

Parasitas cujo DNA aparece como pontos azuis infestam células e, em estágio posterior (vermelho), se preparam para sair da hospedeira

Uma forma de conter parasitas

Mecanismo recém-descoberto destrói agentes causadores da doença de Chagas

Quando o sistema de defesa humano é avisado de uma infecção por parasitas, como os causadores da doença de Chagas, da leishmaniose e da toxoplasmose, uma operação altamente eficiente impede que os microrganismos se disseminem dentro das células e se espalhem pelo organismo. O mecanismo de ataque a esses parasitas intracelulares acaba de ser desvendado, de acordo com artigo publicado em janeiro no site da revista *Nature Medicine*. “Esse conhecimento pode nos ajudar a pensar em vacinas mais eficientes na indução dos linfócitos do tipo TCD8, um problema em imunologia”, diz o imunologista Ricardo Gazzinelli, do Centro de Pesquisas René Rachou, braço da Fundação Oswaldo Cruz em Minas Gerais, e coordenador do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Vacinas (INCTV).

É sabido que os linfócitos citotóxicos detectam e combatem os patógenos que residem nas células, enquanto os anticorpos vigiam o ambiente fora delas. Mas até agora não se sabia bem como os linfócitos TCD8 atuavam no combate a protozoários e bactérias. “É importante destrói a célula infectada da qual eles dependem para se proliferar”. Ocorre que as bactérias e os parasitas são organismos autônomos e, se liberados no meio extracelular, uma vez morta a célula hospedeira, estão aptos a infectar outras células. Especialista nas relações entre o sistema imunológico humano e os parasitas causadores de doenças (ver Pesquisa FAPESP n^{os} 160, 164 e 221), o pesquisador mineiro passou o ano acadêmico de 2013/2014 nos Estados Unidos, graças a uma bolsa de professor visitante na cátedra Capes/Centro David Rocke-

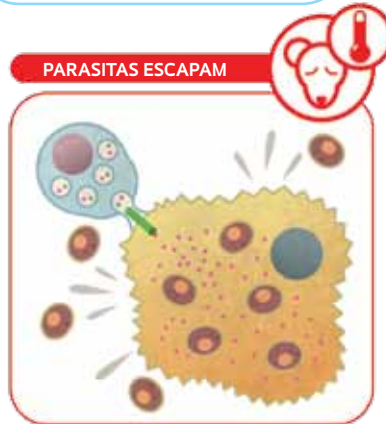
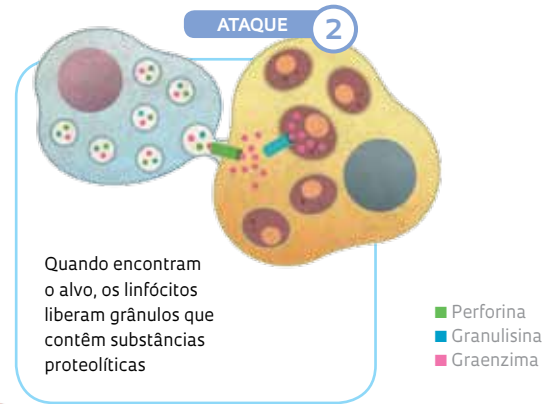
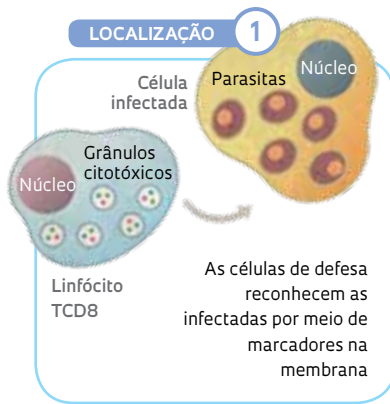
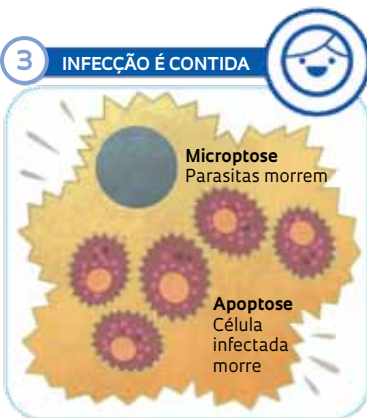
feller para Estudos Latino-americanos da Universidade Harvard, para a qual foi selecionado. Logo no início, depois de apresentar seu trabalho numa palestra, foi procurado pela física e médica Judy Lieberman, cujo laboratório investiga os mecanismos moleculares pelos quais os linfócitos citotóxicos destroem células infectadas com vírus e bactérias. “Será que funciona da mesma maneira para protozoários?”, ela perguntou.

