

Origens da imunologia: os anti-soros e a caracterização da especificidade na resposta imune

The beguining of immunology: antisera and the characterization of specificity in the immune

Oswaldo Augusto Sant'Anna⁽¹⁾, Marcella Faria⁽²⁾

Acompanhando a história das ciências é possível apreender e aprender sobre a inteligência, marco principal da trajetória da humanidade. A *Ciência* como atividade criativa pode gerar conhecimentos, estimular o pensamento, traçando novos rumos para a vida, sistematizar sistemas classificatórios que de fato reflitam a organização da realidade, explicando mais e melhor sobre identidades e diferenças entre os constituintes de seus agrupamentos. As ciências – biológicas, humanas e exatas – caminharam ao longo dos tempos construindo as várias faces do saber. As experimentações, as investigações são características intrínsecas à espécie humana na tentativa de entender, explicar e expressar as relações múltiplas existentes entre os diversos componentes do mundo natural. Nas ciências encontram-se correlações repetitivas associadas às complexidades dos sistemas e que conduzem às noções de espécie, célula, átomo, por exemplo, agrupamentos esses,

reveladores de propriedades críticas para a funcionalidade e identidade dos mesmos.

O desenvolvimento do pensamento exige diversas instâncias de análise e síntese, portanto, bem mais do que o simples domínio de técnicas e vislumbre de novas tecnologias. Saliente-se que a tecnologia tende a esgotar-se em si mesma, contrariamente ao saber que acumula-se no decorrer dos tempos. Vale ressaltar que a geração de conhecimentos não é, ou não deveria ser em essência competitiva, mas sim cumulativa. E, sobretudo nas Ciências os contextos não devem, ou ao menos não deveriam, substituir ou sobrepor-se ao conceito, à explicação inventiva da realidade.

À luz destes princípios procuraremos investigar alguns dos conhecimentos produzidos no âmbito da Imunologia em seus primórdios, cujas bases remontam a cerca de 110 anos, com as produções de anti-soros contra toxinas e venenos. Conhecimentos que estabeleceram os fundamentos

⁽¹⁾ Laboratório Especial de Microbiologia.

⁽²⁾ Laboratório Especial de História da Ciência. Instituto Butantan – São Paulo, Brasil.

da noção de especificidade da imunidade. Junto aos estudos pioneiros do russo Élie Metchnikoff (1844-1916) sobre a resposta inflamatória, outro segmento central da resposta imunológica, esses fundamentos ampliaram-se, vindo a compor a Disciplina da Imunologia, hoje indispensável ao saber biológico sobre a vida e a sobrevivência.

Em fins do século XIX, a difteria grassava na Europa. No Laboratório de Pasteur, em 1888, Émile Roux (1853-1933) e Alexandre Yersin (1863-1943) decidiram cultivar os bacilos causadores da infecção e descobriram que o caldo filtrado das culturas era capaz de paralisar e matar cobaias. Como o líquido filtrado continuava a produzir os efeitos tóxicos, mas, colocado num meio de cultura não se reproduzia, Roux chegou à conclusão de que o bacilo diftérico produzia uma substância tóxica, uma toxina. Nessa mesma época, no Laboratório de Koch trabalhava o médico Emil Adolf von Behring (1854-1917) que, auxiliado por Paul Ehrlich (1854-1915), procurava uma substância química capaz de curar a difteria. Não a encontrou, mas descobriu que soros de animais que haviam sido inoculados com a toxina diftérica eram capazes de neutralizá-la, inibindo sua ação tóxica. Juntando-se num tubo de ensaio a toxina e o soro obtido e depois inoculando um animal, esse sobrevivia. Mais ainda, se administrasse o soro antes da toxina ou mesmo a bactéria, o animal também sobrevivia: o soro era preventivo. Se administrado a animais doentes, o soro era terapêutico. Conseguiu-se produzir o soro antidiftérico em carneiros, demonstrando sua capacidade em neutralizar concentrações elevadas da toxina. Em 1891, uma criança desenganada recebeu este soro e os sintomas regrediram; o soro começou a ser produzido e usado para o tratamento diminuindo o número de crianças que morriam. Coube a Roux desenvolver a produção de soros em cavalos, o que possibilitou a obtenção de grandes quantidades e que passaram a ser empregados com sucesso. Estava, portanto, definitivamente descoberta a **soroterapia** e, esse princípio definitivo seria aplicado com sucesso no tratamento do tétano, à peste bubônica e pneumônica.

