



ConScientiae Saúde

ISSN: 1677-1028

conscientiaesaude@uninove.br

Universidade Nove de Julho

Brasil

Marengo, Eliana Blini; Sant'Anna, Osvaldo Augusto  
Hsp60 e imunidades: como diante de um espelho partido  
ConScientiae Saúde, vol. 8, núm. 3, 2009, pp. 451-458  
Universidade Nove de Julho  
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92912683010>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica  
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# Hsp60 e imunidades: como diante de um espelho partido

## *Hsp60 and immunities: as facing a broken mirror*

Eliana Blini Marengo<sup>1</sup>; Osvaldo Augusto Sant'Anna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista Pós-doutorado FAPESP – Laboratório de Imunologia Clínica – Depto de Imunologia – Instituto de Ciências Biomédicas – USP/São Paulo – SP.

<sup>2</sup>Pesquisador do CNPq – Laboratório de Imunoquímica – Instituto Butantan/São Paulo – SP.

### Endereço para correspondência:

Dra. Eliana Blini Marengo

Av. Prof. Lineu Prestes, 1730 – Cidade Universitária

Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas IV – Universidade de São Paulo

05508-900 – São Paulo – SP [Brasil]

elianabm@usp.br

### Resumo

A família das Hsp60 inclui proteínas que se encontram conservadas ao longo da evolução, e participam de processos celulares fundamentais. Os níveis aumentados de expressão dessas moléculas sob estresse celular, somada à possibilidade de a condição inflamatória alterar o reconhecimento e a apresentação de antígenos, direcionando e amplificando a resposta imune para a Hsp60, sustentam a participação de tais moléculas em processos crônico-degenerativos. A alta similaridade interespecífica sugere a possível relação das Hsp60 em autoimunidades a partir de mimetismo molecular. O grau de homologia entre as Hsp60 de mamíferos e de bactérias, bem como os relatos da literatura sobre o envolvimento dessas moléculas em processos crônico-degenerativos, são aqui apresentados. Assim, as Hsp têm importância central como moléculas sinalizadoras diante das adversidades e mantenedoras da homeostase e desempenham papel bivalente, tanto na regulação quanto na iniciação e propagação de processos crônico-inflamatórios que incluem as autoimunidades.

**Descritores:** Autoimunidade; Hsp60; Processos crônico-degenerativos; Proteínas do choque térmico; Toxinas.

### Abstract

The Hsp60 family includes proteins that are conserved along the evolutionary course, participating in essential cellular processes. Upregulation of these molecules in response to cellular stress and the possibility that certain inflammatory conditions can modify antigen recognition and presentation, consequently directing and amplifying the immune responses against Hsp60, sustains the participation of these proteins in chronic-degenerative processes. The high inter-specific similarity suggests a possible role for Hsp60 in autoimmune process by molecular mimicry. The degree of homology between mammalian and bacterial Hsp60 and reports about the participation of these molecules in chronic-degenerative processes are presented here. Therefore, Hsp proteins function as signaling molecules to adversities and maintaining homeostasis, and play an important role in regulation as well as in initiation and progression of chronic-inflammatory processes including autoimmunities.

**Key words:** Autoimmunity; Chronic-degenerative processes; Heat-shock proteins; Hsp60; Toxins.

## Introdução

As células encontram-se expostas a variações do ambiente e a capacidade de suportar tais mudanças é determinante para a sobrevivência. A resposta celular a diversos tipos de estresses caracteriza-se por alterações drásticas no metabolismo, que incluem a indução da expressão de um conjunto específico de proteínas conhecidas como proteínas de choque térmico (*Heat-shock proteins – Hsp*)<sup>1</sup>. Essas são essenciais à viabilidade celular sob condições normais de crescimento, e participam de processos fundamentais, agindo como chaperonas/chaperoninas moleculares, ou seja, asseguram que os polipeptídeos com os quais interagem sejam reestruturados, enovelados, ou transportados apropriadamente<sup>2,3</sup>.

A síntese das Hsp é induzida, não somente pelo aumento da temperatura, mas também por outras situações de perturbações orgânicas, incluindo hipóxia, processos inflamatórios, exposição às toxinas, ou danos ao DNA que, consequentemente, causam estresse em tecidos e componentes celulares<sup>4</sup>. O fato de estímulos tão diversos desencadearem reações tão similares sugere que a universalidade da resposta celular a condições ambientais estressantes represente um mecanismo básico de defesa, conservado evolutivamente<sup>5</sup>. As Hsp são classificadas em famílias de acordo com suas massas moleculares aproximadas e, também, segundo seus graus de homologia. Entre as Hsp identificadas como importantes e que estão envolvidas em processos celulares essenciais encontram-se as Hsp de 60 kDa – Hsp60, que inclui a Hsp65 de *Mycobacterium leprae*.

