

20 DE MARÇO DE 2023 POR MICROBIOLOGANDO

Pandemia: onde não há vacinas, há vermes!

Vithória Luz da Silva Gomes – acadêmica do 2º ano de Medicina – UFRGS

Carlos Eugênio Silva – Prof. Dr. DEMIP – UFRGS

A pandemia do Covid-19 alterou completamente a visão global sobre imunologia e a necessidade de políticas públicas eficientes no manejo da saúde. Dentre os desafios enfrentados nessa nova lógica, houve a necessidade de lutar contra o negacionismo e, para além disso, uma luta muito maior contra a incerteza. Um dos fatores que mais corroborou para essa crescente de dúvidas foi a distribuição desigual do vírus no mundo; países menos estruturados e que, em tese, seriam mais atingidos pela pandemia, apresentaram taxas menores de casos.

Tem sido mostrado que infecções por “vermes vampiros” (Ancilostomídeos) entre outros, mesmo considerando seus inegáveis prejuízos à saúde, podem também promover uma resposta mais efetiva contra outros patógenos como vírus¹. Na busca por uma explicação para o que estaria por trás disso, Kerry L. Hilligan e colaboradores² fizeram um achado muito interessante: desafiaram camundongos com ancilostomídeos (vermes de ciclo pulmonar), antes de infectá-los com o vírus SARS CoV2 (SCV2). Isso gerou um acúmulo de macrófagos alternativamente ativados, que, por sua vez, acionaram tipos diferentes de células de defesa, os chamados linfócitos T. Naturalmente o vírus induziria uma resposta inflamatória que aumentaria a participação de uma subpopulação de linfócitos células T chamada de células Th1, que são responsáveis por produzir interferon-gama, uma citocina muito importante para a sinalização do processo de inflamação em infecções intracelulares. Na infecção pelos ancilostomídeos o padrão de resposta imune pulmonar passa a apresentar uma maior participação das células Th2, que favorecem, uma resposta diferente: a produção de anticorpos. É esse ambiente que o SCV2 encontra quando infecta o camundongo previamente

Mas quais foram os testes realizados para se chegar nessas conclusões?

A primeira coisa a ser verificada foi se havia diferença na sobrevivência à infecção por SCV2 entre camundongos infectados previamente com o nematódeo de ciclo pulmonar de roedores *Nippostrongylus brasiliensis* (Grupo Teste) e camundongos sem verminose prévia (Grupo Controle). Para aferir isso, injetaram 500 larvas do nematódeo nos animais do Grupo Teste. Depois de 28 dias, os contaminaram com uma dose letal de SCV2 (103 Unidades Infectantes) pela via intranasal. O Grupo Controle foi inoculado

com SCV2 da mesma maneira. Comparando os resultados entre os dois grupos, foi demonstrado que a carga viral do Grupo Teste foi menor e a taxa de sobrevivência (60%) foi superior à demonstrada pelo Grupo Controle (20%).

Para verificar quanto tempo a resposta das células Th2 se mantinha após o fim da infecção parasitária e poderia, portanto, realmente estar influenciando o desempenho imunológico contra o vírus, foi realizada a técnica single cell RNA sequencing (scRNA-seq). Apesar do nome difícil, o princípio da técnica é simples: identificar células e locus do gene nos tecidos através de uma sequência de DNA (código de barras)³ que, ao ser identificada, agrupa as células analisadas (clusters), para que se possa fazer uma comparação efetiva.

Assim, os camundongos do Grupo Teste tinham mais linfócitos, células dendríticas e macrófagos alternativamente ativados nos pulmões e uma maior expressão de citocinas tipo 2⁴, do que os camundongos do Grupo Controle. Esses resultados demonstram que há uma ativação Th2 duradoura nos pulmões que passaram por infecção por nematódeos, a qual torna o pulmão propício para uma resposta imune com elevada produção de anticorpos (humoral) e desfavorece uma resposta inflamatória mais intensa.

A segunda pergunta a ser respondida, envolvia saber qual a necessidade da presença de células T CD8+ para uma maior destruição viral. A princípio, descobriu-se que o índice de Sars-Cov-2 (SCV2) estava reduzido no dia 7 após infecção, com maior redução naqueles camundongos que foram expostos ao parasito, mas que essa mesma diferença de redução na carga do vírus não se apresentou no terceiro dia depois do contato viral, o que sugere uma ação mais marcante do sistema imune adaptativo para a eliminação do patógeno.