Ernest Loewenstein, em 1908, foi o primeiro a mostrar que a toxina tetânica sob ação do formol perdia sua toxicidade, mas seguia capaz de imunizar animais, induzindo a produção de anticorpos. Esses estudos com a toxina tetânica foram retomados pelo cientista brasileiro José Lemos Monteiro (1893-1935) trabalhando no Instituto Butantan de São Paulo, e por H. J. Südmersen e A. T. Glenny em estudos com a toxina diftérica publicado em 1911. Porém, foi o francês Gaston Ramon (1886-1963) quem demonstrou definitivamente que o tratamento da toxina diftérica

pelo formol transforma a proteína num produto inócuo e estável, o qual denominou de **anatoxina**; assim, o **toxóide** diftérico passa a ser uma vacina segura contra difteria. Poucos anos depois foi possível produzir-se, pelo mesmo método, o toxóide tetânico.

A História da Imunologia no Brasil coincide com o princípio dessa área do conhecimento também no Velho Mundo e, tal simultaneidade será, como veremos a seguir, um convite ao diálogo científico, ao embate entre evidências geradas a partir de diferentes vieses metodológicos aqui descritos de maneira original, que pode-se considerar em essência uma Tese.

Em 1895, o recém-formado médico Vital Brazil Mineiro da Campanha, muda-se com a esposa e primeira filha para Botucatu, onde trabalha como clínico. Nessa cidade inicia suas pesquisas sobre serpentes e seus venenos. Vital Brazil constatou as diferenças entre os sintomas pelos envenenamentos pelas serpentes jararaca (*Bothrops jararaca*) e cascavel (*Crotalus terrificus*). As pessoas picadas por jararaca apresentavam reações locais intensas e aumento progressivo da área afetada devido à hemorragia, chegando a produzir necroses locais dos tecidos, sendo a morte devida à coagulação sangüínea ou hemorragia; já o veneno da cascavel não determinava reação local nem hemorragias intensas; sua ação dava-se sobre o sistema nervoso, produzindo distúrbios visuais, paralisia e a morte ocorrendo por parada respiratória.

A seguir, transcreve-se trecho escrito pelo próprio Vital Brazil sobre o início de seus estudos sobre o ofidismo:

*Em contato constante com a gente do povo, procurando tomar conhecimento do seu modo simples de viver, de suas idéias, de suas credences, tive oportunidade de verificar a confiança que depositavam nos curadores de cobra, como chamavam os caboclos que tratavam, por meio de raízes, os acidentados por serpentes. Os vegetais preconizados eram numerosos, quase tantos quanto os curadores. Isto me levou a pensar que talvez houvesse uma substância comum nos vegetais que explicasse a proclamada ação curativa. Resolvi examinar a questão. Montei pequeno laboratório, acumulando raízes, caules e frutos para o preparo de extratos e tinturas, que me serviriam nas projetadas experiências. Tratei de adquirir uma serpente venenosa, uma Cascavel, que me foi fornecida por um dos caboclos curadores. As primeiras Cascavéis sucumbiram porque eram traumatizadas no momento da captura. Afinal consegui uma em boas condições, que foi colocada em caixa reforçada de madeira no meu improvisado laboratório. Era um belo espécime de Cascavel (*Crotalus terrificus*). Começou minha aprendizagem. Tive de vencer a mim mesmo, ao medo*

inato das serpentes. Era preciso colher o veneno em estado de pureza, em ordem a poder avaliar-lhe a quantidade. Não dispunha de aparelho de contenção. Comecei, por isso, provocando a mordedura em algodão hidrófilo, tarado; pela diferença de peso avaliava a quantidade de veneno, empregado em solução titulada. Os resultados das primeiras experiências foram negativos para diversos vegetais examinados”.

