic function in HIV-1-infected adults. *J Clin Invest* 2008;118:1085-98.
 22. Smaniotto S, Mello-Coelho V, Villa-Verde DMS, Pléau JM, Postel-Vinay MC, Dardenne M, Savino W. Growth hormone modulates thymocyte development in vivo through a combined action of laminin and CXCL12. *Endocrinology* 2005;146:3005-17.
 23. Savino W, Smaniotto S, Binart N, Postel-Vinay MC, Dardenne W. In vivo effects of growth hormone upon the thymus. *Ann New York Acad Sci* 2003;992:79-185.
 24. Savino W, Dardenne M, Marche C, Trophylme D, Dupui JM, Pekovic D, Bach JF. Thymic epithelium in AIDS: an immunohistologic study. *Am J Pathol* 1986;122:302-7.
 25. Goya RG, Gagnerault MC, Leite de Moraes MC, Savino W, Dardenne M. In vivo effects of growth hormone on thymus function in aging mice. *Brain Behav Immun* 1992;6:341-54.
 26. Timsit J, Savino W, Safieh B, Chanson P, Gagnerault MC, Bach JF, Dardenne M. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in thymic hormonal function in man. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992;75:183-8.
 27. Taub DD, Tsarfaty G, Lloyd AR, Durum SK, Longo DL, Murphy WJ. Growth hormone promotes human T cell adhesion and migration to both human and murine matrix proteins in vitro and directly promotes xenogeneic engraftment. *J Clin Invest* 1994;94:293-300.
 28. Ribeiro-Carvalho MM, Lima-Quaresma KRF, Mouço T, Carvalho VF, Mello-Coelho V, Savino W. Triiodothyronine modulates thymocyte migration. *Scand J Immunol* 2007;66:17-25.
 29. Ribeiro-Carvalho MM, Smaniotto S, Neves-dos-Santos S, Mouço T, Savino W, Mello-Coelho V, Triiodothyronine modulates differential homing of recent thymic emigrants to peripheral lymphoid organs. *Scand J Immunol* 2007;66:8-16.
 30. Mello-Coelho V, Gagnerault MC, Souberbielle JC, Strasburger CJ, Savino W, Dardenne M, Postel-Vinay MC. Growth hormone and its receptor are expressed in human thymic cells. *Endocrinology* 1998;139:3837-42.
 31. Mello-Coelho V, Villa-Verde DMS, Farias-de-Oliveira DA, Brito JM, Dardenne M, Savino W. Functional IGF-1-IGF-1 receptor-mediated circuit in human and murine thymic epithelial cells. *Neuroendocrinology* 2002;75:139-50.
 32. Corrêa-de-Santana E, Paez-Pereda M, Theodoropoulou M, Gruebler Y, Nihei OK, Bozza M, Arzt E, Villa-Verde DMS, Renner U, Stalla J, Stalla GK, Savino W. Hypothalamus-pituitary-adrenal axis during *Trypanosoma cruzi* acute infection in mice. *J Neuroimmunol* 2006;173:12-22.
 33. Corrêa-de-Santana E, Paez-Pereda M, Theodoropoulou M, Renner U, Stalla J, Stalla GK, Savino W. Modulation of growth hormone and prolactin secretion in *Trypanosoma cruzi*-infected mammosomatotrophic cells. *Neuroimmunomodulation* 2009;16:208-12.
 34. Frare EO, Santello FH, Caetano LC, Caldeira JC, Toldo MP, Prado JC Jr. Growth hormones therapy in immune response against *Trypanosoma cruzi*. *Res Vet Sci* 2009 Oct 31. [Epub ahead of print]