



Ciências Biológicas

Cadernos CB Virtual 5

❖Rafael Angel Torquemada Guerra (Org.)

❖Ana Carolina Luchiari ❖Claudio Bezerra Santos

❖Lucilene Gomes da Silva Medeiros ❖Luiz Carlos Serramo Lopez

❖Paulo César Geglio ❖Sávio Torres de Farias

❖Zelma Glebya Maciel Quirino



**Universidade Federal da Paraíba
Universidade Aberta do Brasil
UFPB VIRTUAL**

COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS À DISTÂNCIA

Caixa Postal 5046– Campus Universitário - 58.051-900 – João Pessoa

Fone: 3216-7781 e 8832-6059

Home-page: portal.virtual.ufpb.br/biologia

UFPB

Reitor

Rômulo Soares Polari

Pró-Reitor de Graduação

Valdir Barbosa Bezerra

UFPB Virtual

Coordenador

Lucídio dos Anjos Formiga Cabral

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Diretor

Antônio José Creão Duarte

Departamento de Sistemática e Ecologia

Chefe

Juraci Alves de Melo

**Curso de Licenciatura em Ciências
Biológicas à Distância**

Coordenador

Rafael Angel Torquemada Guerra

Coordenação de Tutoria

Lucilene Gomes da Silva Medeiros

Coordenação Pedagógica

Isolda Ayres Viana Ramos

Coordenação de Estágio

Paulo César Geglio

Apoio de Designer Instrucional

Luizângela da Fonseca Silva

Artes, Design e Diagramação

Romulo Jorge Barbosa da Silva

Apoio Áudio Visual

Edgard Adelino Ruiz Sibrão

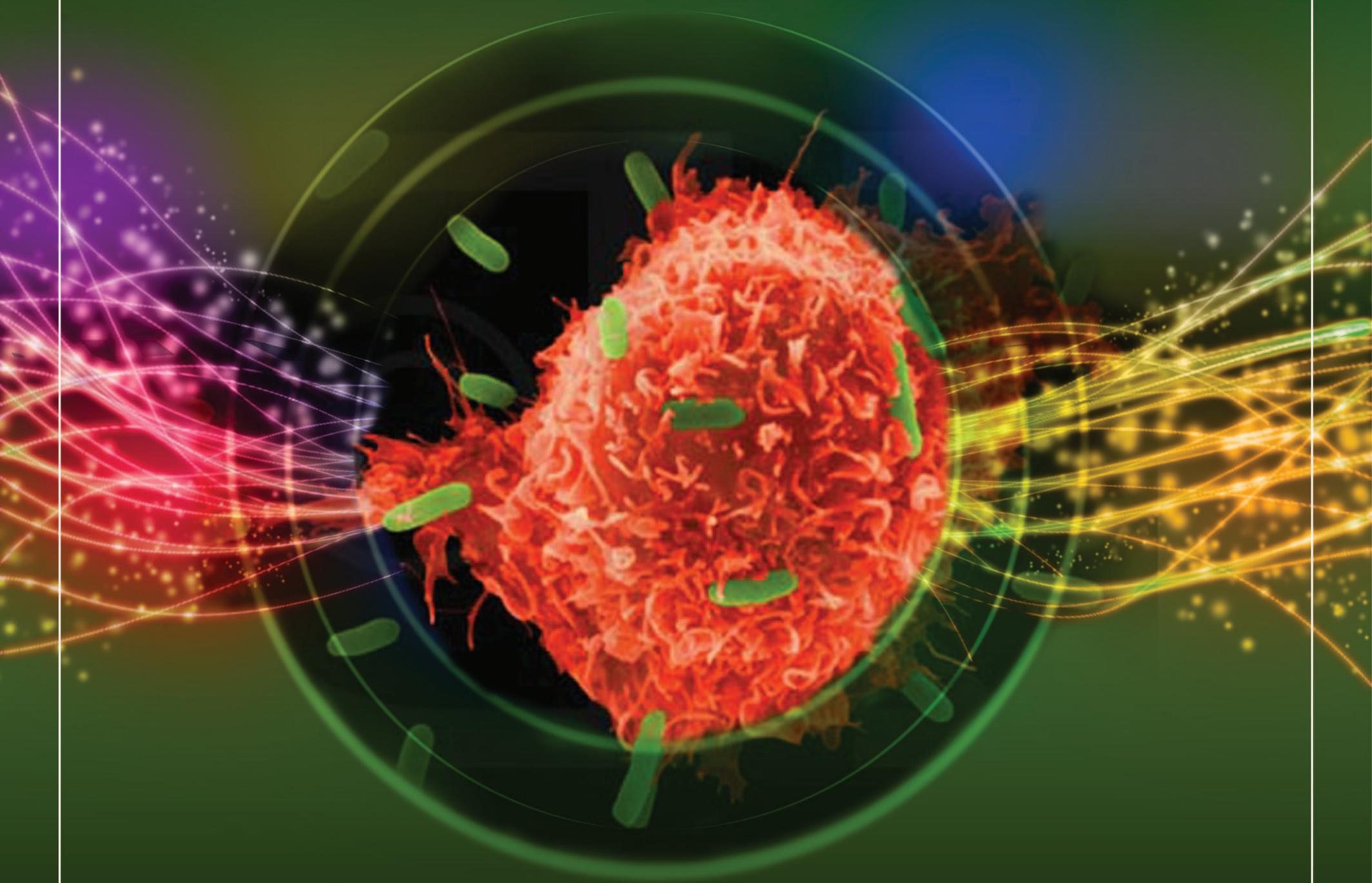
Ilustrações

Christiane Rose de Castro Gusmão

C 569 Cadernos Cb Virtual 5 / Rafael Angel
Torquemada Guerra ... [Org.] -
João Pessoa: Ed. Universitária, 2010.
422p. : Il.
ISBN: 978-85-7745-536-2
Educação a Distância. 2. Biologia
I. Guerra, Rafael Angel
Torquemada Guerra.
UFPB/BC CDU: 37.018.43

Este material foi produzido pelo curso de Licenciatura em Ciências Biológicas à Distância da Universidade Federal da Paraíba. A reprodução do seu conteúdo esta condicionada a autorização expressa da UFPB.

Imunologia III



Claudio Bezerra Santos

APRESENTAÇÃO DA DISCIPLINA

A ciência Imunologia estuda os mecanismos de defesa dos seres vivos responsáveis pela eliminação dos agentes causadores de doenças como bactérias, vírus, fungos, parasitos e substâncias estranhas que após invasão do organismo podem causar danos teciduais.

Com o grande número de descobertas na área da Imunologia, atualmente esta ciência apresenta várias subáreas que permitem o estudo mais profundo da imunidade.

- A imunologia celular estuda as diferentes populações de células envolvidas nas respostas imunes como as células fagocitárias e os linfócitos conhecidos como as principais células da resposta imunológica;

- A imunoparasitologia estuda os mecanismos de defesa contra os parasitos helmintos e protozoários. Devido ao avanço deste ramo da Imunologia algumas vacinas vêm sendo desenvolvidas contra a doença leishmaniose;

- A imunologia tumoral tenta elucidar como as respostas imunes controlam e eliminam células em transformação e cancerígenas. Atualmente existem algumas imunoterapias para o câncer baseadas no uso de anticorpos, células manipuladas em laboratório e substâncias produzidas por células da resposta imune, as citocinas;

- Na imunofarmacologia estudam-se os efeitos de novas substâncias com o potencial de regular a resposta imunológica. Um exemplo clássico da contribuição desta subárea para a saúde pública foi a introdução dos medicamentos imunossuppressores utilizados em pacientes transplantados;

- O estudo da imunogenética vem permitindo identificar os genes responsáveis por doenças importantes que afetam o sistema imunológico como a artrite reumatóide (AR), o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e o diabetes do tipo I;

- Os mecanismos da auto-imunidade têm sido alvo de muita investigação pelos imunologistas. Há inúmeras doenças do sistema imune que podem causar danos ao organismo como o diabetes do tipo I, eclampsia, vasculites e anemias auto-imunes além da AR e LES, citados acima;

- As doenças alérgicas também são de grande interesse dos imunologistas. Centenas de milhões de pessoas no mundo sofrem de algum tipo de doença alérgica. A asma, rinosinusite alérgica, urticárias e choque anafilático são alguns exemplos.

- Na imunologia clínica, o uso de várias técnicas de laboratório como o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a separação de células ativada por fluorescência (FACS) permitem o diagnóstico preciso das doenças permitindo o início da terapêutica.

Como podemos observar o estudo da ciência Imunologia é de fundamental importância para a formação dos profissionais da área biológica uma vez que as interações entre os microorganismos e substâncias estranhas causadores de doenças com os organismos vivos (ex. seres humanos), a instalação da doença ou manutenção da homeostasia dependem da participação do sistema imunológico.

Este livro apresenta os mecanismos da imunidade desde aqueles mais simples – imunidade intata – até aqueles mais sofisticados como a resposta imune adaptativa.

IMUNOLOGIA III

Prof. Cláudio Bezerra Santos

UNIDADE 1

O SISTEMA IMUNE ELIMINA OS ANTÍGENOS ESTRANHOS

1. OS ANTÍGENOS ESTRANHOS CAUSAM DOENÇAS

Podemos chamar de **antígeno** (Ag) qualquer **agente infeccioso** ou substância capaz de ser reconhecida pelo sistema imune. Os Ag estranhos são representados pelas bactérias, vírus, parasitos, fungos e substâncias estranhas que podem causar doenças (Figura 1). O sistema imunológico deve eliminar os Ag estranhos impedindo o desenvolvimento do processo infeccioso.

Para uma molécula seja considerada Ag estranho é necessário que esta apresente algumas propriedades, tais como:

- Ser estranho: o sistema imunológico sadio deve se ativar apenas contra substâncias ou microorganismos patogênicos e, tolerar as moléculas e tecidos do organismo;
- Alto peso molecular: moléculas de baixo peso molecular não ativam a resposta imune dependente de linfócitos T;
- Imunogenicidade: um Ag estranho deve ser capaz de ativar o sistema imunológico;
- Antigenicidade: ser alvo dos mecanismos de defesa da resposta imune como os anticorpos ou imunoglobulinas.

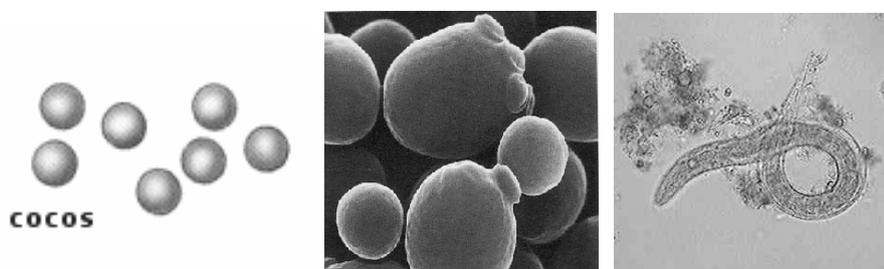


Figura 1. Antígenos estranhos.