Em 1897, Vital Brazil é nomeado assistente no Instituto Bacteriológico, hoje Instituto Adolfo Lutz; 1899 foi o ano da peste: a mortandade de ratos suspeitos de serem pestosos fez com que Emílio Ribas criasse um Serviço de Vigilância em Santos, porta de entrada da temível epidemia. Vital Brazil foi designado para dirigir os trabalhos e, com Adolfo Lutz logo confirmam que a alta incidência de morte no porto de Santos era mesmo devida à peste bubônica. E não só a peste... Havia suspeita de estar iniciando-se a febre amarela. Oswaldo Cruz, que acabara de retornar de um estágio no Instituto Pasteur em Paris, foi chamado para confirmar o diagnóstico. Era difícil importar o soro terapêutico produzido apenas pelo Instituto Pasteur e não disponível. O Governo do Estado de São Paulo, acatando idéia do Secretário Cezário Motta decide fundar um Laboratório, sendo Ribas, Lutz, Vital Brazil e Oswaldo Cruz, responsáveis por sua instalação. Em fins de 1899 é escolhido um local bem afastado do centro da cidade, que tinha o cemitério da Consolação seu limite a sudoeste e distante do centro urbano. Foi na Fazenda Butantan (do tupi-guarani: terra firme) que instalou-se o Laboratório, a princípio um anexo do Instituto Bacteriológico, sendo Vital Brazil designado seu Diretor. Assim, em condições modestas e precárias, numa estrebaria adaptada, inicia-se a produção de soro antipestoso.

Além de desenvolver a produção do soro contra a peste, Vital Brazil prosseguiu seus estudos sobre as serpentes visando à obtenção de soros contra seus venenos. Os acidentes com mordidas de cobras eram responsáveis por cerca de 5.000 mortes por ano em todo o Estado. Nessa época, apareciam os primeiros trabalhos do francês Albert Charles Calmette (1863-1933) que havia obtido um soro contra o veneno da serpente *Naja tripudians*, na Indochina. Orientado e, porque não, inspirado por esses estudos Vital Brazil, já em 1898, havia preparado soros contra os venenos de serpentes brasileiras.

A 23 de fevereiro de 1901, seria oficialmente criado o Instituto Soroterápico do Estado de São Paulo, o futuro Instituto Butantan. Em junho desse ano foi entregue o primeiro lote de soros contra a peste bubônica e que foram extremamente eficazes no tratamento de enfermos da cidade de Sorocaba. Em

agosto viriam os primeiros frascos de soros antiofídicos. Como descrito acima, haviam sintomas distintos causados por jararacas e cascavéis. Vital Brazil iniciou o preparo dos soros específicos para os dois tipos de peçonha: o antibotrópico e o anticrotálico. A cada veneno correspondia um anti-soro específico capaz de proteger contra suas ações tóxicas.

Em dezembro de 1901, Vital Brazil demonstrou na Escola de Farmácia em São Paulo, que o soro de Calmette não protegia contra o veneno de nossas serpentes, comprovando sua descoberta sobre a especificidade dos soros antiofídicos. Relatou ainda o primeiro caso da cura de um indivíduo picado por jararaca e tratado com o soro específico, e anunciou a produção do soro polivalente, mistura dos soros contra os venenos de cascavéis e jararacas para tratar casos onde a espécie da serpente era desconhecida. Saliente-se que havia ainda o veneno das cobras coral cuja ação é mais tóxica que o da cascavel, agindo também no sistema nervoso.

Foi Vital Brazil quem demonstrou, pela primeira vez, o princípio da **especificidade antigênica**, assinalando a necessidade de obter-se anti-soros contendo anticorpos diferentes para neutralizar toxinas originárias de serpentes de gêneros distintos. Pouco tempo depois, Karl Landsteiner publicaria seus resultados sobre os grupos sanguíneos, trabalho que viria a ser considerado o marco do conhecimento sobre especificidade antigênica, recebendo o Nobel de 1930. Não houve menção ao trabalho pioneiro de Vital Brazil.