## As Hsp de 60 kDa

A família das Hsp60 constitui uma classe de moléculas abundantes e evolutivamente conservadas em todos os organismos, e recebem diferentes denominações: em *Escherichia coli* são conhecidas por GroEL; em mitocôndrias, por Hsp60, e em cloroplastos, Rubisco.

Participam de vários contextos fisiopatológicos e, entre suas principais atividades biológicas, destacam-se: função chaperonina e de modulação da resposta imune inata e adquirida. Relatos da literatura mostram que essas atuam como adjuvantes naturais e interagem com células apresentadoras de antígenos, levando à produção de citocinas pró-inflamatórias<sup>6</sup>. A Hsp60 também é reconhecida via TLR2 – receptor tipo toll-2, TLR4 e TLR-5<sup>7</sup>. Foi também observada ativação da via clássica do sistema complemento pelas Hsp60<sup>8</sup>; nesse caso, anticorpos específicos anti-Hsp60 são os principais reguladores dessa ativação.

## Efeito tóxico e autoimunidades

Após o sequenciamento do genoma de muitos organismos, incluindo a *Mycobacterium leprae*, verificou-se que existem duas sequências homólogas de Hsp60, com funções provavelmente distintas, e codificadas por genes separados: cpn60-1 que expressa a Hsp60 e o gene separado cpn60-2 que codifica a proteína Hsp60 chaperonina 2, também conhecida como antígeno de 65 kDa ou Hsp65<sup>9</sup>. A Hsp60 de *M. leprae* está localizada no citosol do bacilo e tem função chaperonina; por outro lado, a Hsp65 é a proteína mais abundante da parede micobacteriana, sendo o antígeno dominante em várias doenças infecciosas, capaz de induzir resposta imune humoral e celular, afigurando-se como toxina<sup>10</sup>. O alinhamento da sequência de aminoácidos entre a Hsp60 e Hsp65 de *M. leprae* revelou cerca de 60% de identidade, indicando suas relações com diferentes funções dessas duas moléculas homólogas. Ainda, as diferenças entre Hsp60 e Hsp65 compreendem as regiões que contêm peptídeos-epítomos reconhecidos por células T de vertebrados e a reação cruzada entre esses determinantes está em porções conservadas nos diferentes organismos<sup>8</sup>. A partir de estudos imunoquímicos, verificou-se que a resposta antigênica e o reconhecimento cruza-

do com as Hsp60 de mamíferos são dirigidos às Hsp65 e não às Hsp60 bacterianas.

Embora a etiologia de diferentes doenças autoimunes ainda permaneça desconhecida, muitas teorias as relacionam ao processo de mimetismo molecular; essa hipótese foi originalmente definida como uma possibilidade teórica de que sequências similares entre peptídeos próprios e não próprios seriam suficientemente capazes de desencadear reações imunológicas cruzadas e resultar em processos autoimunes<sup>11</sup>. Em vários estudos, especialmente em relação à ação tóxica das Hsp65, essa vem sendo atribuída a doenças inflamatórias crônicas incluindo as autoimunidades, como artrite reumatoide, artrite juvenil, diabetes do tipo I, esclerose sistêmica, psoríase, esclerodermia, fibrose cística, aterosclerose, lúpus eritematoso sistêmico<sup>12, 14</sup>; por outro lado, outros estudos experimentais evidenciam a função imunorreguladora das Hsp60/65, dependendo da via de administração dessas moléculas e estado fisiopatológico do organismo<sup>15, 16</sup>.

A fim de verificar a possível relação das Hsp60 e autoimunidades, aqui são apresentados ensaios teóricos enfocando o grau de homologia entre as Hsp60 de mamíferos e bactérias e os relatos da literatura sobre o envolvimento dessas moléculas em processos crônico-degenerativos.

