



PROVAS ACADÉMICAS
NA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA
INSTITUTO DE FORMAÇÃO AVANÇADA

Doutoramento:

Ciências Biomédicas

Nome do Aluno:

Ana Rita Serra da Costa França

Tema da Tese:

Host-Parasite Interactions Mediated by Toll-Like Receptors in Malaria Liver Infection

Área:

Ciências Biomédicas

Especialidade:

Ciências Biopatológicas

Data da Defesa:

14/01/2011

Classificação:

Aprovada por Unanimidade com Distinção.

Júri:

Presidiu o Vice Presidente do Conselho Científico da FMUL, Professor Doutor José Melo Cristino e estiveram presentes os vogais Doutores: Julius Clemence Hafalla, da University of London, Reino Unido, Rui Appelberg Gaio Lima, da Universidade do Porto, António Manuel Pinto do Amaral Coutinho, João Pedro Monteiro e Louro Machado de Simas, Bruno Miguel de Carvalho Silva Santos e Maria Manuel Dias da Mota, todos da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.



PROVAS ACADÉMICAS
NA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA
INSTITUTO DE FORMAÇÃO AVANÇADA

Resumo

A malária constitui uma das doenças infecciosas mais devastadoras, afectando actualmente 5 a 10% da população mundial. O audacioso plano de erradicação da malária é um objectivo em curso que requer o desenvolvimento de novas estratégias de combate à infecção e que é limitado pelo conhecimento insuficiente da biologia do Plasmodium, o parasita que provoca a malária, e das complexas interacções que mantém com o hospedeiro.

O Plasmodium é um organismo protozoário com um ciclo de vida complexo que envolve um mosquito vector do género Anopheles e um hospedeiro vertebrado. A fase hepática da malária é a primeira etapa do ciclo de vida do parasita no hospedeiro mamífero, durante a qual não é revelado nenhum sintoma da doença. É, no entanto, nos hepatócitos que o Plasmodium se desenvolve e replica originando milhares de novos parasitas que são depois libertados na corrente sanguínea. A passagem do parasita para o sangue dará lugar à fase sintomática da doença. Assim, apesar de ser clinicamente silenciosa, a infecção do fígado pelo Plasmodium é determinante no estabelecimento de qualquer infecção de malária. A fase hepática da malária constitui um excelente alvo para a criação de uma vacina ou de novas abordagens terapêuticas uma vez que conferirá protecção completa ao hospedeiro humano, impedindo a manifestação clínica de sintomas e, mais importante, a transmissão da doença para outros indivíduos. A compreensão dos mecanismos fundamentais de controlo da infecção no fígado irá certamente contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de combate à infecção. Considerando que as terapias existentes actualmente tenderão a tornar-se insuficientes ou obsoletas, devido em grande parte ao desenvolvimento de resistências pelo parasita, será crucial produzir vacinas eficazes contra a infecção por Plasmodium.

O principal desafio para qualquer hospedeiro é o de detectar o parasita e de induzir uma resposta defensiva rápida. Os Toll e os Toll-like receptors (TLRs) constituem uma família de receptores do sistema imune inato, que desempenham esse papel essencial de reconhecimento e defesa contra agentes infecciosos. Estão presentes tanto em organismos invertebrados como vertebrados, reflectindo uma notável conservação de função em termos evolutivos. A análise funcional dos TLRs dos mamíferos revelou que estes reconhecem moléculas ou famílias moleculares específicas conservadas evolutivamente que se encontram presentes em microrganismos. Estas moléculas não são encontradas em mamíferos, excepto em condições de stress celular ou inflamação, tornando-as alvos importantes no desenvolvimento de novas estratégias de intervenção imunológica. Os diferentes membros desta família de receptores reconhecem lípidos, proteínas, lipoproteínas, carboidratos, péptidos, lipopeptídeos e estruturas de ácidos nucleicos que são na generalidade expressas por grupos específicos de organismos patogénicos. Quando reconhecidas pelos TLRs, induzem a activação da imunidade inata, assegurando a geração de uma resposta imune adaptativa contra os parasitas.

Actualmente, embora seja consensual a noção de que os TLRs estão envolvidos na detecção de parasitas, e tendo sido previamente descrito que os hepatócitos expressam os TLRs 1 a 9, a nossa compreensão acerca da sua função na resposta imune inata contra a infecção do fígado pelo Plasmodium ainda é limitada.

O trabalho apresentado nesta tese focou-se essencialmente na determinação do papel de alguns destes receptores e de uma molécula adaptadora envolvida na via de sinalização dos mesmos, MyD88, durante a fase hepática da malária.

Enquanto que a infecção de ratinhos mutantes para TLR2 por esporozoítos de *P. berghei* – a forma invasiva transmitida por mosquitos Anopheles e que infecta hepatócitos de roedores – é semelhante à dos ratinhos controlo wild-type, a infecção de ratinhos que não expressam os receptores TLR4 e TLR9 apresenta diferenças significativas importantes relativamente aos controlos. Ratinhos com deficiências na expressão de TLR4 e TLR9 revelam uma maior susceptibilidade e resistência, respectivamente, à infecção do fígado pelo parasita. A expressão reduzida ou ausência de TLR4 reduz a intensidade da resposta imune, permitindo uma maior proliferação do parasita no fígado. Pelo contrário, a ausência de expressão de TLR9 parece ser prejudicial para o parasita, uma vez que os níveis de infecção pelo parasita são reduzidos em mutantes para TLR9. Estas observações sugerem que estes dois receptores desempenham papéis importantes na infecção pela forma hepática de *P. berghei*. De facto, o tratamento

com LPS e CpG, ligandos de TLR4 e TLR9 respectivamente, em simultâneo com a infecção, provoca uma diminuição nos níveis de infecção no fígado. O receptor TLR9 poderá ser importante na infecção e desenvolvimento do parasita durante a primeira fase do seu ciclo de vida no hospedeiro. Adicionalmente, a molécula recrutada por todos os TLRs na sua via de sinalização, MyD88, é aqui descrita como mediadora da imunidade protectora induzida por esporozoítos de *P. berghei* atenuados por irradiação, a única forma até agora descrita de imunização efectiva contra a forma hepática do parasita. Embora a molécula adaptadora MyD88 seja relevante no processo de imunização com esporozoítos irradiados, os ratinhos que não expressam MyD88, quando injectados

com parasitas viáveis, revelam níveis de infecção muito semelhantes aos ratinhos controlo wild-type.

Os resultados apresentados nesta tese sugerem que os TLRs são mediadores de interacções entre o parasita e o hospedeiro durante a fase hepática da malária e poderão ainda estar envolvidos no desenvolvimento de imunidade conferida pela imunização com esporozoítos irradiados. A activação destes receptores na fase inicial da infecção poderá ainda ditar o grau de desenvolvimento da patologia em etapas mais tardias da doença, e consequentemente, determinar o aparecimento ou a ausência de malária cerebral, a manifestação mais letal desta doença