Observamos três tipos de Ag estranhos da esquerda para direita: bactérias na forma de cocos, fungos leveduriformes e um parasito helminto. As imagens podem ser encontradas nos sites:

Fonte: http://www.naquelesite.com/profcharles/wp-content/uploads/2009/10/faecimg_monera5.gif,
<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/fungos/imagens/fungos-unicelulares.jpg>,
<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/filo-asquelmintes/imagens/larva.jpg>

Algumas substâncias apresentam antigenicidade, porém não são capazes de ativar o sistema imune, os haptenos (Figura 2). Eles são desprovidos de elevados pesos moleculares e para se tornarem Ag estranhos devem se ligar a proteínas (carreador) do organismo. O conjunto hapteno-carreador é facilmente reconhecido pelo sistema imunológico. Um exemplo clássico é o metal níquel que provoca dermatite de contato em alguns indivíduos. O níquel se complexa com proteínas adquirindo o status de Ag estranho.

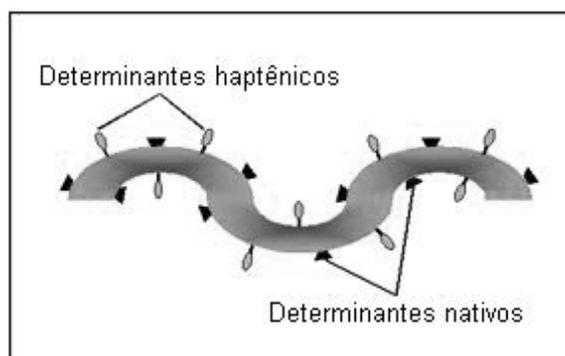


Figura 2. Hapteno

Observe os determinantes haptênicos ou antigênicos, estruturas que se ligam em proteínas próprias formando o complexo hapteno-carreador que apresenta elevado peso molecular. O hapteno não ativa o sistema imunológico isoladamente.

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap3fig3web.gif>

Os Ag estranhos podem ser classificados de acordo com a natureza em biológicos (microorganismos e transplantes não compatíveis) e não biológicos como metais (ex. níquel), talco, cosméticos, medicamentos, pigmentos entre outros.

Os Ag de natureza biológica ainda podem ser classificados de acordo com a natureza química: protéicos, sacarídicos, lipídicos e nucléicos. Dependendo da natureza química do Ag, o sistema imunológico do indivíduo pode desenvolver diferentes tipos de respostas de defesa. As bactérias, vírus, fungos, parasitos helmintos e protozoários apresentam proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucléicos nas suas constituições. Os tecidos e órgãos transplantados não compatíveis também podem ser reconhecidos como estranhos pelo sistema imunológico do indivíduo receptor levando a uma reação de rejeição ou morte do órgão enxertado.

Os Ags protéicos são os mais importantes para o sistema imunológico porque ativam diferentes populações de células de defesa especializadas em diferenciar os peptídeos presentes nos microorganismos causadores de doenças com aqueles do nosso organismo. Nas próximas seções deste livro estudaremos as células e como estas discriminam os peptídeos estranhos daqueles próprios também chamados *Ags próprios*.

Os Ags sacarídicos estão presentes em diversos microorganismos patogênicos. As bactérias gram-negativas apresentam uma grande quantidade de carboidratos de superfície facilitando o reconhecimento deste Ag pelo sistema imunológico. Os lipídeos e ácidos nucléicos de microorganismos patogênicos também são reconhecidos e eliminados. O lipopolissacarídeo de membrana externa de bactéria (LPS) é um exemplo de estrutura bastante conservada em várias bactérias e que serve de referência para o reconhecimento pelo sistema imunológico.

Vale a pena salientar que as proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucléicos presentes em Ag estranhos apresentam estruturas diferentes das nossas moléculas e por isso devem ser atacadas e eliminadas pelo sistema imunológico.

Por outro lado, alguns indivíduos realizam respostas de defesa defeituosas contra Ag geralmente inertes para a maioria da população como o níquel presente em bijuterias, alguns pós como o talco, pigmentos presentes em alimentos, cosméticos, materiais de próteses entre outros. Nestes casos observa-se o desenvolvimento de doenças com alta prevalência das alergias e doenças auto-imunes.

Tanto nos casos dos Ag de natureza biológica ou não, o sistema imunológico desenvolve diferentes estratégias de defesa para eliminação dos agentes infecciosos. Os mecanismos pelos quais o sistema imunológico do indivíduo realiza as suas funções de proteção serão discutidos mais adiante neste livro.

A primeira linha de defesa contra os Ag estranhos são as barreiras externas de defesa. A seguir discutiremos como a pele, as mucosas, pêlos, unhas, queratina e outras barreiras naturais de defesa atuam impedindo a penetração, proliferação e até mesmo realizando a eliminação dos Ag no organismo dos seres vertebrados inclusive os humanos.

2. A RESPOSTA IMUNE INATA É FORMADA POR BARREIRAS DE DEFESA

2.1 AS BARREIRAS EXTERNAS DE DEFESA

O sistema imunológico é formado por barreiras de defesa externa e interna. As respostas de defesa podem ser classificadas em respostas inatas ou adaptativas. As respostas inatas apresentam baixa especificidade pelos Ag estranhos, apresentam sempre a mesma intensidade e não têm memória o que significa que as respostas inatas não melhoram em qualidade ou intensidade a medida que o indivíduo se expõe ao mesmo Ag ao longo do tempo. Por outro lado, as respostas imunes adaptativas são capazes de discriminar diferenças estruturais mínimas entre os Ag estranhos e, portanto realizam estratégias de defesa mais sofisticadas e eficazes. Além disso, as respostas adaptativas apresentam memória imunológica que garante respostas de defesa mais rápidas e intensas permitindo a eliminação dos Ag antes mesmo do aparecimento de sinais e sintomas da doença.

Os seres vertebrados em geral apresentam barreiras externas de defesa que podem ser classificadas de acordo com a natureza: física, química e biológica (Figura 3).

2.2 BARREIRAS FÍSICAS

As barreiras físicas são representadas principalmente pela pele, superfícies mucosas, unhas e pêlos. Esses componentes de defesa são importantes barreiras que se contrapõem a entrada dos microorganismos porque servem para impor um limite entre o meio interno (células, tecidos e órgãos) e o meio externo.

A pele intacta é quase que totalmente intransponível a microorganismos com exceção da forma infectante do parasito *Schistosoma mansoni* (cercária) causador da doença esquistossomose popularmente conhecida como barriga d'água. Adicionalmente, os pêlos e unhas funcionam como "filtros" reduzindo o número de partículas estranhas que entram em contato direto com a pele. A descamação da pele bem como a produção de queratina representa barreiras de defesa contra Ag estranhos.

Algumas respostas fisiológicas são tipicamente respostas de defesa como o espirro que consiste em uma resposta reflexa que elimina partículas estranhas presentes nas vias aéreas superiores. Os processos diarreicos também apresentam função de defesa uma vez que o aumento dos movimentos peristálticos acelera a eliminação de bactérias patogênicas que estão colonizando o trato intestinal e causando infecção. Adicionalmente, podemos citar o fluxo urinário como um importante mecanismo de defesa já que este é responsável pela eliminação de microorganismos capazes de causar infecções urinárias.

2.3 BARREIRAS QUÍMICAS

Além das barreiras físicas, uma variedade de substâncias como ácidos graxos, enzimas e peptídeos servem como barreiras químicas de defesa. Um exemplo aplica-se aos ácidos graxos, produzidos por glândulas sebáceas, que acidificam a pele. Esses ácidos diminuem a proliferação de bactérias e fungos impedindo o desenvolvimento das infecções cutâneas. O ácido clorídrico produzido no estômago também é um exemplo de barreira química. Em meio extremamente ácido quase nenhum microorganismo sobrevive.

A presença da enzima lisozima na lágrima também exemplifica a importância das barreiras químicas na prevenção das infecções oculares. Esta enzima tem afinidade por ligações O-glicosídicas presentes na parede bacteriana induzindo a quebra da estrutura e morte da bactéria. Isto explica porque nos expomos diariamente aos Ag estranhos presentes no ar e não apresentamos infecções oculares com frequência.

Alguns peptídeos de importância biológica apresentam funções de defesa a exemplo dos interferons (IFN) do tipo I: IFN- α e IFN- β . Esses peptídeos são genericamente chamados de citocinas e são secretados por células epiteliais infectadas por vírus. A produção e liberação dessas citocinas induzem proteção às células circunvizinhas ainda não infectadas impedindo assim a infecção de novas células pelos vírus e a disseminação destes pelo organismo. Assim, os IFNs são importantes antivirais endógenos. Além destes IFNs, existe ainda o IFN- γ que também induz imunidade contra vírus, mas que será estudado nos próximos capítulos deste livro.

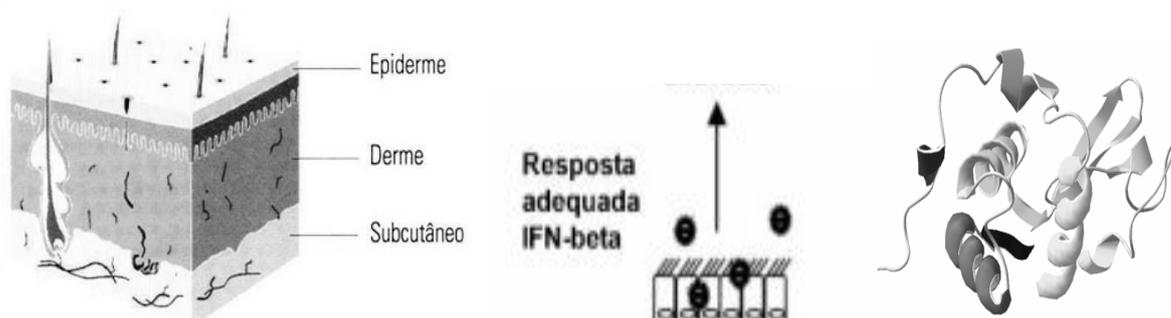


Figura 3. Barreiras de defesa

Observa-se da esquerda para a direita: a pele e os pêlos (barreiras físicas), células epiteliais infectadas por vírus liberando IFN- β e a estrutura da enzima lisozima responsável pela clivagem da parede bacteriana (barreiras químicas).

Fonte: http://www.herbos.com.br/herbos/gerencia/docs/Image/pele_01.jpg,

<http://www.asma-bronquica.com.br/images/Asma%20virus%202.jpg>,

<http://img.directopaladar.com/2008/09/lisozima.png>

2.3.1 VIA ALTERNATIVA DO SISTEMA COMPLEMENTO

Outra importante barreira química interna de defesa é o sistema complemento. Este constitui em um conjunto de cerca de 20 proteínas plasmáticas de origem hepática com função de lise osmótica, estimulação da resposta inflamatória e facilitação do processo de englobamento de partículas sólidas, fagocitose. As proteínas são representadas pela letra C seguido de um número, ex. (C1, C2, C3-C9). Outras proteínas com nomenclaturas diferentes completam o sistema. O

complemento se ativa na presença de Ag estranhos devido à afinidade do componente C3b por superfícies de bactérias e fungos. A ativação da via alternativa do complemento ocorre rapidamente eliminando os Ag estranhos presentes no sangue (Figura 4).