## Metodologia

Estudos sobre as homologias entre as séries de aminoácidos das Hsp60 de bactérias e mamíferos foram feitos utilizando *Clustal W* – *multiple alignment website* (<<http://npsa-pbil.ibcp.fr>>), alimentado com as sequências de Hsp60/65 já depositadas no *SwissProt/ TrEMBL* (<<http://expasy.org/sprot>>); número de acesso: Hsp60 e Hsp65 de *Mycobacterium leprae*: P37578 e P09239, respectivamente; Hsp65 de *Mycobacterium tuberculosis*: P0A520; Hsp60 de *Escherichia coli*, *Mus musculus* e *Homo sapiens*: P0A6F5, P63038 e P10809, respectivamente.

## Resultados

Sabendo que, especialmente, as Hsp65 são consideradas antígenos dominantes em diversos processos crônico-inflamatórios, incluindo os autoimunes, e por apresentarem alto grau de conservação, decidimos avaliar a similaridade entre as sequências primárias das Hsp60/65 de bactérias patogênicas – envolvidas em processos autoimunes – e também entre as Hsp60 de mamíferos. O alinhamento da sequência de aminoácidos entre a Hsp60 e Hsp65 de *Mycobacterium leprae* mostra cerca de 55 % de identidade e 27% de similaridade, conforme observado na Tabela 1, corroborando as observações anteriormente descritas<sup>16</sup>. Estendendo essa análise para outras Hsp60 bacterianas, observa-se ~55% e 27% de identidade e similaridade, respectivamente. A análise da sequência primária da Hsp65 de *M. leprae* e as Hsp60 de mamíferos revela cerca de 45 % de identidade e um adicional de ~33% de aminoácidos similares, incluindo *Homo sapiens* e *Mus musculus* (Tabela 1). Em conjunto, esses dados sugerem maior similaridade entre as Hsp60 comparativamente a análise da Hsp65 de micobactéria e outros organismos. Isso reforça a ideia de que Hsp65 e Hsp60 podem sinalizar diferentes funções dessas moléculas homólogas<sup>8</sup>.

**Tabela 1:** Análise de homologia entre as sequências primárias da Hsp65 de *M. leprae* (CH602 Mycle) e Hsp60 de *M. leprae* (CH60 MYCLE), camundongo (CH60 Mouse) e humana (CH60 Human)

CH602 Mycle versus	CH60 Mycle	CH60 Mouse	CH60 Human
Identidade	56 %	45 %	44.5 %
Similaridade	27,5 %	33 %	33,5%
Diferença	16,5 %	22 %	22 %

Adicionalmente, neste trabalho, peptídeos-epítomos já identificados na molécula de Hsp65 de *Mycobacterium tuberculosis* e envolvidos em algumas doenças autoimunes foram verificados na sequência primária das Hsp60/65 de outros organismos, tais como *M. leprae*, *Escherichia coli* e também *H. sapiens*. Pode-se observar, a partir

dos alinhamentos contidos na Tabela 2 que, dos sete peptídeos-epítomos descritos para a Hsp65 de *M. tuberculosis*<sup>17,18</sup>, seis desses são idênticos na molécula de Hsp65 de *M. leprae*, com exceção de um pequeno segmento constituído dos aminoácidos na porção 20-28. Um dos peptídeos (361-369) apresenta apenas uma mutação conservada com relação à Hsp60 humana e *E. coli* e é idêntico a do *M. leprae*.

## Complexo principal de histocompatibilidade e o (re) conhecimento imunológico

No decorrer do século XX, os fenômenos e mecanismos da imunidade nortearam o desenvolvimento dos conhecimentos que resultaram no esclarecimento dos vários aspectos celulares e moleculares que caracterizam as relações intrínsecas do sistema imune e dessas com os agentes infecciosos e processos tumorais. O reconhecimento específico e a memória caracterizam a imunidade adquirida nos vertebrados superiores. Essa é dependente dos linfócitos e de uma ampla diversidade de moléculas, algumas referidas genericamente como pertencentes à superfamília das imunoglobulinas, como as moléculas de Classe I e II codificadas pelo Complexo Principal de Histocompatibilidade, denominado MHC; esse compreende uma região com vários *loci* ligados, sendo dois os conjuntos de genes mais relevantes que codificam a expressão dos antígenos de Classes I e II. As glicoproteínas de Classe I estão presentes nas células nucleadas, possuem uma cadeia  $\alpha$  ancorada à membrana formada por três domínios  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  e  $\alpha 3$ . Associada ao domínio  $\alpha 3$  próximo à membrana celular há a  $\beta 2$ -microglobulina, necessária à funcionalidade da molécula. A estrutura do MHC Classe I acomoda peptídeos pequenos, de cerca de nove aminoácidos, que serão reconhecidos pelos TCR (receptores de células T) dos linfócitos TCD8+ ou CTL (linfócitos T citotóxicos). As moléculas MHC de Classe II têm distribuição restrita, estando presentes nas células T ativadas, linfócitos B, macrófagos,