Começou aí a parceria dinâmica que também envolveu o médico Farokh Dotiwala, do laboratório de Judy, e o biólogo Rafael Polidoro, à época estudante de doutorado que acompanhou Gazzinelli a Harvard. O primeiro resultado foi a descrição do mecanismo destruidor de parasitas intracelulares: a microptose. O termo é inspirado na apoptose, a morte celular, por serem aparentemente muito semelhantes: formam-se bolhas

Estratégia letal

Mecanismo identificado em células humanas pode explicar infecções assintomáticas

FONTE RICARDO GAZZINELLI



Em seres humanos, o sistema leva à morte dos parasitas antes da destruição da célula hospedeira; linfócitos de roedores, sem granulisina, não causam microptose

na membrana celular, as mitocôndrias ficam dilatadas, o DNA é danificado e a cromatina, que contém o material genético, aparece condensada. O que diferencia as duas mortes são os atores. No caso da apoptose, os linfócitos reconhecem as células infectadas por meio de marcadores apresentados pelo sistema de defesa e liberam minúsculas bolsas, ou grânulos, contendo uma proteína que faz furos na membrana, a perforina, e uma enzima chamada graenzima. Esta entra na célula e degrada proteínas relevantes para a homeostase, levando à morte celular.

Gazzinelli, Judy e colaboradores mostraram que os linfócitos TCD8 humanos (mas não os de roedores) liberam também uma substância antimicrobiana chamada granulisina, que entra na célula infectada e é atraída por membranas com baixo teor de colesterol: a dos parasitas. A granulisina perfura a membrana dos parasitas e bactérias invasores e permite a entrada da graenzima, que gera compostos muito reativos à base de oxigênio (os radicais livres) e desativa os mecanismos de defesa do microrganismo contra o estresse oxidativo. São esses processos

oxidativos que, na maioria das vezes, eliminam o parasita. Quando se examina esse ataque ao microscópio, a aparência é muito semelhante à da apoptose. Mas distinções químicas inerentes ao organismo – a apoptose depende de enzimas chamadas caspases, que não existem nos protozoários – e os atores distintos (granulisina e microrganismos) justificaram a criação do novo termo, microptose.

EFICIÊNCIA

“Uma coisa surpreendente é que a morte dos parasitas é mais rápida que a da célula hospedeira, embora seja desencadeada depois”, comenta Gazzinelli. Isso impede que os protozoários escapem e invadam outras células, uma situação que precisaria ser combatida pelo sistema imunológico por meio de macrófagos patrulhando o meio entre as células e devorando os invasores. Era o que, até agora, se imaginava que acontecia. “Isso explica por que os TCD8 são tão eficientes no combate às infecções por protozoários intracelulares”, conclui o pesquisador. Pode ser por isso que muitos casos de doença de Chagas, por exemplo, são assintomáticos.

Também é importante a descoberta de que a granulisina não existe em todas as espécies. “A utilidade de fazer estudos de certas doenças usando camundongos tem que ser revista”, alerta Gazzinelli, embora não os descarte como cobaias. Seu grupo reiterou a descoberta produzindo roedores transgênicos capazes de expressar a proteína, e eles se mostraram muito mais resistentes a infecções por protozoários.

Frutífera, a parceria entre os grupos de Minas Gerais e de Harvard deve continuar nos próximos anos. “Pretendemos dissecar o papel dos linfócitos TCD8 no combate a essas infecções”, explica Gazzinelli. “Por que nem sempre funciona? Por que existem pacientes que desenvolvem a doença de Chagas?” Nesse contexto, Rafael Polidoro defendeu sua tese em 2014 e no ano seguinte se mudou para o laboratório de Judy Lieberman, para um estágio de pós-doutorado.

No contexto das vacinas, o pesquisador mineiro também pretende rever os testes de uma vacina terapêutica contra a doença de Chagas proposta em 2015 a partir de um estudo publicado na *PLoS Pathogens*, liderado pelos imunologistas Joseli Lannes-Vieira, da Fundação Oswaldo Cruz, e Maurício Rodrigues, professor da Universidade Federal de São Paulo falecido no ano passado que compartilhava a coordenação do INCTV. “Queremos usar a vacina nos camundongos transgênicos expressando granulisina para ver se é mais eficiente”, conta Gazzinelli. ■ **Maria Guimarães**

Artigos científicos

- DOTI WALA, F. *et al.* Killer lymphocytes use granulysin, perforin and granzymes to kill intracellular parasites. *Nature Medicine*. on-line. 11 jan. 2016.
- PEREIRA, I. R. *et al.* A human type 5 adenovirus-based *Trypanosoma cruzi* therapeutic vaccine re-programs immune response and reverses chronic cardiomyopathy. *PLoS Pathogens*. v. 11, n. 1, e1004594. 24 jan. 2015.