Entre Vital Brazil e Albert Calmette travou-se o primeiro embate envolvendo um cientista brasileiro e um estrangeiro, exatamente sobre a questão da especificidade. Calmette não reconhecia que o soro contra o veneno de *Naja* era incapaz de neutralizar as atividades tóxicas de outros venenos. Apenas após os estudos de Nicolas Maurice Arthus (1862-1945), pioneiro nos trabalhos sobre anafilaxia, que analisou as ações dos venenos das serpentes *Naja tripudians*, víbora de Russel e *Crotalus adamanteus*, separando-as em três tipos, e desenvolvendo os anti-venenos correspondentes, Vital Brazil recebeu a merecida razão. Os trabalhos sobre anafilaxia de Arthus, iniciados em 1903, foram responsáveis, também, pelos conhecimentos fundamentais sobre a especificidade antigênica. Nesses, ficou demonstrado de modo claro e elegante as relações entre as ligações antígenos-anticorpos levando a formação de imunocomplexos, e as reações inflamatórias locais severas.

Do ponto de vista metodológico, a diferença entre Vital Brazil e Arthus por um lado, e Calmette por outro, é algo digno de uma análise em maior profundidade. O desenvolvimento de soros

antiofídicos como conduzido por Vital Brazil pressupunha um entendimento exaustivo da taxonomia, da biologia das cobras venenosas brasileiras; assim, agia e experimentava sem o determinismo, ou o imediatismo que sempre acompanhou, e continua vigorando com os pesquisadores nos países desenvolvidos. Com base na origem dos venenos e proximidade filogenética das espécies fornecedoras dos mesmos, Vital Brazil foi capaz de classificar a sintomatologia. Uma vez assinaladas diferenças relevantes quanto à ação fisiológica de venenos distintos, obteve-se a base experimental que orientou os regimes de imunização de animais para produção de soros capazes de neutralizar os diferentes venenos das principais serpentes brasileiras, para demonstração inequívoca de um princípio mais geral: o da especificidade antigênica. Arthus se junta a este esforço de parcimônia, adicionando ao quadro sistemático, concebido e previamente testado por Brazil, algumas espécies asiáticas cujos venenos se estudava na França dada sua relativa importância em algumas colônias. Calmette, antes dele, havia procedido à imunização de animais para produção de soro anti-ofídico a partir de pools dos venenos de espécies variadas, sem nenhuma intuição da relevância da filogenia na tipologia dos venenos. Ao ignorar a taxonomia, Calmette desenhou experimentos que o impossibilitaram estabelecer ações típicas de cada

veneno tanto do ponto de vista sintomático, quanto fisiológico e terapêutico, passando ao largo, assim, da evidência biológica de especificidade antigênica. Calmette ateu-se aos efeitos mais severos do envenenamento (*i.e.* paradas respiratória e cardíaca) por espécies particularmente peçonhentas de ofídios. Com tal desenho experimental não pode observar variações significativas nas reações fisiológicas a cada veneno, atribuindo a pouca variabilidade na rapidez de apresentação dos sintomas drásticos à quantidade de uma suposta neurotoxina idêntica em todas as espécies. Algo como tentar estabelecer a constante de afinidade entre enzima e substrato no *plateau* de saturação da curva de ligação entre ambos...

Por fim a tese da tese: a especificidade demonstrada por Vital Brazil revelou-se um conceito definitivo em várias áreas do saber biológico, ampliando-se nas várias Disciplinas biológicas – médicas, como na Imunologia, Bioquímica, Toxinologia, Farmacologia, Fisiopatologia, etc. Outro aspecto importante que aprende-se sobre os fragmentos históricos aqui relatados, relaciona-se à geração de conhecimentos que, diferentemente dos impactos e modismos que contaminam as ciências, condicionam os ditos gênios que proliferam no meio acadêmico, pode realizar-se em qualquer área do saber, distante ou limitado pelas tecnologias crescentes que promovem o pior dos assédios: o intelectual. Pensar na ciência inclui o exercício da sensibilidade e da percepção. Inclui o arriscar!

Descritores: Alergia e Imunologia/história. Inflamação/imunologia.

Key Words: Allergy and Immunology/history. Inflammation/Immunology.