**Tabela 2:** Peptídeos-epítomos de MHC Classe I já descritos para a Hsp65 de *Mycobacterium tuberculosis* e suas similaridades com Hsp60 de outros organismos

Organismo	Posição	Sequência
<i>M. tuberculosis</i>	2-12	<b>KTIA<b>Y</b>DEE<b>AARR</b>*</b>
<i>M. leprae</i>	2-12	<b>KTIA<b>Y</b>DEE<b>AARR</b></b>
<i>E. coli</i>	3-13	<b>KDV<b>K</b>FGND<b>ARV</b></b>
<i>H. sapiens</i>	28-38	<b>KDV<b>K</b>FGAD<b>ARA</b></b>
<i>M. tuberculosis</i>	20-28	<b>ALADAV<b>KVT</b>*</b>
<i>M. leprae</i>	20-28	<b>SLADAV<b>KVT</b></b>
<i>E. coli</i>	21-29	<b>VLADAV<b>KVT</b></b>
<i>H. sapiens</i>	46-54	<b>LLADAV<b>AVT</b></b>
<i>M. tuberculosis</i>	179-187	<b>TFGL<b>Q</b>LELT*</b>
<i>M. leprae</i>	179-187	<b>TFGL<b>Q</b>LELT</b>
<i>E. coli</i>	179-187	<b>GLQDE<b>L</b>DVV</b>
<i>H. sapiens</i>	207-215	<b>TLNDE<b>L</b>EII</b>
<i>M. tuberculosis</i>	361-369	<b>KLQER<b>L</b>AKL*</b>
<i>M. leprae</i>	361-369	<b>KLQER<b>L</b>AKL</b>
<i>E. coli</i>	364-372	<b>KLQER<b>V</b>AKL</b>
<i>H. sapiens</i>	390-398	<b>KLNER<b>L</b>AKL</b>
<i>M. tuberculosis</i>	368-376	<b>KLAGGV<b>AVI</b>*</b>
<i>M. leprae</i>	368-376	<b>KLAGGV<b>AVI</b></b>
<i>E. coli</i>	371-379	<b>KLAGGV<b>AVI</b></b>
<i>H. sapiens</i>	397-405	<b>KLSDG<b>V</b>AVL</b>
<i>M. tuberculosis</i>	499-509	<b>ALQNAAS<b>I</b>AGL*</b>
<i>M. leprae</i>	499-509	<b>ALQNAAS<b>I</b>AGL</b>
<i>E. coli</i>	503-513	<b>ALQYAAS<b>V</b>AGL</b>
<i>H. sapiens</i>	531-541	<b>ALLDAAG<b>V</b>ASL</b>
<i>M. tuberculosis</i>	508-516	<b>GLFLT<b>T</b>TEAV*</b>
<i>M. leprae</i>	508-516	<b>GLFLT<b>T</b>TEAV</b>
<i>E. coli</i>	512-520	<b>GLMIT<b>T</b>TECM</b>
<i>H. sapiens</i>	538-546	<b>SLLT<b>T</b>AEEVV</b>

\*Os peptídeos-epítomos MHC Classe I já identificados e envolvidos em processos autoimunes contidos na molécula de Hsp65 de *M. tuberculosis*, sua respectiva sequência e localização, estão indicadas em negrito. Grau de similaridade: identidade (Azul); alta similaridade conservada (Branco); baixa similaridade (Cinza); diferente (preto).

células dendríticas, de Langerhans; portanto, estão presentes nas células capazes de interiorizar e processar antígenos exógenos. As moléculas

Classe II também são glicoproteínas, mas constituídas de duas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ . Os MHCII podem ligar-se a peptídeos de até 15 aminoácidos de tamanho, apresentando-os às células TCD4+. Antígenos apresentados pelas moléculas Classe II são, na maioria das vezes, catabolizados na célula que sintetizou o MHCII. Resumindo: a principal função das moléculas MHC é a de facilitar a apresentação de fragmentos de macromoléculas na superfície das células, promovendo o reconhecimento específico por células do sistema imune.