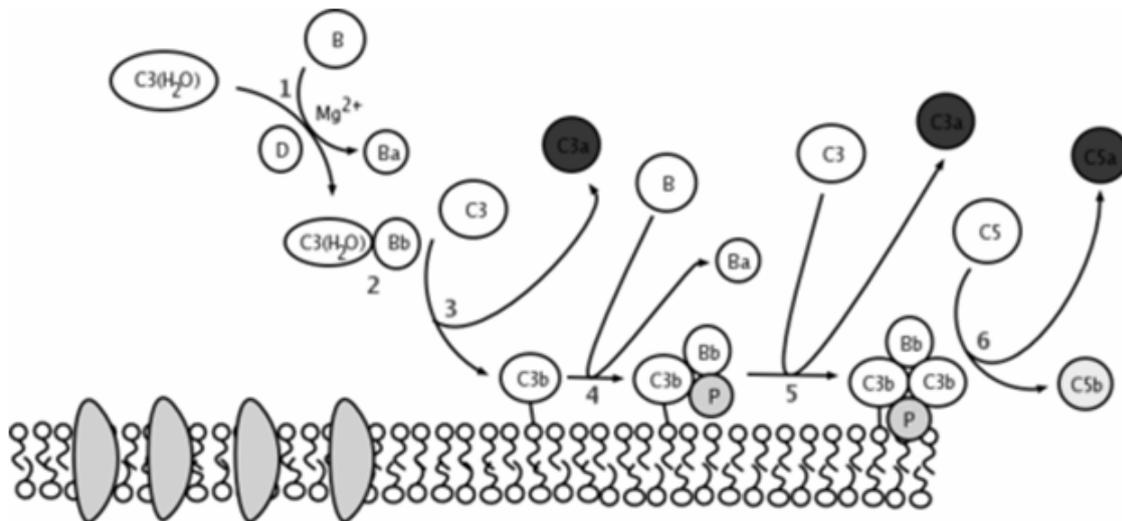


Figura 4. Via de ativação do sistema complemento.

A fase inicial da cascata de ativação é mostrada sobre a membrana do antígeno. Observe a clivagem do Fator B pelo Fator D na presença de Mg^{2+} seguida pela hidrólise de C3 para formação da enzima C3 convertase (C3bBb). A continuação da cascata de ativação resulta na formação da enzima C5 convertase (C3bBbC3b). Os demais componentes não são mostrados nesta figura.

Fonte: http://wikidoc.org/images/thumb/b/b2/Formowanie_MAC.svg/350px-Formowanie_MAC.svg.png

O componente C3 é sintetizado e clivado, por hidrólise, em níveis basais constantemente na corrente sanguínea. O fragmento gerado a partir da clivagem denominado C3b tem afinidade por componente da parede bacteriana e fungica (ex: zimosan). A ligação de C3b induz a ativação da via alternativa (independente de imunoglobulinas) do sistema complemento. Uma segunda proteína chamada Fator B é clivada pela proteína Fator D gerando um fragmento Bb que se liga ao fragmento C3b presente na membrana do Ag estranho. O dímero (C3bBb) formado recebe o nome de enzima C3 convertase da via alternativa. A geração desta enzima é considerada fundamental para o sucesso da ativação do complemento. A C3 convertase cliva o componente C3 presente no plasma fornecendo elevados níveis do fragmento C3a e C3b sendo este último capaz de ligar-se em diferentes regiões da membrana do Ag e servindo como ponto de partida para a ativação de novas cascatas. Este processo denomina-se de alça de amplificação.

O fragmento C3b gerado também se liga na C3 convertase formando um trímero C3bBbC3b denominado de enzima C5 convertase da via alternativa. Esta nova enzima tem afinidade e cliva o componente C5 presente no plasma gerando os fragmentos C5a e C5b. Este último liga-se na C5 convertase. Em seguida os demais componentes C6, C7, C8 e C9 são recrutados para membrana do Ag. A inserção de vários componentes C9 (poli-C9) leva a formação de um poro que atravessa completamente a membrana do Ag. Este poro é chamado de complexo de ataque a membrana, MAC (Figura 5).

A função do MAC é promover a lise osmótica da célula bacteriana ou fúngica. Ocorre um grande influxo de água e cálcio provocando a lise e a ativação de vias apoptóticas dependentes

de cálcio. Imagens de micrografia eletrônica revelam a presença de milhares de MACs na superfície bacteriana indicando que esta barreira de defesa é altamente eficaz na eliminação de Ag estranho presente na corrente sanguínea. Sabe-se que a produção diminuída de proteínas do complemento causa uma maior suscetibilidade a infecções bacterianas e fúngicas, doença chamada de imunodeficiência.

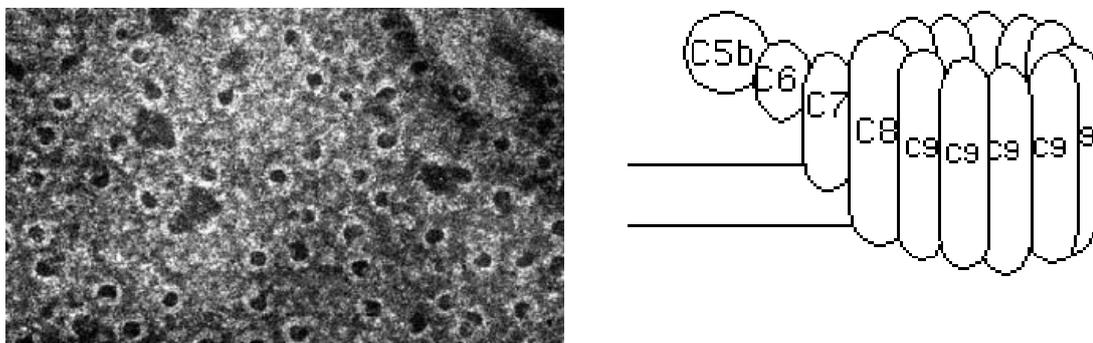


Figura 5. Complexo de ataque a membrana, MAC.

Na figura a esquerda observamos uma micrografia eletrônica da membrana de uma bactéria com vários orifícios (MAC) na superfície. À direita, uma figura esquemática dos componentes formadores do complexo inseridos na membrana plasmática.

Fonte: <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/H/Humphrey50.jpg>,

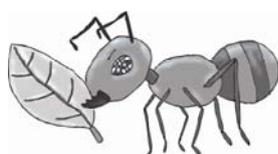
<http://www.helsinki.fi/~vakeva/mac.GIF>

Outras vias de ativação do sistema complemento podem ser ativadas a exemplo das vias das lectinas e a via clássica independente de anticorpo. Estas apresentam mecanismos de ativação semelhantes à via alternativa do complemento.

2.4 BARREIRAS BIOLÓGICAS

As barreiras biológicas de defesa consistem na presença de bactérias e fungos não patogênicos (comensais) que colonizam toda superfície da pele e trato digestório. Esses componentes de defesa competem por espaço e nutrientes com aqueles microorganismos patogênicos impedindo assim a proliferação e desenvolvimento do processo infeccioso. Os lactobacilos presentes na mucosa vaginal também secretam ácidos que reduzem o pH vaginal protegendo a mucosa de infecções. Em mulheres pós-menopausa observa-se uma redução no número destes lactobacilos justificando assim a maior incidência de infecções na mucosa vaginal e uretral.

:: HORA DE TRABALHAR!!! ::



Atividades

De que maneira as barreiras externas de defesa impedem a invasão dos microorganismos patogênicos?

3. ÓRGÃOS E CÉLULAS DO SISTEMA IMUNE

3.1 BARREIRAS INTERNAS DE DEFESA

As barreiras internas de defesa são formadas por um conjunto de órgãos, células e substâncias produzidas por células com a função de eliminar qualquer agente causador de doença. Esses agentes podem ser de natureza biológica como as bactérias, vírus, parasitas e fungos ou podem ser compostos considerados inertes para a maioria das pessoas como metais (níquel), próteses e talco.

Os órgãos do sistema imune ou linfóides são classificados de acordo com a capacidade destes em produzir e/ou realizar a maturação de células do sistema imune. A medula óssea e o timo são denominados órgãos linfóides primários ou geradores, pois são responsáveis pela produção e/ou maturação de linfócitos enquanto os linfonodos, baço e tecidos linfóides associados à mucosa (*do inglês mucosa associated linofoid tissue - MALT*) são denominados órgãos linfóides secundários ou periféricos, pois são responsáveis por armazenar células linfóides e facilitar o encontro destas com os agentes causadores de doenças permitindo assim a iniciação e desenvolvimento das respostas de defesa capazes de eliminar tais microorganismos (Figura 6).

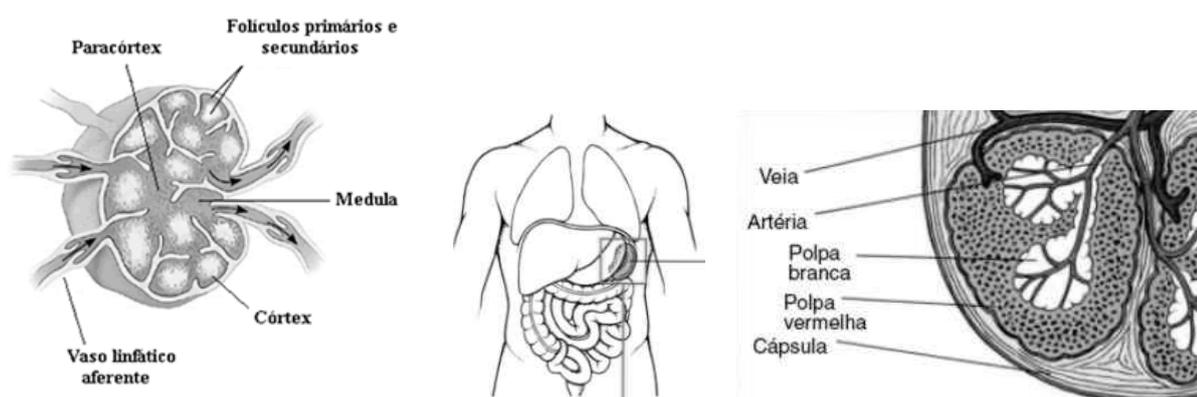


Figura 6. Órgãos linfóides secundários.

Observamos da esquerda para a direita um linfonodo, o baço localizado no quadrante superior esquerdo da cavidade abdominal e detalhes da histologia deste órgão à direita. O baço é delimitado por uma cápsula e dividido em duas regiões: a polpa vermelha e a branca. Esta última é considerada o órgão linfóide propriamente dito.

