

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 contatado, 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)

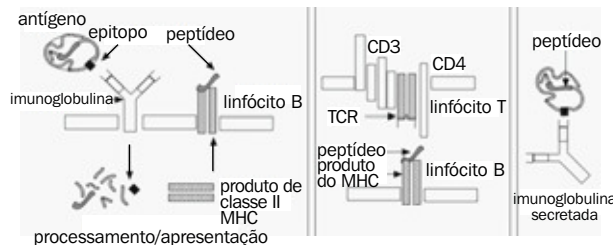
Endereço para correspondência:

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-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 consequência 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 pleonismo, 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 a estes alérgenos.

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 saudáveis. 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].

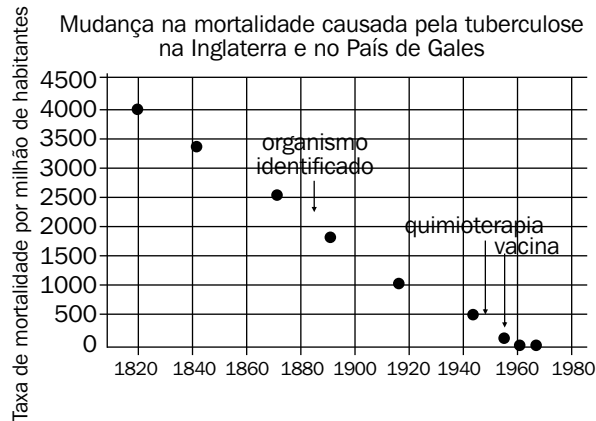
Consequências práticas

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

virose 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 exibe 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 adoece 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 oligoclonal 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-Ad 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* 2009 ONE 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-blots. 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, Staderkerl 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, Maverakis 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.