Também foram analisados, por homologia de sequência primária, peptídeos ligantes em moléculas do MHC Classe I, identificados na Hsp60 de *E. coli* (resultados não mostrados). Aqui vale lembrar que, da mesma forma, foi visto que muitos resíduos de aminoácidos presentes na sequência primária correspondiam aos peptídeos-epitopos conservados e que os resíduos no qual se observava mutação seguiam-se à mutação conservada, isto é, mutação por aminoácido de mesmo caráter químico. Na Tabela 3 são mostrados os peptídeos de Hsp60 humana ligantes em moléculas de MHC Classe I e envolvidos em processos de autoimunidade. Como pode ser observado, o peptídeo-epitopo da Hsp60 humana 218-227<sup>12-19</sup>, apresenta alta similaridade com as moléculas de Hsp65 de *M. leprae* e *M. tuberculosis* e Hsp60 de *E. coli*; em adição, o peptídeo humano 218-227 apresenta apenas uma mutação conservada com relação à Hsp60 de *E. coli*.

Discussão

Resumindo, apesar de sua função mais conhecida ser por atuação como chaperonina, a participação das Hsp60 em processos crônico-inflamatórios, incluindo as doenças autoimunes, é amplamente documentada<sup>20-22</sup>; e, como descrito, as proteínas de choque térmico participam tanto da indução e progressão de doenças autoimunes como também na imunorregulação destas desordens. O mecanismo das divergentes respostas imunes das Hsp60/65 não está bem definido; porém, sugere-se que o aumento da expressão

Tabela 3: Peptídeos-epitopos MHC Classe I da Hsp60 humana identificada e suas similaridades com Hsp60/65 de outros organismos na região do epítopo

Organismo	Posição	Sequência
<i>H. sapiens</i>	140-148	IRRGV <b>MLAV</b> *
<i>M. leprae</i>	114-122	LK <b>RGID</b> KA <b>V</b>
<i>M. tuberculosis</i>	114-122	LK <b>RGIE</b> KA <b>V</b>
<i>E. coli</i>	115-123	LK <b>RGIE</b> KA <b>V</b>
<i>H. sapiens</i>	180-188	DKEIGNIS*
<i>M. leprae</i>	154-162	DQ <b>SIGDL</b> IA
<i>M. tuberculosis</i>	154-162	DQ <b>SIGDL</b> IA
<i>E. coli</i>	153-161	DE <b>TVGK</b> LIA
<i>H. sapiens</i>	218-227	MK <b>FDR</b> GYIS <b>P</b> *
<i>M. leprae</i>	192-201	MR <b>FDK</b> GYIS <b>G</b>
<i>M. tuberculosis</i>	192-201	MR <b>FDK</b> GYIS <b>G</b>
<i>E. coli</i>	191-200	M <b>QFDR</b> GYLS <b>P</b>
<i>H. sapiens</i>	397-405	KLSDGVAVL*
<i>M. leprae</i>	371-379	KL <b>AGG</b> VAVI
<i>M. tuberculosis</i>	371-379	KL <b>AGG</b> VAVI
<i>E. coli</i>	370-378	KL <b>AGG</b> VAVI

\*Os peptídeos-epitopos MHC Classe I já identificados e envolvidos em processos autoimunes contidos na molécula de Hsp60 humana, sua respectiva sequência e localização, estão indicadas em negrito. Grau de similaridade: identidade (Azul); alta similaridade conservada (Branco); baixa similaridade (Cinza); diferente (preto).

Tabela 4: Envolvimento da Hsp60/65 e seus anticorpos na patogênese de doenças inflamatória e autoimunes

Patologia	Hospedeiro	Origem da HSP
Síndrome de Behçet	Rato, homem	<i>M. bovis</i> , humana
Artrite autoimune	Rato	<i>M. tuberculosis</i>
Aterosclerose	Homem, coelho, camundongo	<i>Chlamydia pneumoniae</i> , humana, <i>M. tuberculosis</i>
Diabete autoimune	Camundongo, homem	Humana, camundongo, <i>M. tuberculosis</i>
Encefalomielite autoimune	Rato	<i>M. tuberculosis</i>
Lupus eritematoso sistêmico	Camundongo, homem	<i>M. leprae</i> , camundongo, humana

Extraído de Rajaiah, Moudgil<sup>23</sup>.



de Hsps endógenas em diferentes condições de estresse pode exacerbar a inflamação e também constituir um importante alvo para indução de células T e anticorpos a partir das Hsp extracelulares (autólogas e bacterianas)<sup>23</sup>. Ainda, a possibilidade de que em condições de estresse ocorra aumento da expressão das Hsps<sup>5</sup> e que a condição inflamatória poderia alterar o reconhecimento e apresentação antigênica para as Hsp60/65 extracelulares direcionando e amplificando a resposta imune adquirida para as Hsps próprias e seus anticorpos anti-Hsp60/65 que se apresentam potencialmente patogênicos<sup>24-26</sup>.

