

MEMÓRIAS
DA
ACADEMIA DAS CIÊNCIAS
DE
LISBOA

CLASSE DE CIÊNCIAS

TOMO XLVI

A passagem do tempo em Ciência

MARIA DE SOUSA



ACADEMIA DAS CIÊNCIAS
DE LISBOA

LISBOA • 2019

A passagem do tempo em Ciência

Maria de Sousa

PREÂMBULO

Deveria talvez prefaciá-la fazendo referência à razão que este Verão provocou o meu pedido para mudança do título desta apresentação. O título que tinha submetido originalmente à Secretária Geral da Academia era “Imunologia antes de Imunidade”. Mas este Verão, durante a minha estadia e participação na finalização de trabalho feito por membros do Laboratório em Cornell Medical College a que estou ligada em parte pela co-orientação com David Lyden de um aluno de Doutoramento em Nova Iorque, tive uma experiência que me obrigou a pensar na natureza da passagem do tempo em Ciência. Assim, um título talvez mais apropriado para esta intervenção seria contraste entre a passagem do tempo em Ciência e a passagem do tempo no cientista ou simplesmente passagens do tempo em Ciência.

MARCAS DA PASSAGEM DO TEMPO

Nos seres vivos

A marca da passagem do tempo num(a) cientista no meu caso, ocorrendo num ser vivo deixa marcas que nesta Academia todos conhecemos: uma perda subtil e progressiva das funções cognitivas, rugas, a que as mulheres são particularmente sensíveis, o enriquecimento de poder lembrar coisas distantes e passadas, por que todos estamos gratos, a contribuição com a procriação de filhos e filhas de novas gerações marcadas por datas de nascimento, bolos de aniversário e um número crescente e, com o tempo, decrescente, de velas nos bolos.

Por outras e mais simples palavras o tempo para um ser vivo, cientista ou não, é uma qualidade que se conta. Marcada pelo número de novas camadas de netos e bisnetos, pelo número de velas nos bolos de aniversário, pelo número de nomes de pessoas e lugares cujos nomes nos começam a falhar, pelo número crescente de amigos e conhecidos que vão desaparecendo das nossas agendas, até ao nosso mortal fim.

A passagem do tempo para um ser vivo tem assim marcas claras de princípio e fim.

No que se sabe.

A minha pergunta hoje é se a passagem do tempo em Ciência conduz o que se sabe a ter rugas como numa mulher velha, a transformar-se em ruínas como acontece com os palácios, ou a ficar só ossos como acontece com os seres vivos mortos e enterrados. Ou se, pelo contrário, qual *milagre*, o conhecimento uma vez começado nunca mais morre, no sentido que sabemos acontecer aos seres vivos.

Esse “milagre” pode talvez ser melhor apreciado por cientistas com uma vida longa, como é o meu caso.

A experiência deste verão teve a sua origem numa descoberta no laboratório dirigido pelo meu colega David Lyden na área da metastização tumoral. A análise proteómica da expressão de integrinas em exosomas derivados de células tumorais com diferentes tropismos metastáticos revelou diferenças no tipo de integrinas expressas ligadas a diferentes tropismos (Hoshino *et al.*, 2015¹). Resultados já por si poderosos, com a observação adicional de poder educar o destino das células tumorais com o pré-tratamento do hospedeiro com exosomas contendo estas ou aquelas integrinas. Como se tudo isto não fosse só por si de considerável importância básica para a compreensão do mecanismo de migração e destino de células malignas, acesso a histórias e relatórios de autópsia de doentes vindos de outros grupos permitiram demonstrar a sua aplicação em poder prever quem iria ter ou não metástases.

Porque é que de um ponto vista pessoal, estes resultados com as integrinas me levaram a pensar e a ser tão sensível à questão da passagem do tempo em Ciência?

1976

A minha primeira contribuição científica foi no domínio da migração e destino de linfócitos em 1966² que levou à publicação em 1981 de um livro que poderão encontrar na biblioteca da Academia publicado em 1981, precisamente sobre “Experimental and Clinical aspects of Lymphocyte circulation”³.