Fonte: <http://www.virtual.epm.br/material/tis/curr-bio/trab2004/2ano/imuno/imagens/nodulos.gif>,
<http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/corpo-humano-sistema-linfatico/imagens/baco-1.jpg>

3.2 HEMATOPOESE

O estudo dos órgãos linfóides inicia-se com a medula óssea responsável por realizar a hematopoese (Figura 7). Neste processo de formação das células sanguíneas, o órgão de aspecto esponjoso (medula) presente no interior dos ossos longos produz as células da série vermelha ou hemáceas, as células da série branca ou leucócitos e plaquetas. Os leucócitos são células que realizam a função de defesa no organismo. O ponto de partida para a hematopoese é ativação de uma célula pluripotente ou célula tronco que é estimulada por citocinas liberadas

pelas células do estroma da medula óssea. Existe uma grande variedade de citocinas no interior deste órgão sendo as interleucinas (IL)-3, IL-7 e o fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos (*do inglês granulocyte and macrophages-colony stimulant factor - GM-CSF*) consideradas as mais importantes neste processo.

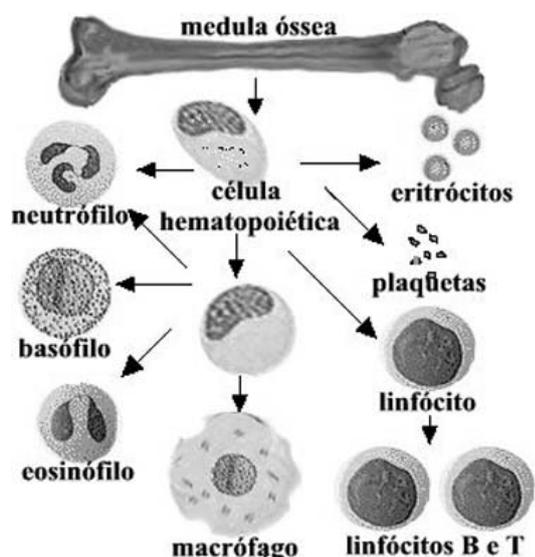


Figura 7. Hematopoese.

À esquerda, imagem de um osso longo e a medula localizada no interior. As principais células sanguíneas originadas a partir da célula progenitora hematopoética são apresentadas. Destacam-se os leucócitos: neutrófilo, basófilo, eosinófilo, além do macrófago e os linfócitos B e T. Os eritrócitos e plaquetas não apresentam função de defesa.

Fonte: <http://www.cacoarteiro.com/oque/medula.jpg>

A estimulação via citocinas induz a diferenciação da célula tronco em progenitor mielóide ou linfóide, sendo a primeira precursora das hemáceas, plaquetas, granulócitos neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e macrófagos enquanto a segunda dá origem aos linfócitos B, linfócitos T e células matadoras naturais (*do inglês natural killer – NK*). Dentre as células da linhagem mielóide estão os fagócitos que exercem um papel fundamental nas respostas imunes, já dentre as células da linhagem linfóide encontramos os linfócitos que exercem funções de defesa mais sofisticadas.

Dentre as células da linhagem mielóide encontram-se os fagócitos: neutrófilos, monócitos, macrófagos (residentes de tecidos) e células dendríticas. Estas apresentam um papel crucial como barreiras internas de defesa tanto desempenhando a função de fagocitar Ag estranhos como também atuando na estimulação de respostas imunes complexas dependentes de linfócitos.

A fagocitose depende do reconhecimento do Ag estranho pelo fagócito via receptores de membrana com afinidades por estruturas moleculares presentes nas membranas de bactérias, fungos e alguns vírus. Tais estruturas são denominadas de padrões moleculares como, por exemplo, o carboidrato manose presente na membrana de várias bactérias e fungos e o lipopolissacarídeo de membrana externa de bactéria (LPS) (Figura 8).

Os fagócitos expressam receptores de manose e LPS em suas membranas plasmáticas e a partir desta interação receptor/padrão molecular ocorre invaginação na membrana do fagócito permitindo o englobamento do Ag estranho, processo conhecido por fagocitose. Este processo pode ocorrer na corrente sanguínea quando neutrófilos e monócitos principalmente reconhecem Ag estranho solúvel ou pode ocorrer nos tecidos quando macrófagos residentes de tecido reconhecem e englobam tais partículas.

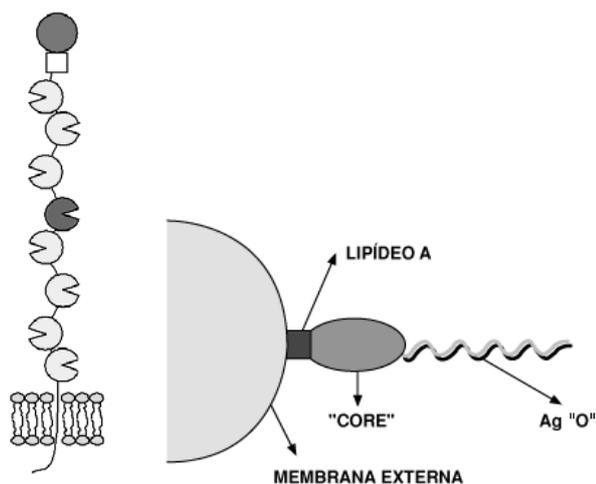


Figura 8. Receptor de manose e lipopolissacarídeo.

Estrutura do receptor de manose inserido na membrana plasmática com o carboidrato ligado na parte superior (esquerda) e estrutura do LPS (direita) na membrana do antígeno. No detalhe os componentes lipídico e sacarídico/Ag O.

Fonte:

<http://users.path.ox.ac.uk/~ptaylor/images/mr.gif>

<http://www.pediatrasiapaulo.usp.br/upload/html/414/img/07f1.gif>

A fagocitose no sangue pode ser melhorada caso o Ag esteja ligado ao fragmento C3b do sistema complemento. Os fagócitos também expressam receptores para C3b facilitando o reconhecimento do Ag pelos fagócitos. Portanto, podemos dizer que uma vez o Ag encontra-se revestido por C3b a fagocitose ocorre com maior intensidade. O processo de facilitação da fagocitose por fragmentos do complemento ou por outros componentes da resposta imune (ver adiante) denomina-se opsonização e, a partícula que reveste o Ag chama-se opsonina.

O mesmo processo de fagocitose pode ocorrer nos tecidos por macrófagos residentes após uma lesão do tecido e invasão do mesmo por bactérias. Adicionalmente, fagócitos oriundos da corrente sanguínea também podem realizar fagocitose em tecidos, no entanto, para que isto se torne possível se faz necessário que estas células migrem do interior de um vaso sanguíneo em direção ao tecido lesionado. Este processo denomina-se inflamação.

4. A RESPOSTA INFLAMATÓRIA

A resposta inflamatória é iniciada após injúria tecidual e conseqüente ativação de células endoteliais presentes nas paredes dos vasos sanguíneos. Diferentes estímulos podem causar dano celular como: a) agentes físicos – trauma mecânico e radiação, b) agentes químicos – ácidos e bases fortes, venenos e, c) agentes biológicos – bactérias, vírus, fungos e parasitos.

Uma vez lesionado o tecido, as células epiteliais iniciam a clivagem enzimática de fosfolipídeos de membrana convertendo-os em ácido araquidônico (AA) que serve como precursor de moléculas pró-inflamatórias. As enzimas ciclooxigenase e lipooxigenase convertem o AA em prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, respectivamente. Estes derivados lipídicos do AA são liberados do interior das células epiteliais lesionadas e ativam receptores presentes no endotélio (Figura 9).

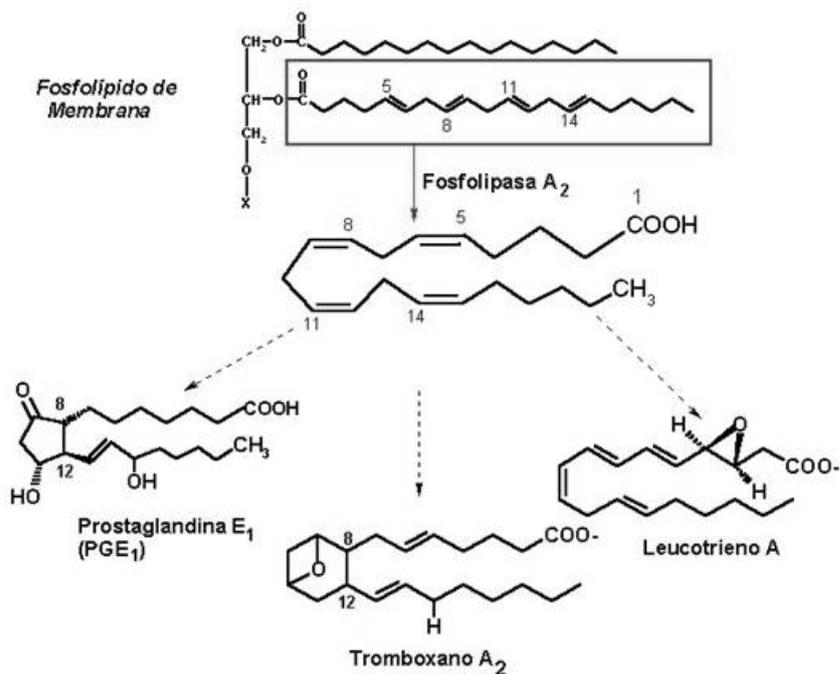


Figura 9. Derivados lipídicos do ácido araquidônico.

A geração de mediadores inflamatórios depende da atividade das enzimas fosfolipase A que convertem os fosfolípidos de membrana em AA. Este é transformado em prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos.

Fonte:

http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/metabolismo%20araquidonico_archivos/image017.jpg

Os efeitos vasculares observados após estimulação das moléculas pró-inflamatórias são aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, eritema, edema e dor. Além disso, a superfície interna do endotélio até então em repouso e desnuda começa a expressar moléculas de adesão representadas inicialmente pelas E-selectinas. Essas constituem em grupo de glicoproteínas do endotélio com afinidade por receptores de leucócitos que devem reconhecer as selectinas para iniciar o processo de transmigração através da parede endotelial com o objetivo de eliminar o microorganismo ou material estranho presente no tecido lesionado. Em seguida descrevemos as etapas do processo inflamatório: marginação, rolamento, adesão firme e transmigração.

4.1 ETAPAS DO PROCESSO INFLAMATÓRIO

A marginação consiste na aproximação dos leucócitos da margem da parede endotelial. Na ausência de estímulo e ativação de endotélio, os leucócitos encontram-se na luz do vaso sanguíneo, no entanto após a ativação endotelial por derivados lipídicos do AA e liberação de citocinas como o fator de necrose tumoral (*tumor necrose factor* α - TNF- α) no local da injúria tecidual e na corrente sanguínea observa-se um aumento na viscosidade do sangue facilitando assim a marginação dos leucócitos (Figura 10).