A similaridade interespecífica elevada de sequências das Hsp65 reflete-se em como contatos frequentes com microorganismos podem levar à resposta autoimune por facilitarem reações imunológicas cruzadas entre peptídeos próprios e não próprios<sup>14, 22</sup>. Sabe-se que a Hsp65 é o principal alvo de resposta imune contra patógenos; porém, as consequências evolutivas desse reconhecimento são pouco conhecidas<sup>27</sup>. Um possível-efeito patogênico do mimetismo molecular ocorre durante a imunização com BCG (Bacilo de Calmette-Guerin): observa-se um número significativo de indivíduos imunizados com potencial de desenvolvimento de artrite reumatoide, provavelmente resultante do reconhecimento dos anticorpos anti-Hsp micobacteriano contra as Hsps do indivíduo<sup>14, 27</sup>. A observação de que sequências de peptídeos ligantes em moléculas de MHC de Classe I para a Hsp65<sup>13, 17-19</sup> encontram-se alinhados nas extremidades da porção N- e C-terminal da molécula Hsp65 pode relacionar-se à atividade autolítica das Hsps<sup>5</sup>. Marques e colaboradores<sup>28</sup> verificaram que a Hsp65 e um grupo de pequenos peptídeos originários dessa proteína representavam os mais abundantes polipeptídeos da parede celular do *M. leprae* e que um fragmento da porção C-terminal da Hsp65 encontrava-se no citosol do bacilo. Estudos *in vitro* também mostraram uma possível atividade autolítica da Hsp65 de *M. leprae* e, nesse processo, fragmentos peptídicos eram liberados de suas porções N- e C-terminal o que sugere que esse processo também ocorra

*in vivo* de forma independente do proteasoma<sup>29, 30</sup>. A autólise das chaperonas/chaperoninas também já foi descrita para outras famílias de Hsps e especula-se que a auto-degradação seja um processo de modulação<sup>30</sup>.

Relatos da literatura mostram que o bacilo *M. leprae* foi um dos primeiros organismos associados com doenças em humanos. O sequenciamento das diferentes espécies do gênero micobactéria revelou que o *M. leprae* apresentou perda de genoma, comparativamente a virulenta *M. tuberculosis* H37RV e a avirulenta e de rápido crescimento *M. smegmatis*. A drástica perda genômica é associada à perda da capacidade funcional e a restrição ao *habitat* intracelular do *M. leprae*. É sugerido que o genoma do bacilo da lepra contenha o mínimo conjunto de genes para as propriedades estruturais e biológicas essenciais<sup>31</sup>. O fato de que no genoma das micobactérias encontram-se duas cópias que codificam para Hsp60 sugere alto valor adaptativo dessas moléculas para a sobrevivência da espécie, seja por apresentar papel na homeostase (Hsp60) ou minimizar a sistema imune do hospedeiro contra o bacilo (Hsp65).

Um melhor entendimento das distintas funções imunobiológicas descritas para as Hsp60, permitem-nos sugerir que existam moduladores físico-químicos endógenos ou ainda condições fisiopatológicas que rejam a essas propriedades.

As Hsp guiam e são alvos de resposta imunológica e, como todo fenômeno biológico, apresentam participação complexa em mecanismos imunobiológicos no decorrer de contextos fisiopatológicos diversos. As Hsp são antígenos imunodominantes como também se afiguram como antígenos-próprios protetores em desordens promovidas por infecções. A regulação desse seu mecanismo protetor é desconhecida, porém sabe-se que a imunidade benfeitora específica é mantida pelas células T reguladoras e anticorpos; mas os contatos com microorganismos podem ter participação significativa na manutenção ou quebra desse mecanismo. Ainda, a possibilidade de que em condições de estresse ocorra aumento da expressão das Hsp, e que a inflamação poderia alterar o reconhecimento

e apresentação antigênica para essas moléculas, direcionaria e amplificaria a resposta imune adquirida para a Hsp60 e seus anticorpos anti-Hsp60/65 que são conhecidos por serem potentes indutores patogênicos. Esses achados reforçam a hipótese de participação das Hsp em processos crônico-degenerativos.