Em 1976, eu publiquei um artigo de revisão que poderão encontrar também hoje na biblioteca sobre tráfico celular⁴. Nele dediquei uma das secções ao tráfico de células a que chamei em inglês: “unwanted”, sendo talvez a expressão “não desejada” a melhor tradução em português. O subtítulo dessa secção era *O problema das metástases*. Terminava assim:

“Thus adhesive interactions between circulating and resident cells seem to play an important role in the control of metastatic spread.”

Imaginava então semelhanças entre a circulação dos linfócitos e a circulação de células malignas, dizendo:

“In essence, however, the mechanism determining the ultimate destination of a lymphocyte or a tumor cell must be the same resulting from the interaction of the circulating cell with resident cells...”⁴

Em 1976 não se sabia que as integrinas viriam a ser as responsáveis pelas interações adesivas mencionadas. Com efeito, as moléculas de adesão que viriam a ser integrinas vieram primeiramente a chamar-se *very late antigens* (VLAs). As VLA foram primeiramente identificadas por Takada, Strominger e Hemler, onze anos mais tarde, em 1987 num artigo publicado por Takada, Strominger e Hemler no Proceedings of National Academy of Sciences⁵:

“as having evolved as four subgroups in a highly conserved supergene family of receptors involved in fundamentally important functions, such as cell adhesion, migration, and embryogenesis”

Mais tarde, veio a reconhecer-se a sua importância na interacção com componentes da Matrix Extra Celular tais como laminina, fibronectina, os colagénios e outros (revisto nas referências 6 e 7).

1991

Em 1991, num trabalho que também está hoje na biblioteca, publicado com o meu colega George Kupiec Weglinski⁸, demonstrámos que o pré-tratamento de ratos com um anticorpo anti-laminina diminuía a entrada de linfócitos nos gânglios linfáticos e num enxerto de coração sublinhando a importância das interacções dos linfócitos com componentes da matriz extracelular na determinação do seu destino. Os modelos de transplantação têm sido extremamente úteis para a compreensão dos mecanismos de migração e posicionamento de linfócitos dependentes da interacção das integrinas com componentes da matriz extracelular. Dá-me particular alegria poder dizer nesta assembleia que muito desse trabalho em migração de linfócitos em aloenxertos tem sido feito com algum impacto por uma antiga aluna do Mestrado de Imunologia no Porto, seus alunos e colaboradores. A. J. Coito é hoje Professora Catedrática na Universidade da Califórnia em Los Angeles, UCLA⁹⁻¹¹.

De 1975 a 2015

De 1975 a 2015 vão 40 anos. Uma vida dentro de uma longa vida. Mesmo assim, a impressão reavivada e reavivada pelo trabalho demonstrando a importância das integrinas na metastização é de que o tempo não passou.

Embora a impressão pessoal e uma pequena e curta história numa vida longa sejam importantes. Mais importante é o facto que grandes descobertas em Ciência dão a ilusão de que o tempo não passa.

SERÁ ASSIM COM TODAS AS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS?

Ou, repito, a passagem do tempo em Ciência pode também levar o que se sabe, a ter rugas, a transformar-se em ruínas e em ossos como acontece com os seres mortos e enterrados. Ou se, pelo contrário, qual milagre, um conhecimento uma vez adquirido, nunca mais morre, no sentido que sabemos acontecer aos seres vivos.

O que acontece ao *saber* que novas tecnologias fazem desaparecer? Entre os biólogos nesta audiência, todos nos lembramos de um tempo em que “factores” faziam parte do *saber*. Do *saber*, ou de saber? “Factores”, “actividades” eram, em geral, produtos que se podiam isolar dos sobrenadantes de células, que se chamavam factores porque efectivamente só sabíamos o que faziam, não o que eram. O mesmo se pode dizer do que durante muito tempo para muitos se chamava estroma. O estroma era uma espécie de tapete, de estrutura no *background* que atapetava os órgãos; creio que não se imaginava ser uma estrutura imensamente complexa constituída por muitíssimos componentes com funções muito para além de servirem como infraestruturas inertes.