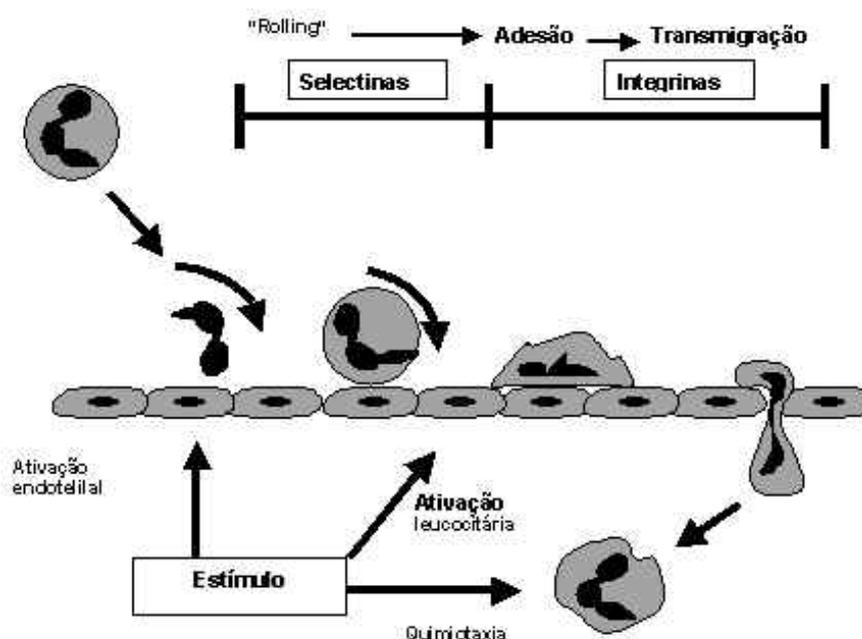


Figura 10. Etapas do processo inflamatório.

A inflamação ocorre em etapas. Acima observamos a marginação do leucócito, o rolamento e adesão firme da célula na parede endotelial e a transmigração celular. Esses eventos são dependentes de moléculas de adesão (selectinas e integrinas) que permitem a interação leucócito-endotélio. Tanto a iniciação da resposta inflamatória como a atração dos leucócitos para o local da lesão tecidual dependem de estímulos como as moléculas pró-inflamatórias derivadas do ácido araquidônico e fatores quimiotáticos (para neutrófilos) derivados do endotélio a exemplo da IL-8.

Fonte: <http://www.crono.icb.usp.br/glandp3.jpg>

Os leucócitos se aproximam do endotélio de acordo com uma cinética de aparecimento sendo os neutrófilos os primeiros a participarem deste evento. Os neutrófilos são considerados a primeira linha de defesa celular ativada na resposta inflamatória. Estas células expressam receptores para selectinas do endotélio e após a marginação realizam as primeiras interações moleculares ainda não suficientes para que estas células estacionem na superfície endotelial. Em consequência deste reconhecimento, os neutrófilos começam a realizar o movimento de rolamento sobre a parede endotelial.

A etapa de rolamento permite que um número maior de selectinas e seus ligantes presentes nos leucócitos interajam entre si provocando a adesão estável da célula sobre o endotélio. Os neutrófilos aderidos ao endotélio podem realizar o movimento de diapedese e a transmigração do interior do vaso para o tecido lesionado utilizando os espaços entre as células endoteliais. Isto é possível devido ao aumento da permeabilidade vascular inicialmente induzido pelas moléculas pró-inflamatórias liberadas no início da injúria tecidual.

Uma vez no tecido, o neutrófilo poderá se movimentar em direção ao agente invasor utilizando uma “estrada” formada de proteínas da matriz extracelular formada principalmente de fibrina e fibronectina. O encontro do neutrófilo com aquelas partículas a serem fagocitadas depende da liberação tanto das células endoteliais como também das células epiteliais de fatores quimiotáticos capazes de guiar os neutrófilos em direção ao local da injúria tecidual. A IL-8 é um fator quimiotático para neutrófilos que é liberado após o início do processo inflamatório. Estas

células se movimentam em direção a um gradiente de concentração de IL-8 até encontrar o agente invasor. Caso este agente seja uma bactéria, o neutrófilo realizará o reconhecimento via receptores como descrito acima.

Outros leucócitos também podem participar da resposta inflamatória caso o agente invasor não seja eliminado nas primeiras oito horas. Neste caso a inflamação é classificada como inflamação aguda caracterizada pelo grande influxo de neutrófilos para o local da lesão. Porém, se o agente invasor persistir por mais de oito horas, a inflamação alcança o status de cronicidade que se caracteriza pela presença de outros leucócitos como monócitos e mais tardiamente os linfócitos.

:: SAIBA MAIS... ::



As inflamações crônicas causam danos aos tecidos normais e por isso são consideradas respostas patológicas. Podemos citar como inflamações crônicas a asma alérgica, a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico.

5. MECANISMOS DE MORTE DOS FAGÓCITOS

Tanto os neutrófilos durante a inflamação aguda como os monócitos na inflamação crônica são capazes de reconhecer e fagocitar o agente invasor. O englobamento do agente invasor dá início aos mecanismos de morte intracelular desenvolvidos pelos fagócitos. Estes produzem intermediários reativos do oxigênio (*do inglês, reactive oxygen intermediates* – ROIs), enzimas lisossomais e óxido nítrico, NO (Figura 11).

Após a fagocitose, o leucócito mantém o microorganismo no interior de uma vesícula denominada fagossomo que por sua vez pode sofrer fusão com lisossomos presentes no citosol levando a formação de uma nova vesícula, o fagolisossomo. No primeiro caso, o microorganismo permanece viável no interior do fagossomo até que este inicie a geração dos ROIs. Na superfície da membrana do fagossomo encontra-se uma enzima chamada fagócito oxidase capaz de converter o oxigênio molecular em ânion superóxido, peróxido de hidrogênio entre outros intermediários do oxigênio.

Os ROIs são espécies reativas (radicais livres) que provocam danos irreversíveis nas estruturas de membrana, organelas e ácidos nucleicos do microorganismo presente no interior do fagossomo. A ação dos ROIs causa a morte do agente invasor e por isso os ROIs são considerados como mecanismo de morte dos fagócitos. A importância deste evento intracelular fica evidente em pacientes com deficiência da enzima fagócito oxidase devido à incapacidade de eliminar bactérias e fungos. Estes pacientes apresentam infecções recorrentes e apresentam uma baixa expectativa de vida. Um segundo importante mecanismo de morte intracelular são as enzimas lisossomais. Estas são liberadas sobre o microorganismo fagocitado após a formação do fagolisossomo. Estas enzimas proteolíticas e causam a morte do microorganismo.

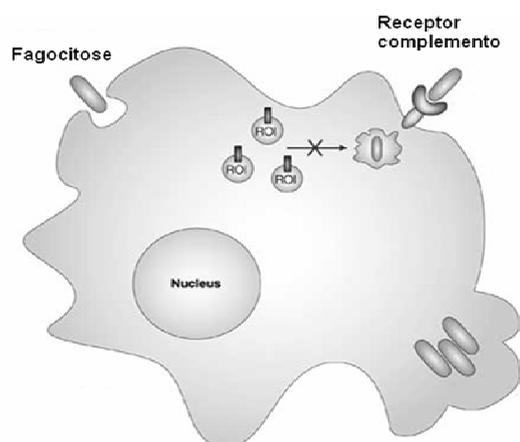


Figura 11. Produção de ROIs pelo fagócito.

Observe que a produção dos intermediários reativos do oxigênio é ativada pela fagocitose do antígeno (esquerda) ou mediada por receptor de fragmento (C3b) de proteína do sistema complemento que se liga em receptor na membrana do fagócito (direita).

Fonte:

<http://www.scielo.br/img/fbpe/rsbmt/v35n4/a14fig03.gif>

Caso o microorganismo escape do fagolisossomo, o fagócito pode utilizar um terceiro mecanismo de morte intracelular, a geração de NO. Este composto é um gás produzido a partir da conversão do aminoácido L-arginina em NO e citrulina. A enzima responsável pela reação é a sintase de óxido nítrico (NO sintase). Existe a forma constitutiva e induzida da enzima sendo a última produzida em grande quantidade durante a infecção. O NO é o principal mecanismo de morte contra protozoários como a leishmania.

:: SAIBA MAIS... ::



Pacientes com deficiência de NO são susceptíveis a doenças do trato respiratório (asma), do aparelho cardiovascular (hipertensão arterial) e parasitoses como leishmaniose e doença de chagas.

A intensidade das respostas dependentes de NO depende das características genéticas de cada indivíduo. Isto significa que dentro de uma espécie heterogênea como a humana encontraremos pessoas com uma capacidade maior ou diminuída para eliminar parasitos de vida intracelular como a leishmania e, portanto o grau de resistência e susceptibilidade a doenças varia dentro de uma população. Nas últimas seções deste texto iremos discutir quais os fatores que influenciam nas respostas imunes dependentes de NO.

Como já discutido acima a fagocitose e os mecanismos de morte intracelular ocorrem freqüentemente na corrente sanguínea e, diferentes tecidos do corpo. No entanto, há outros sítios anatômicos especializados em respostas de fagocitose, os órgãos linfóides periféricos.

Enquanto a medula óssea fornece as células sanguíneas, o baço, os linfonodos e os MALT servem como ambientes apropriados para o desenvolvimento das respostas imunes mais complexas. Neste momento vamos enfatizar apenas a importância destes órgãos para realização da fagocitose enquanto que os demais mecanismos de defesa elaborados nestes órgãos serão discutidos adiante.

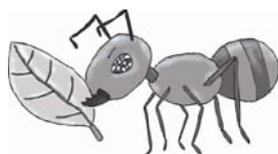
O baço é um órgão de defesa porque serve para armazenar células da resposta imune e facilitar o encontro destas células com Ag estranhos presentes na corrente sanguínea. Este órgão é

bastante vascularizado dividido em duas regiões anatômicas, a polpa vermelha e a branca. A polpa branca contém as células de defesa como macrófagos, células dendríticas e linfócitos. Os Ag estranhos que chegam no sangue sofrerão o ataque dos fagócitos presentes na corrente sanguínea e parte dos Ag chegarão ao baço onde também serão reconhecidos, fagocitados e eliminados pela ação dos ROIs, enzimas lisossomais ou NO. A importância deste processo no interior do baço consiste na ativação posterior dos linfócitos que são as células da resposta imune adaptativa especializadas em desenvolver mecanismos de defesa de longa duração.

Os linfonodos também conhecidos como gânglios linfáticos estão distribuídos por todos tecidos do corpo desde a região cervical até os membros inferiores. Estes órgãos estão conectados por uma rede de vasos linfáticos e também se comunicam com vasos sanguíneos especializados denominados de Vênulas do Endotélio Alto (*do inglês High endothelial Venules – HEV*). Os vasos linfáticos apresentam uma extremidade que penetra no linfonodo chamada de vaso linfático aferente e outra extremidade que sai do órgão, vaso eferente. Muitos vasos linfáticos desembocam nos tecidos periféricos o que facilita a drenagem dos Ag estranhos que tenham penetrado no tecido a partir de uma lesão da pele. A drenagem permite que os Ag sejam transportados pela linfa presente no interior dos vasos linfáticos para o interior dos linfonodos. Observa-se também a migração de fagócitos do tecido pelos vasos linfáticos após a fagocitose realizada no local da infecção. Similarmente ao baço, os linfonodos também armazenam células de defesa permitindo assim que respostas imunes sejam realizadas em qualquer tecido do corpo alvo de infecção.