A partir daí, realizou-se uma análise citométrica de fluxo que revelou que, comparativamente, a principal diferença entre os pulmões dos dois grupos de camundongos foi que o Grupo Teste apresentou uma taxa significativamente maior de células T CD8+. Então, para confirmar a importância dessas células na resposta imune mais bem exibida pelo grupo controle, experimentaram inserir anticorpo anti-CD8 α nos dias 5, 3 e 1 antes de desafiar os ratos com SCV2. O uso desse anticorpo foi capaz de elevar a quantidade de partículas infecciosas entre os Grupos Teste e Controle. Logo, comprovou-se a necessidade de células T CD8+ para uma eliminação viral efetiva.

Também foi preciso saber se o ambiente modificado pela infecção anterior por vermes havia alterado de forma marcante o ambiente pulmonar. Foi realizado um scRNA-seq das células pulmonares e um Ensaio Multiplex para analisar as citocinas produzidas. O Grupo Teste demonstrou uma alta expressão de Citocinas Tipo 2 (IL4, IL5, IL13), bem como da presença de granulócitos, linfócitos da imunidade inata e linfócitos, aos 28 dias após a infecção larval e imediatamente antes da infecção viral. Também houve uma polarização evidente na formação de células Th2 e células T Reguladoras (Treg),

capazes de controlar a resposta imune, mantendo a homeostase e a auto tolerância. Se somarmos a isso uma presença maior de Células Apresentadoras de Antígeno (APCs) tipo 2, fica demonstrado que, 28 dias após a infecção, o pulmão dos camundongos mantém um fenótipo celular e mudanças transcricionais compatíveis com resposta Th2 que persiste, mesmo após o fim da infecção parasitária.

Para fechar o entendimento do comportamento da resposta no pulmão de camundongos, macrófagos de camundongos expostos a *N. brasiliensis* exibem, 7 dias após a infecção por SCV2, genes de processamento e apresentação de antígenos regulados de modo a contribuir para uma resposta aumentada de células T CD8+ necessária para eliminação viral efetiva, ao mesmo tempo em que ocorreu um módulo pró-inflamatório reduzido associado à gravidade da COVID-19. Mas onde estariam os macrófagos com maior notoriedade nesse papel de proteção?

Para responder esse questionamento, os cientistas separaram três grupos de camundongos previamente infectados por *N. brasiliensis*: um, no qual os macrófagos alveolares seriam reduzidos quimicamente, outro grupo, em que os macrófagos teciduais seriam o alvo da redução química e o último, tratados com lipossomos e que não afetava as populações de macrófagos (controle do tratamento). O resultado foi que os camundongos com macrófagos alveolares reduzidos apresentavam respostas T CD8+ significativamente menos efetivas do que o grupo onde houve redução de macrófagos intersticiais e do grupo controle do tratamento. Dessa forma, os macrófagos pulmonares são ativados durante a infecção por nematódeos com migração pulmonar, o que é importante para intensificar as respostas das células T CD8+ e a limpeza viral. Este papel pode ser crucial em infecções como aquela causada por SCV2, onde os macrófagos alveolares ativados podem ser mais importantes do que os macrófagos intersticiais.

Voltando para aquela pergunta do começo: como esses resultados ajudam a explicar o padrão de distribuição do Covid-19 pelo mundo?

Regiões mais pobres ao redor do globo, embora com recursos reduzidos, geralmente são endêmicas para diversos parasitos, inclusive vermes de ciclo pulmonar. Por isso, uma parcela expressiva dos habitantes já foi infectada previamente, alterando a construção pulmonar para uma resposta Th2 e diminuindo, portanto, a severidade posterior do vírus.

Mas, afinal, qual a importância disso?

O que faz desse trabalho tão relevante é que entender os mecanismos de proteção contra o Covid-19 é essencial para a elaboração de meios de prevenção e tratamentos mais efetivos. Tendo isso em vista, a incerteza que tantas dúvidas sobre o vírus trouxeram, por mais apavorante que fosse, é um processo necessário no desenvolvimento de medidas públicas porque, no fim do dia, são as dúvidas, a incerteza, o impulso por uma resposta assertiva que movem a ciência.

Fontes:

- 1- Desai P. et al. 2021. Helminth–virus interactions: determinants of coinfection outcomes. *Gut Microbes* 13: 1961202.
- 2- Hilligan, K. L. et al., 2022. Helminth exposure protects against murine SARS-CoV-2 infection through macrophage dependent T cell activation. *bioRxiv*. 2022 Nov 10;2022.11.09.515832.doi: 10.1101/2022.11.09.515832. Preprint.
- 3- Código-de-barras (bioinformática).
- 4- Lucey, D.R. et al., 1996. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 9, No. 4. <https://doi.org/10.1128/CMR.9.4.532>.

📁 **PARASITOLOGIA**

PARASITOLOGIA, VACINAS