Portanto, alguma passagem do tempo em Ciência tem semelhanças ao envelhecer dos seres vivos. Das ruínas dos factores, de que não mais se fala hoje, apareceram, por exemplo, em Imunologia, nas citocinas e nas interleucinas foram identificadas proteínas bem definidas como a lactoferrina, a ferritina, etc. Do esqueleto do estroma, que hoje se designa matrix extracelular, veio a ser possível identificar um a um, um imenso número “de ossos”, proteínas com estruturas hoje conhecidas, com resíduos com funções bem definidas, longe, bem longe do que se pensava ser uma massa inerte com uma função exclusiva de suporte.

Como se a aurora da Biologia e Genética Molecular, influenciando a Bioquímica e a produção de anticorpos monoclonais, tivessem transformado, aquecendo e dando movimento a estátuas que em

geral se viam ao microscópio, ou actores invisíveis cujas acções na peça de teatro que estudávamos se adivinhavam *in-vitro* ou injectando-os na forma de fluídos em animais experimentais.

O MOMENTO FLEMING

Debrucemo-nos agora sobre a incontestável contribuição de uma grande descoberta científica em Biomedicina a que chamarei “O momento Fleming”.

O momento Fleming com a observação de um fungo que afectava o crescimento de algumas bactérias em placas que Fleming tinha deixado em cima da bancada enquanto em férias. O artigo, em que Fleming descreve detalhadamente essas observações, foi publicado em 1929¹². Todos nos lembramos como se esse momento tivesse acontecido na semana passada. Em 1944, numa Oração de Robert Campbell, dada em Belfast, Fleming conta a sua história desde estudante de Medicina, à descoberta, à impossibilidade de testar o valor terapêutico da penicilina até à contribuição da equipa de Howard Florey em Oxford que em 1938 dedicou a recuperá-la e a transformá-la num dos maiores avanços na prática da medicina dos últimos cem anos, num trabalho publicado anos mais tarde, em 1940¹⁵ pelo que vieram a receber o prémio Nobel de Fisiologia e Medicina, Florey, Chain e Fleming em 1945.

O tempo em Ciência parece assim não passar com descobertas que vão tocar a vida humana e a sua sobrevivência de uma forma decisiva.

A não passagem do tempo da observação cuidada.

Curiosamente o tempo em Ciência também não passa com a descrição cuidada de uma observação, que o aparecimento de novas tecnologias de revelação não faz desaparecer como no caso dos factores e actividades, reforçando e clarificando pelo contrário a sua existência. O caso talvez mais famoso de uma observação cuidada que não passou com o tempo é o estudo da “textura” do sistema nervoso por Ramón y Cajal^{16,17}, trabalho também premiado com o Prémio Nobel da Fisiologia e Medicina em 1906.

Menos famoso mas mais relevante para esta apresentação é mais uma vez a experiência pessoal do tempo que não passa com uma observação cuidada e nova. Uma experiência, que, mais uma vez, eu tive surpreendentemente com o mapeamento daquilo a que chamámos originalmente a área dependente do timo, que hoje é geralmente conhecida por área T, que eu descrevi e desenhei pela primeira vez em 1964/65, no artigo já referido publicado em 1966². O artigo fará 50 anos no próximo dia 1 de Janeiro de 2016. E como podem ver novas tecnologias com anticorpos monoclonais e marcadores fluorescentes só a vieram cristalizar e embelezar no tempo¹⁸.

A IMUNOLOGIA ANTES DA IMUNIDADE

Para terminar vou voltar ao título que comecei por submeter à Academia: “A Imunologia antes da Imunidade”. Um perigo inerente ao tempo não passar em Ciência, é não passar também na forma como pensamos. Pensa-se, tem-se pensado desde Jenner (1749-1823), no século XVIII a imunidade como uma função, que tal como a penicilina, nos afeta a todos e que todos percebemos. O poder do conceito de imunidade tem sido tal, que tanto no séc. XIX, como no século XX, tudo o que se foi sabendo sobre anticorpos, células e moléculas associadas à resposta a patógenos foi sendo incorporado num sistema que se veio a chamar sistema imunitário. No entanto, hoje sabe-se que a complexidade dos

componentes desse sistema é tal que é provável que o sistema tenha muito mais funções de regulação e manutenção da homeostasia para além da defesa de infecções, incluindo interacções funcionais com o sistema neurológico dando origem a uma área denominada neuroimunologia.