Os MALTs são responsáveis pela proteção das mucosas. A estrutura anatômica destes órgãos é semelhante à do baço e linfonodos. Os Ag estranhos que colonizam as mucosas são drenados para os MALTs onde serão fagocitados e eliminados.

:: HORA DE TRABALHAR!!! ::



Você acha que a resposta inflamatória é boa ou prejudicial a saúde? Explique baseado nos conhecimentos aprendidos na Unidade 1.

UNIDADE 2

RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA OU ADQUIRIDA

1. A RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA É MAIS COMPLEXA E EFICAZ

O termo adaptativo deve-se ao fato que o sistema imune precisa se adaptar a uma nova situação, a presença do Ag estranho. Esta resposta também é conhecida como específica porque é capaz de discriminar cada espécie ou variante genética de um microorganismo. Esta especificidade é adquirida ao longo da vida à medida que o indivíduo se expõe aos agentes infecciosos e por isso a resposta adaptativa também é conhecida como resposta imune adquirida.

A resposta imune adaptativa depende da participação dos linfócitos originados a partir da célula progenitora linfóide da medula óssea. Estas células são responsáveis por discriminar pequenas diferenças entre os Ag estranhos presentes na natureza e montar respostas de defesa mais eficazes do que aquelas realizadas pelo sistema imune inato. Existem três grandes sub-populações de linfócitos: linfócito B (LB), linfócito (T) e células matadoras naturais (*do inglês, natural killer cells* – células NK). Exceto as células NK que participam da resposta inata, os LB e LT são células da resposta imune adaptativa. Os LB são as únicas células produtoras de anticorpos ou imunoglobulinas (Ig) enquanto os LT são divididos em duas sub-populações celulares, os LT auxiliares (LTa) e os LT citotóxicos (LTc).

Os LTa são células produtoras de citocinas que regulam uma infinidade de respostas imunes enquanto os LTc realizam respostas de citotoxicidade necessárias para eliminação de Ag estranhos de vida intracelular como os vírus, algumas bactérias e protozoários além de provocar a morte de células em transformação e tumorais. Outras sub-populações de LT vêm sendo estudadas, no entanto pouco se sabe sobre estas células. Algumas funções já descritas para as novas sub-populações de LT serão discutidas mais adiante neste livro.

1.1 AS PROPRIEDADES DA RESPOSTA ADAPTATIVA

As respostas imunes adaptativas apresentam propriedades. Abaixo são descritas aquelas mais importantes, como:

1. **Especificidade:** as respostas adaptativas são altamente específicas porque discriminam a seqüência dos epítopos presentes em cada Ag estranho. Logo se houver diferenças entre duas bactérias do gênero salmonela, os linfócitos são capazes de discriminar estruturas moleculares das duas bactérias e montar uma resposta específica para cada uma delas;

2. **Memória:** o sistema imune adaptativo é capaz de “lembrar” das estruturas de cada um dos Ag estranhos expostos no passado. Os linfócitos são as únicas células que têm memória. A vantagem das respostas imunes com memória é permitir que a resposta de defesa seja realizada mais rapidamente e com maior intensidade garantindo uma eliminação do Ag estranho antes mesmo que ele prolifere causando infecção e os sinais e sintomas característicos da doença;

3. **Auto-limitação:** respostas adaptativas apresentam início, meio e fim. O Ag estranho é o fator que determina a auto-limitação da resposta uma vez que eliminado o Ag, o sistema imune deve retornar do status ativado para o seu estado de repouso. Esta propriedade garante

que apenas o Ag estranho será alvo da resposta imune e que os tecidos e órgãos do indivíduo não serão atacados pela resposta imune;

4. **Diversidade:** a capacidade de gerar uma infinidade de clones de linfócitos específicos para os diversos Ag estranhos confere à resposta adaptativa uma diversidade capaz de eliminar qualquer agente infeccioso que penetre no organismo. Esta propriedade é facilmente observada quando avaliado as diferentes especificidades das imunoglobulinas produzidas pelos seres vertebrados;

5. **Não reatividade ao próprio:** esta propriedade garante que o sistema imune adaptativo discrimine os Ags próprios daqueles não próprios/estranhos. Esta é sem dúvida uma das mais notáveis propriedades da resposta imune, pois garante a não agressão dos tecidos normais pelos mecanismos efetores do sistema imunológico. O mecanismo de tolerância central e periférico, discutidos mais adiante, são fundamentais neste processo.

1.2 AS FASES DA RESPOSTA ADAPTATIVA

As respostas adaptativas ocorrem em fases: reconhecimento do Ag estranho, ativação dos linfócitos e fase efetora (Figura 12).

A primeira fase é realizada por clones de linfócitos pré-existentes que selecionam o Ag estranho utilizando receptores de membrana a partir de um processo denominado de Seleção Clonal. Este foi postulado com base no conhecimento de que os clones de linfócitos gerados na medula óssea expressam diferentes receptores para Ag estranhos determinados por rearranjos aleatórios dos genes dos receptores de LB e LT. Portanto, cada Ag estranho que entra no organismo seleciona um clone específico de linfócito de acordo com a afinidade química do Ag e a estrutura dos receptores de linfócitos (Figura 13).

Inicialmente, o Ag é reconhecido pelos LB e/ou LT provocando a ativação dos linfócitos. Isto implica na ativação de genes que controlam a divisão celular e outros genes de citocinas como a IL-2 conhecida como um fator de crescimento de linfócitos T. Uma vez ativados, os linfócitos proliferam gerando vários clones com a mesma especificidade para o Ag. Esses clones sofrem diferenciação celular adquirindo o fenótipo de célula efetora.

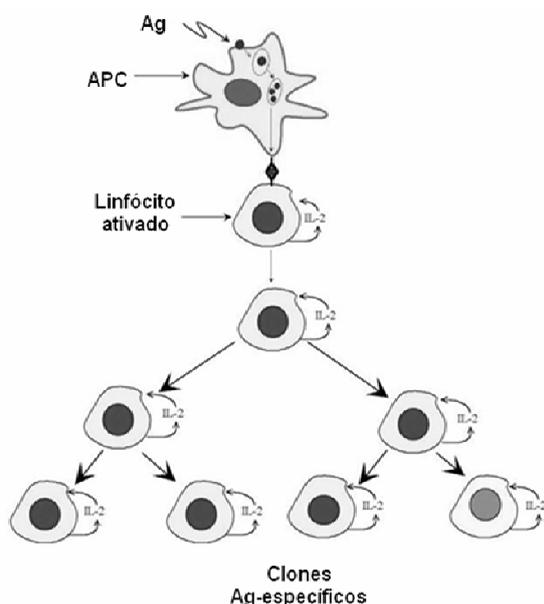


Figura 12. Fases da resposta imune adaptativa.

O Ag é apresentado pela célula apresentadora de antígeno (*do inglês, Antigen Presenting Cell – APC*) e reconhecido pelo LT (1ª fase) que se ativa (2ª fase) e produz IL-2. Esta citocina induz a proliferação celular e geração dos clones efetores (3ª fase) e de memória Ag-específicos. Estes clones também produzem IL-2 favorecendo ainda mais a expansão clonal.

Fonte:

http://www.rbi.fmrp.usp.br/imunobiol/aulas/t14_12_504200.jpg

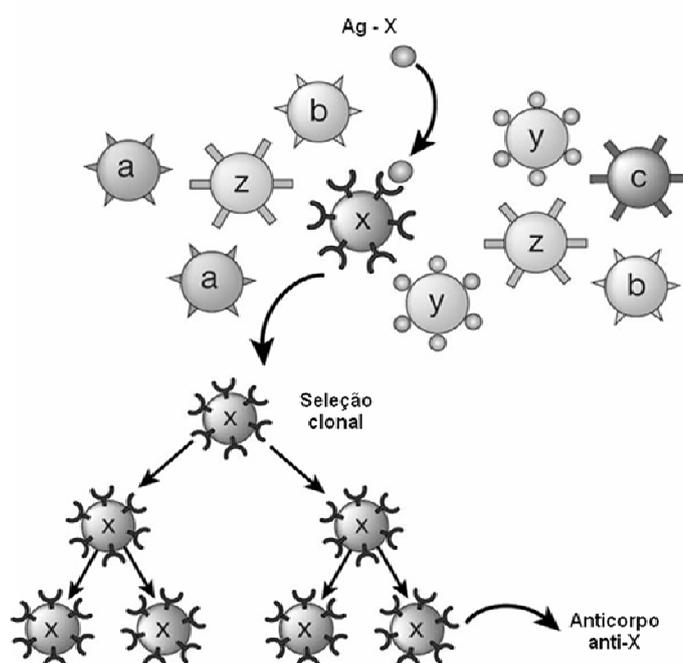


Figura 13. Seleção clonal

O Ag-X estranho penetra no organismo e seleciona um clone de linfócito pré-existente expressando receptor com especificidade para o Ag determinada aleatoriamente por recombinação gênica. O clone selecionado (ao centro) se ativa e sofre expansão clonal. Nesta figura encontra-se representado um LB produzindo anticorpo anti-X. A seleção clonal também ocorre para os LT.

Fonte:

<http://www.nature.com/nature/journal/v421/n6921/images/nature01409-f1.2.jpg>

Os LB se diferenciam em células produtoras de Igs chamadas de plasmócitos. Estas células são maiores e apresentam um maquinário de síntese protéica incrementado para fornecer grandes quantidades de imunoglobulinas. As Igs são responsáveis pela neutralização e colaboram para eliminação dos Ag estranhos como discutido mais adiante.

Por outro lado, os LT ativados também geram clones específicos para o Ag. A ativação do LT depende necessariamente da participação de células acessórias ou apresentadoras de Ag (*do inglês, Antigen Presenting Cell – APC*) como macrófagos e células dendríticas. As células acessórias são capazes de fagocitar o Ag estranho e posteriormente apresentar fragmentos deste Ag aos LT, processo denominado de apresentação de Ag. Os mecanismos de geração dos fragmentos (processamento) e apresentação de Ag serão descritos mais adiante.

De acordo com a natureza do Ag e o sítio anatômico onde ocorre a resposta imune esses LT podem se diferenciar nas sub-populações auxiliar ou citotóxica. Estas células produzem citocinas ou toxinas, respectivamente, importantes na regulação da resposta imune ou na eliminação do Ag, fase efetora da resposta imune.

Após a eliminação do Ag observa-se uma redução no número de linfócitos, citocinas e Igs secretados pelas células. Esta fase é caracterizada por um intenso processo de morte celular / apoptose em consequência da ausência do Ag estranho que representa um estímulo fundamental para sobrevivência e geração dos clones de linfócitos. O retorno ao estado de repouso é chamado de fase de auto-limitação da resposta imune adaptativa. No entanto, podemos observar que algumas células ou moléculas geradas no início da resposta permanecem em níveis basais isto porque as respostas adaptativas apresentam células de memória.