O efeito cumulativo de perturbações ambientais e a experiência imunológica do indivíduo, desde o período pré-natal e ao longo da vida, são mecanismos importantes identificados na manutenção da proteção da população. Numa população geneticamente heterogênea, indivíduos submetidos aos mesmos estímulos imunogênicos, apresentarão respostas imunes inatas e adquiridas quantitativa e qualitativamente distintas; as principais características funcionais como resposta inflamatória, produção de anticorpos, imunidade mediada por células e tolerância imunológica estão submetidas a controles poligênicos independentes; e essa variabilidade dependerá dos diferentes genótipos da população<sup>32, 33</sup>. Sendo o sistema imune complexo e essencialmente pleiotrópico, as interações entre essas funções inatas e adquiridas asseguram proteção multidirecional de uma população. Desde que essas funções imunobiológicas operam simultaneamente durante os processos fisiopatológicos, é esperado aumento do impacto da variância ambiental (VE) durante doenças crônico-degenerativas, desde que a VE represente, pelo menos, 50% da variância fenotípica ( $VP=VG+VE$ , sendo VP: variância fenotípica e VG: variância genética).

## Conclusão

Assim, as Hsp60 podem desempenhar papel bipolar apresentando-se tanto como moléculas sinalizadoras as adversidades e mantenedoras da homeostase quanto na iniciação e propagação de processos crônico-inflamatórios, incluindo as autoimunidades. Há que considerar-se os processos evidentes de co-evolução de patógenos e hospedeiros, de toxinas e imunidades. Os reconhecimentos de toxinas e de moléculas do sistema

imune que possuem ações específicas têm pelo menos duas das três estruturas responsáveis pelas características múltiplas do conjunto de proteínas: domínio transmembrana, domínio ligante e sítio catalítico. Assim, o sistema imunológico seria um espelho partido em que imagens idênticas ou semelhantes entre moléculas endógenas e exógenas, ou seus reflexos (respostas), podem ser distintamente reconhecidas ou distorcidas. Nesse sentido, o sistema imune pode assumir respostas variáveis e não previstas, dependendo da condição fisiopatológica do organismo que é regida por efeitos cumulativos temporais.

## Auxílio Financeiro

Esse trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

## Referências

- Schlesinger M J, Ashburner M, Tissieres A. Heat shock from bacteria to man, ed. M.J. Schlesinger. 1982, Cold Spring Harbor, N.Y. 440.
- Ellis J. Proteins as molecular chaperones. *Nature*. 1987;328(6129):378-9.
- Georgopoulos C. The emergence of the chaperone machines. *Trends Biochem Sci*. 1992;17(8):295-9.
- Welch WJ. How cells respond to stress. *Sci Am*. 1993;268(5):56-64.
- Lindquist S. The heat-shock response. *Annu Rev Biochem*. 1986;55: 1151-91.
- Peetermans WE, Raats CJ, Langermans JA, van Furth R. Mycobacterial heat-shock protein 65 induces proinflammatory cytokines but does not activate human mononuclear phagocytes. *Scand J Immunol*. 1994;39(6):613-7.
- Ohashi K, Burkart V, Flohé S, Kolb H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J Immunol*. 2000;164(2):558-61.
- Prohaszka Z, Duba J, Lakos G, Kiss E, Varga L, Jánoskúti L, et al. Antibodies against human heat-shock protein (hsp) 60 and mycobacterial hsp65 differ in their antigen specificity and complement-activating ability. *Int Immunol*. 1999;11(9):1363-70.