Mas um conceito forte em Ciência, apoiado pela sensação do tempo que não passa, corre o risco de se transformar num dogma que acaba por reduzir as oportunidades de mudança, o financiamento dos mais criativos e o aparecimento de verdadeiras novas formas de pensar.

Em conclusão, nem tudo tem o sabor de milagre quando o tempo não passa em Ciência. Pelo contrário, a paragem de conceitos científicos no tempo, na minha perspectiva, deveria ser hoje motivo de alguma preocupação.

HEMUNOLOGIA

Vou dar um último exemplo relativo só a uma das células do sistema imunológico, o macrófago. Eu estou muito interessada na fronteira entre o sistema imunológico e o metabolismo do ferro, uma fronteira tão larga que se pode considerar um país de conhecimentos novos a que dei o nome de Hemunologia em De Sousa e Brock, 1989¹⁹.

O macrófago é uma célula chave nessa fronteira por fagocitar as células vermelhas envelhecidas, contribuindo para a manutenção dos valores do ferro circulante. Se, no entanto, fizemos uma busca na base de dados *PubMed* de número de publicações perguntando quantas publicações há sobre eritrofagocitose, o valor é 323, se fizemos a mesma pesquisa para macrófagos a resposta imune é o número 18, 214 (ver nota pessoal com dados actualizados em Junho de 2016).²⁰

O papel das Academias.

Deveria ser o dever de organizações como esta Academia contrariar o poder que transforma conceitos em dogmas, dogmas em financiamento de projectos e resultados esperados, numa espécie de encurralar intelectual, perigoso para sociedades que se dizem querer estimular a inovação e que clamam ser democracias modernas.

Nada inovador poderá acontecer se não se estimular a participação dos mais novos nas Academias, isto é, de gente entre os 30 e 40 anos como eu tinha há 40 anos, com contribuições claras e prometedoras.

Gente que anos mais tarde, poderá ter surpreendentes histórias para contar como as que pacientemente tiveram a amabilidade de acabar de ouvir. Muito obrigada.

(Comunicação apresentada à Classe de Ciências
na sessão de 8 de outubro de 2015)

REFERÊNCIAS

- ¹ Hoshino A¹, Costa-Silva B¹, Shen TL^{1,2}, Rodrigues G^{1,3}, et al., 2015 Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015 Nov 19; 527 (7578):329-35. doi: 10.1038/nature15756. Epub 2015 Oct. 28.
- ² Parrott DV, De Sousa MA, East J. 1966 Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice. *J Exp. Med.* 1966 Jan 1;123(1):191-204
- ³ De Sousa, M. 1981 Lymphocyte Circulation. *Experimental and Clinical Aspects of the Circulation of Lymphocytes*. John Wiley, Chichester.
- ⁴ De Sousa, M 1976 Cell traffic in Receptors and Recognition, PCuatrecasas and M Greaves, Springer Science.