Estas células são geradas juntamente com os clones efetores de linfócitos, mas não participam efetivamente da eliminação do Ag neste primeiro momento. As células de memória

permanecem no organismo no interior dos órgãos linfóides periféricos onde se encontram viáveis por tempo indeterminado. Dependendo do Ag que estimula o linfócito, este pode gerar células de memória com uma meia vida de meses, anos ou décadas. Baseado na geração de clones de memória a partir da administração de Ag estranhos modificados em laboratório tenho sido possível induzir proteção/imunização de indivíduos a partir das vacinas.

:: FIQUE DE OLHO!! ::



As vacinas induzem a geração de clones de memória que garantem o reconhecimento rápido e o desenvolvimento de respostas adaptativas mais eficazes na eliminação dos patógenos ao longo do tempo.

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

Imagine que você sofreu um ferimento no pé e depois apareceu uma “íngua” na virilha. Como você explicaria a formação da íngua baseando-se nas fases da resposta imune adaptativa?

2. LINFÓCITOS B E A RESPOSTA IMUNE HUMORAL

Os linfócitos B (LB) se originam a partir de uma célula progenitora linfóide da medula óssea e sob o principal estímulo de diferenciação dos precursores do LB, a IL-7. Antes de atingir o status de célula madura, vários estágios de diferenciação celular são observados como: Pró-B, Pré-B, célula B imatura e LB maduro. A conclusão do processo de maturação ocorre na periferia onde o LB utiliza os receptores de membrana para exercer a sua função de defesa (Figura 14).

Inicialmente a célula Pró-B expressa os marcadores de superfície CD10, CD19 e CD 43. No próximo estágio, a célula Pré-B inicia a recombinação dos genes da cadeia pesada de imunoglobulina (Ig), uma cadeia μ citoplasmática e receptor da célula Pré-B associado à cadeia μ . Esta célula é CD43⁺ e expressa o marcador B220. A célula B imatura é CD43⁻, expressa baixos níveis de IgM de membrana (receptor do LB) e realiza recombinação dos genes de Ig. Ainda neste estágio de diferenciação, ocorrem os processos de seleção negativa e edição do receptor do LB denominado BCR (*do inglês, B Cell Receptor*). A seleção negativa determina a morte dos LB defeituosos enquanto a edição do receptor consiste na internalização e nova síntese do receptor em LB defeituosos.

Estes dois mecanismos garantem a qualidade dos LB que saem da medula óssea impedindo que células potencialmente nocivas alcancem a corrente sanguínea e o interior dos órgãos linfóides periféricos citados anteriormente.

:: FIQUE DE OLHO!! ::



Os LB nocivos ou autorreativos podem reconhecer e se ativar contra Ag próprios provocando lesão nos tecidos e órgãos causando as doenças autoimunes.

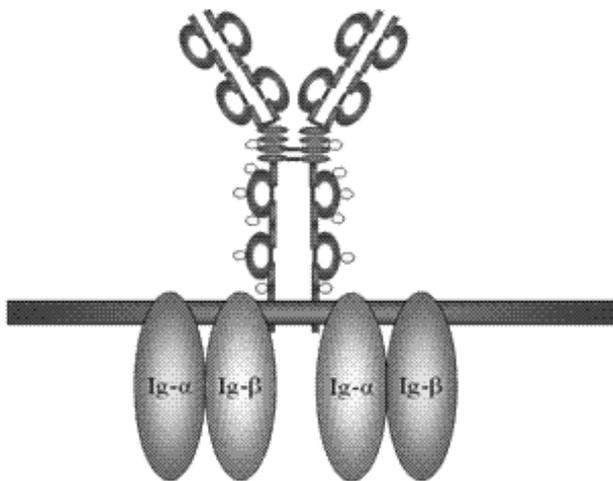


Figura 14. Receptor do linfócito B.

O receptor para o antígeno do LB (BCR) expresso na membrana plasmática. Podemos observar a estrutura do receptor (Ig de membrana) e os co-receptores Ig- α e Ig- β .

Fonte:

http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/cha_p4-10.GIF

Na periferia a célula B conclui o processo de maturação. Neste ambiente o LB expressa elevados níveis de IgM de membrana além da IgD de membrana. Esta célula é capaz de reconhecer Ag estranhos via BCR e realizar a função de eliminar o Ag, função efetora.

O LB maduro tem a função de reconhecer Ag estranhos e desenvolver a resposta imune humoral. Nesta resposta há produção das Igs solúveis ou anticorpos. As melhores respostas humorais são aquelas realizadas contra Ag protéicos, porém os LB também produzem Igs específicas para Ag estranhos de origem sacarídica, lipídica e nucléica. Os Ag não protéicos são conhecidos como Ag timo independente ou T independente (TI) porque não dependem de linfócitos T para serem reconhecidos e eliminados. O LPS é o principal componente das bactérias gram-negativas e estimula fortemente os LB de animais roedores ou murinos, porém em seres humanos o LPS é um potente ativador de macrófagos.

A presença de Ag polissacarídicos e glicolípídeos em bactérias encapsuladas como pneumococo, meningococo e *haemophilus* estimula os LB a produzirem elevados níveis de IgM, a primeira Ig a ser produzida durante o processo infeccioso. Em pacientes com deficiência na resposta imune humoral observa-se uma maior susceptibilidade a infecções por bactérias encapsuladas. As respostas TI são caracterizadas pela produção de IgM e baixos níveis de IgG. Os Ag estranhos de origem protéica induzem a produção de diferentes classes de Ig em seres vertebrados.

As Igs são glicoproteínas da fração gamaglobulinas presentes no soro dos seres vertebrados e receberam o nome de imunoglobulinas devido a sua função de defesa do organismo contra os agentes infecciosos. As Igs são sintetizadas por células especializadas denominadas plasmócitos. Estes consistem num estágio de diferenciação de LB após o reconhecimento do Ag e ativação. Os mesmos mecanismos implicados na síntese protéica são observados na produção de Igs que ocorre com a tradução de RNA mensageiro em proteína utilizando os ribossomos, retículo endoplasmático rugoso e aparelho de golgi como as principais organelas envolvidas na síntese das Igs.

2.1 AS CLASSES DE IMUNOGLOBULINAS

Os mamíferos produzem cinco classes e algumas subclasses de Ig como: IgM, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (Ig-1A, Ig-2A), IgD e IgE (Figura 15).

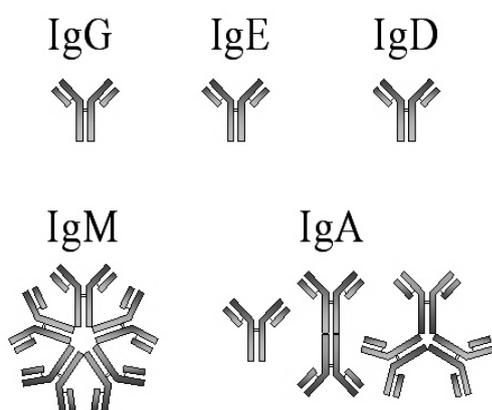


Figura 15. Classes de imunoglobulinas.

As IgG, IgE e IgD são monômeros enquanto a IgA pode apresentar-se na forma de monômero, dímero ou trímero. A IgM é a única com estrutura pentamérica.

Fonte:

<http://www.karstenfaehrich.de/Immunosensors/Immunoglobulins.jpg>

A IgM pentamérica é formada por cinco monômeros de IgM ligados em única estrutura por um composto orgânico denominado cadeia J. Esta Ig é produzida durante a fase aguda da infecção e apresenta uma elevada capacidade de neutralização de Ag. A IgM também ativa o sistema complemento colaborando desta forma para lise osmótica de bactérias e fungos. A detecção desta Ig no soro do paciente utilizando-se técnicas imunológicas vem sendo utilizada na rotina de laboratórios para diagnóstico de várias doenças como as hepatites.

A IgG é produzida durante a fase crônica das infecções e podem apresentar quatro subtipos ou subclasses: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Similarmente a IgM, a IgG também ativa o sistema complemento além de estar presente no leite materno e atravessar a barreira placentária conferindo imunidade ao feto em desenvolvimento. A determinação dos níveis séricos de IgG em pacientes pode revelar infecções que aconteceram no passado a exemplo das hepatites.

A IgA está presente em maior quantidade nas mucosas e no leite materno conferindo imunidade ao recém nascido. Esta Ig pode apresentar dois subtipos a Ig-1A e Ig-2A. A união dos monômeros de IgA é feita pela cadeia J produzida por células epiteliais da mucosa.

Pouco se sabe a respeito da IgD. Esta existe apenas na forma ligada a membrana e tem função de co-receptor de LB sendo importante na ativação desta célula.

A IgE ocorre em menor quantidade no soro no entanto encontra-se em níveis elevados durante as infecções por parasitos helmintos (papel de defesa) e nos processos alérgicos onde a IgE exerce o seu papel patológico. Este último caso iremos discutir mais adiante neste livro.

2.2 A ESTRUTURA DA IMUNOGLOBULINA

As Igs apresentam uma estrutura básica responsável pela função de proteção desta molécula (Figura 16). Existem duas grandes regiões da molécula de Ig, uma que liga o Ag (*do inglês, Fraction of antigen binding – Fab*) e outra região constante (*do inglês, Fraction constant – Fc*). A região Fab pode ligar dois epítomos do Ag estranho e é formada tanto por cadeias leve e pesadas. A região de extremidade da região Fab é denominada de hipervariável devido as diferentes seqüências de aminoácidos que esta região pode apresentar de acordo com a estrutura química do Ag estranho para o qual ela foi produzida. As diferenças estruturais da molécula de Ig conferem diversidade às respostas imunes adaptativas, pois garante que os seres vertebrados tenham a capacidade de produzir uma grande variedade de Igs para a defesa do organismo.

A região Fc é formada apenas por resíduos de aminoácidos presentes em cadeias pesadas e numa seqüência constante para cada classe de Ig. Isto significa que as IgM apresentam regiões Fc diferentes das IgG e demais moléculas de Ig. A região Fc não liga Ag, mas por outro lado é responsável pela função efetora (eliminação do Ag) da Ig.

A descoberta das regiões da molécula de Ig foi possível graças a estudos utilizando enzimas como a pepsina e papaína que apresentam afinidade por diferentes resíduos de aminoácidos presentes na Ig. Ambas as enzimas clivam esta molécula nas regiões Fab e Fc. Esses mesmos estudos revelaram que uma vez incubadas na presença de Ag estranhos, apenas a região Fab foi capaz de ligar ao Ag enquanto que a região Fc tinha afinidade por receptores de células como os fagócitos.

A Ig também apresenta uma região de dobradiça localizada no ponto de separação das regiões Fab e Fc. A função desta estrutura na molécula de Ig é conferir mobilidade facilitando a interação entre a Ig e o Ag estranho. Adicionalmente, as Igs apresentam resíduos de carboidratos ligados à estrutura, daí chamarmos as Igs de glicoproteínas de defesa.