9. Rinke de Wit TF, Bekelie S, Osland A, Miko TL, Hermans PW, van Soolinger D, et al. Mycobacteria contain two groEL genes: the second Mycobacterium leprae groEL gene is arranged in an operon with groES. *Mol Microbiol.* 1992;6(14):1995-2007.
10. Qamra R, Mande SC. Crystal structure of the 65-kilodalton heat shock protein, chaperonin 60.2, of Mycobacterium tuberculosis. *J Bacteriol.* 2004;186(23):8105-13.
11. Kohm AP, Fuller KG, Miller SD. Mimicking the way to autoimmunity: an evolving theory of sequence and structural homology. *Trends Microbiol.* 2003;11(3):101-5.
12. Marengo EB, de Moraes LV, Faria M, Fernandes BL, Carvalho LV, Tambourgi DV, et al. Administration of M. leprae Hsp65 interferes with the murine lupus progression. *PLoS One.* 2008;3(8):e3025.
13. Metzler B, Schett G, Kleindienst R, van der Zee R, Ottenhoff T, Hajeer A, et al. Epitope specificity of anti-heat shock protein 65/60 serum antibodies in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(3):536-41.
14. Wick G, Perschinka H, Millonig G. Atherosclerosis as an autoimmune disease: an update. *Trends Immunol.* 2001;22(12):665-9.
15. De Kleer IM, Kamphuis SM, Rijkers GT, Scholtens L, Gordon G, De Jager W, et al. The spontaneous remission of juvenile idiopathic arthritis is characterized by CD30+ T cells directed to human heat-shock protein 60 capable of producing the regulatory cytokine interleukin-10. *Arthritis Rheum.* 2003;48(7):2001-10.
16. Elias D, Cohen IR. Peptide therapy for diabetes in NOD mice. *Lancet.* 1994; 343(8899):704-6.
17. Charo J, Sundback M, Geluk A, Ottenhoff T, Kiessling R. DNA immunization of HLA transgenic mice with a plasmid expressing mycobacterial heat shock protein 65 results in HLA class I- and II-restricted T cell responses that can be augmented by cytokines. *Hum Gene Ther.* 2001;12(14):1797-804.
18. Geluk A, Bloemhoff W, De Vries RR, Ottenhoff TH. Binding of a major T cell epitope of mycobacteria to a specific pocket within HLA-DRw17(DR3) molecules. *Eur J Immunol.* 1992;22(1):107-13.
19. Maeda H, Miyamoto M, Kokeguchi S, Kono T, Nishimura F, Takashiba S, et al. Epitope mapping of heat shock protein 60 (GroEL) from Porphyromonas gingivalis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;28(3):219-24.
20. Kaufmann SH. Heat shock proteins and the immune response. *Immunol Today.* 1990;11(4):129-36.
21. Van Eden W, Wick G, Albani S, Cohen I. Stress, heat shock proteins, and autoimmunity: how immune responses to heat shock proteins are to be used for the control of chronic inflammatory diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1113:217-37.
22. Zugel U, Kaufmann SH. Role of heat shock proteins in protection from and pathogenesis of infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):19-39.
23. Rajaiah R, Moudgil KD. Heat-shock proteins can promote as well as regulate autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2009;8(5):388-93.
24. Perschinka H, Mayr M, Millonig G, Mayerl C, van der Zee R, Morrison SG, et al. Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(6):1060-5.
25. Rossmann A, Henderson B, Heidecker B, Seiler R, Fraedrich G, Singh M, et al. T-cells from advanced atherosclerotic lesions recognize hHSP60 and have a restricted T-cell receptor repertoire. *Exp Gerontol.* 2008;43(3):229-37.
26. Schett G, Xu Q, Amberger A, Van der Zee R, Recheis H, Willeit J, et al. Macrophage-lysis mediated by autoantibodies to heat shock protein 65/60. *Atherosclerosis.* 1997;128(1):27-38.
27. Van Eden W, Holoshitz J, Nevo Z, Frenkel A, Klajman A, Cohen IR. Arthritis induced by a T-lymphocyte clone that responds to Mycobacterium tuberculosis and to cartilage proteoglycans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985; 82(15): 5117-20.
28. Marques MA, Chitale S, Brennan PJ, Pessolani MC. Mapping and identification of the major cell wall-associated components of Mycobacterium leprae. *Infect Immun.* 1998;66(6):2625-31.
29. Parada C. Atividade autolítica da hsp65 de Mycobacterium leprae: nova rota de apresentação de antígenos? [dissertação de mestrado], São Paulo: Universidade de São Paulo: São Paulo. Biotecnologia; 2007, p. 133.
30. Mitchell HK, Petersen NS, Buzin CH. Self-degradation of heat shock proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(15):4969-73.
31. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature.* 2001;409(6823):1007-11.
32. Biozzi G, Mouton D, Sant'Anna OA, Passos HC, Gennari M, et al. Genetics of immunoresponsiveness to natural antigens in the mouse. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1979;85:31-98.
33. Sant'Anna OA, Ferreira VC, Reis MH, Gennari M, Ibanez OM, et al. Genetic parameters of the polygenic regulation of antibody responsiveness to flagellar and somatic antigens of salmonellae. *J Immunogenet.* 1982;9(3):191-205.