- ^{5.} Takada Y, Strominger JL, Hemler ME. 1987 The very late antigen family of heterodimers is part of a superfamily of molecules involved in adhesion and embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 84(10):3239-43.
- ^{6.} de Sousa M¹, Tilney NL, Kupiec-Weglinski JW. Recognition of self within self: specific lymphocyte positioning and the extracellular matrix. *Immunol Today.* 1991 Aug; 12 (8):262-6.
- ^{7.} de Sousa M¹ 1994 Lymphocyte traffic and positioning in vivo: an expanded role for the ECM, the VLA proteins and the cytokines. *Pathol Res Pract.* 190 (9-10):840-50.
- ^{8.} Kupiec-Weglinski JW¹, De Sousa M.1991 . Lymphocyte traffic is modified in vivo by anti-laminin antibody *Immunology.* 72(2):312-3.
- ^{9.} Coito AJ, de Sousa M, Kupiec-Weglinski JW.2000 Fibronectin in immune responses in organ transplant recipients. *Dev Immunol.* 2000;7(2-4):239-48. Review.
- ^{10.} Duarte S¹, Baber J¹, Fujii T¹, Coito AJ². 2015 Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis *Matrix Biol.*;44-46:147-56. doi: 10.1016/j.matbio.2015.01.004. Epub 2015 Jan 16.
- ^{11.} Coito AJ¹. 2011 Leukocyte transmigration across endothelial and extracellular matrix protein barriers in liver ischemia/reperfusion injury. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011 16(1):34-40. doi: 10.1097/MOT.0b013e328342542e.
- ^{12.} Fleming A., 1929 On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B.Influenzae. *Brit.J expt Pathol.* 10; 226-236.
- ^{13.} Fleming A. 1944. Penicillin: The Robert Campbell Oration. *Ulster Med J.*13 (2):95-122.2.
- ^{14.} In Fleming A. 1944. *You may then say: "Why was there a gap of ten years between these findings and the real use of penicillin as a therapeutic agent?" As regards myself the reason was quite simple. I was a bacteriologist working in a laboratory where there was no skilled chemist. We made some amateur efforts at concentrating the penicillin without much success. The crude filtrate was very weak. We made some tentative trials of it as a dressing, chiefly on old sinuses, and the results were good, but not miraculous. When we asked the surgeons if they had any septic cases, they never had any, and then perhaps a septic case would turn up and we had no penicillin, for it was an unstable substance, and if left at room temperature for a week its activity had disappeared. When we had penicillin we could not find suitable cases, and when a suitable case presented itself we had- no penicillin.*
- In this way therapeutic use lapsed, but I continued during these ten years to have a small amount of penicillin in the laboratory for purposes of differential culture, and exceedingly valuable I found it, especially for the isolation of the influenza and whooping-cough bacilli.
- In 1930 Raistrick and his collaborators made some important observations. They showed that the mould would make penicillin in a simple synthetic medium, and that it could be extracted with acid ether. Lack of bacteriological co-operation, however, hampered their work, and having obtained certain results they published them, and transferred their attention to other problems.
- So the matter rested until in 1938 Chain and Florey at Oxford, having completed their work on lysozyme, took up a study of antibiotics and, having consulted the literature, -considered that penicillin offered promise. They used my culture of the mould and Raistrick's synthetic medium, and by rapid extraction with acid ether at a low temperature they were able to concentrate penicillin and to dry the final product so that it remained relatively stable. They then showed that a very small amount of the concentrated penicillin would cure mice of experimental infections. They continued their work and succeeded in preparing sufficient to treat a certain number of patients.
- ^{15.} Chain, E., H. W. Florey, A. D. Gardner, N. G. Heatley, M. A. Jennings, J. Orr-Ewing, and A. G. Sanders: Penicillin as a chemotherapeutic agent. *Lancet*, 1940, ii, 226. 7. L
- ^{16.} CAJAL, S.R. (1894). Consideraciones generales sobre la morfología de la célula nerviosa. Moya, Madrid.
- ^{17.} CAJAL, S.R. (1899-1904). Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Moya, Madrid. CAJAL SR (1903a). Sobre un sencillo pro
- ^{18.} Bajénoff M¹, Glaichenhaus N, Germain RN.2008 Fibroblastic reticular cells guide T lymphocyte entry into and migration within the splenic T cell zone. *J Immunol.*181:3947-54.
- ^{19.} De Sousa, M and Brock J (eds) 1989 Iron in Immunity, Cancer and Inflammation. John Wiley and Sons, Inc.
- ^{20.} Nota pessoal em Junho de 2016. Os números obtidos na base de dados Pubmed em Junho de 2016 eram os seguintes: erythrophagocytosis, 1734; Macrophage and immunity: 48 809.