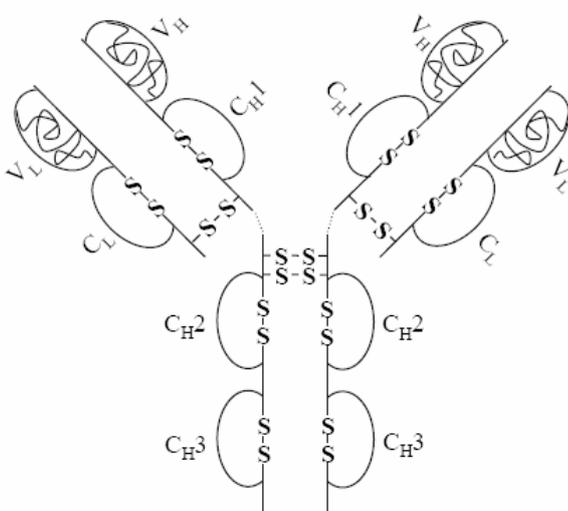


Figura 16. Estrutura da imunoglobulina.

As Igs apresentam uma estrutura básica com duas cadeias polipeptídicas pesadas (CH) e duas cadeias leves (L), as regiões que ligam o Ag/Fab (superior) e constante/Fc (inferior). Observamos os domínios ao longo de toda a estrutura, ligações dissulfeto (S-S) e a dobradiça na fronteira entre Fab e Fc. Há presença de resíduos de carboidratos não mostrados na figura.

Fonte:

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d2/Adalimumab_structure.png

A presença de duas cadeias polipeptídicas pesadas e duas cadeias polipeptídicas leves formam o arcabouço desta molécula. As cadeias pesadas apresentam um número maior de resíduos de aminoácidos e uma massa molecular maior enquanto as cadeias leves apresentam um número menor de aminoácidos. A molécula de Ig apresenta várias ligações dissulfeto intercadeias e intracadeias conferindo estabilidade química à estrutura básica da Ig. Os domínios da Ig são regiões presentes ao longo de toda a molécula de Ig e que podem apresentar-se em números diferentes de acordo com a classe de Ig. Alguns domínios apresentam função de receptor para proteínas do sistema complemento.

As moléculas de Ig não são capazes de eliminar Ag estranhos isoladamente, mas conseguem ligar e neutralizar estes Ag para posteriormente ativar mecanismos efetores representados por células ou proteínas do complemento. Várias células como macrófagos, basófilos, eosinófilos, células NK entre outras expressam receptores de membrana com afinidade para região Fc de Ig. Esta ligação ativa células que, por conseguinte irão eliminar o Ag causador da infecção.

2.3 MECANISMOS EFETORES DAS IMUNOGLOBULINAS

Os principais mecanismos efetores de Ig são a opsonização e fagocitose, a citotoxicidade dependente de anticorpo (*do inglês, antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC*) e, a ativação da via clássica do sistema complemento (Figura 17). As Igs se ligam e revestem (opsonizam) os Ag estranhos facilitando o reconhecimento do Ag pelos fagócitos via receptores com afinidade para região Fc de Ig. Os monócitos e macrófagos expressam receptores para Fc de IgG e uma vez ocorra o reconhecimento estas células se ativam realizando fagocitose ou desgranulando substâncias tóxicas sobre o alvo a ser eliminado, ADCC.

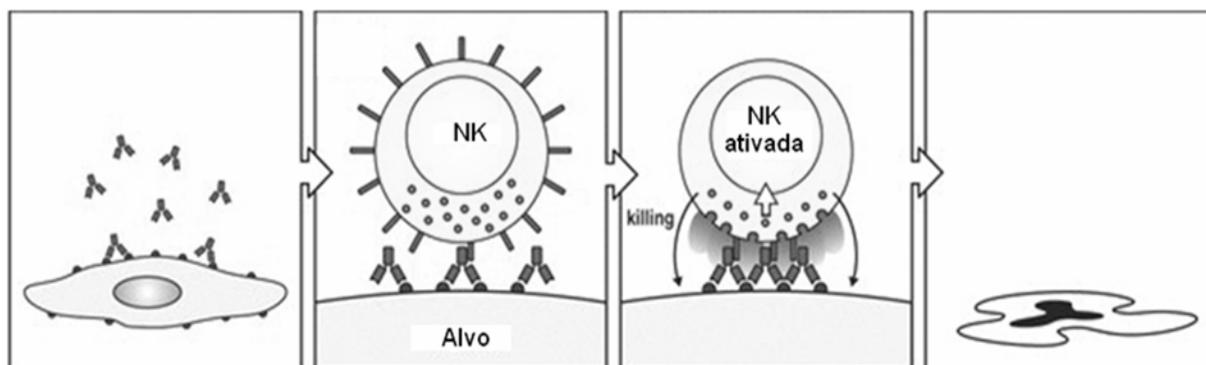


Figura 17. Mecanismos efetores de Ig – ADCC.

À esquerda a célula alvo sofre opsonização por Ig e posteriormente a célula NK utiliza seu receptor para região Fc de Ig para se ligar ao alvo. A ativação de NK induz a liberação de grânulos citoplasmáticos contendo toxinas que eliminam o alvo, à direita. Os fagócitos também realizam a resposta de ADCC.

Fonte: <http://www.microvet.arizona.edu/Courses/MIC419/Secure/CaseEBV/figure%209-34.jpg>

Os principais alvos da opsonização e fagocitose são bactérias, fungos ou vírus enquanto as respostas de ADCC são ativadas contra Ag bem maiores como os parasitos helmintos ou tumores sólidos. Os mecanismos de morte utilizados na eliminação destes Ag estranhos são os mesmos descritos acima. Por outro lado, na ADCC o principal mecanismo de morte são as toxinas

presentes no interior dos grânulos citoplasmáticos dos fagócitos e outros leucócitos como eosinófilos que apresentam grande importância na destruição dos helmintos na luz intestinal.

Como sabemos a IgE tem como função de defesa a eliminação dos helmintos. A ligação desta Ig no epitélio do helminto causa a neutralização do mesmo. O parasito perde a sua capacidade de se manter aderido à mucosa ficando livre na luz intestinal o que facilita a sua eliminação pelos movimentos peristálticos. Além disso, a região Fc da IgE pode ser reconhecida por receptores de alta afinidade ($Fc\epsilon RI$) presentes nas membranas dos eosinófilos. Esta ligação ativa os eosinófilos que desgranulam os seus grânulos citoplasmáticos sobre o parasito. A proteína básica principal é a principal toxina do eosinófilo e tem a capacidade de causar danos no epitélio, fragmentação do parasito e morte. A chegada dos eosinófilos até a luz intestinal depende de IL-5 uma citocina que induz quimiotaxia de eosinófilo e hematopoética porque estimula a diferenciação da célula progenitora mielóide em eosinófilos. A IL-5 também é um fator de crescimento de eosinófilos, pois é importante na maturação destas células. A principal fonte de IL-5 são linfócitos T que serão estudados no próximo capítulo.

:: PERGUNTA?? ::



Atividades

Por que as imunoglobulinas (IgG) são mais eficientes na proteção do organismo quando comparamos com a pele, mucosa e outras barreiras naturais de defesa?

2.4 A VIA CLÁSSICA DO SISTEMA COMPLEMENTO

A via clássica do sistema complemento é um poderoso mecanismo efetor ativado pelas classes IgM e IgG. O termo “via clássica” foi designado devido esta via ter sido a primeira a ser descoberta, porém é bem conhecido que a via chamada alternativa, descoberta posteriormente, é filogeneticamente mais antiga. Os Ag estranhos presentes no sangue que são neutralizados por Igs específicas pré-existentes sofrem a ação do sistema complemento por um mecanismo semelhante àquele descrito anteriormente para via alternativa.

Neste caso o primeiro componente a ser ativado se chama C1, uma proteína formada por cadeias polipeptídicas denominadas C1q, C1r e C1s (Figura 18).

O componente C1 se liga aos domínios da região Fc de duas moléculas de IgM ou IgG resultando na ativação da proteína e iniciação da cascata de ativação da via clássica. Uma vez ativado, C1 adquire atividade enzimática e realiza a clivagem do componente C4 e C2 presente no soro do indivíduo. Como resultado ocorre a geração de dois fragmentos C4b e C4a e, C2b e C2a. Os fragmentos maiores são codificados pela letra b enquanto os fragmentos menores são codificados pela letra a. Os fragmentos C3b e C2b se ligam a C1 originando a enzima C3 convertase da via clássica. Esta enzima por sua vez cliva o componente C3 em dois fragmentos, uma maior (C3b) que se liga na C3 convertase originando uma segunda enzima denominada C5

convertase da via clássica e, outro fragmento menor (C3a) que é liberado para a corrente sanguínea.

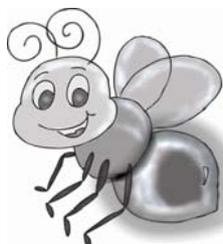


Figura 18. O componente C1 do sistema complemento.

C1 consiste em um complexo protéico representado pelas proteínas C1q, C1r e C1s. No detalhe os braços longos de C1q são responsáveis pela ligação nos domínios da região Fc das IgM ou IgG.

Fonte: http://2.bp.blogspot.com/_8xq6npjRLj8/Sz6D0btwDqI/AAAAAAAAAYI/xwJzRDs7CPc/s320/complemento.jpg

:: FIQUE LIGADO!! ::



As enzimas C3 convertase e C5 convertase da via clássica apresentam estruturas diferentes daquelas enzimas da via alternativa, no entanto as enzimas de ambas as vias têm as mesmas funções: clivar C3 e C5, respectivamente.

Assim como na via alternativa, a clivagem de C3 e geração de C3b são importantes não só para formação da enzima C5 convertase como também para a iniciação de novas cascatas de ativação da via alternativa uma vez que C3b tem afinidade por epítopos presentes nas membranas dos Ag estranhos.

Após a formação da enzima C5 convertase, a via clássica converge para a mesma fase de resolução descrita anteriormente. Há o recrutamento dos componentes C5 a C9 (poli-C9) até a geração do MAC que provoca a lise osmótica da célula bacteriana ou fúngica. As vias de ativação do sistema complemento são finamente reguladas por um conjunto de proteínas plasmáticas.

2.5 A REGULAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO

As cascatas de ativação do sistema complemento devem ser reguladas com o objetivo de impedir que os produtos de degradação provoquem danos aos tecidos normais. Para isso as proteínas chamadas de reguladoras da atividade do complemento (*do inglês, Regulators of Complement Activity – RCA*) exercem um papel crucial na regulação do complemento (Tabela 1).

Tabela 1. As principais proteínas reguladoras do complemento

Proteína	Regula a atividade	Função
Inibidor de C1	C1r, C1s	Dissocia C1r e C1s de C1q
Fator I	C4b, C3b	Clivagem dos fragmentos
Fator H, DAF	C3b, (C3b, C4b)	Desorganiza a C3 convertase
CD59	C7, C8	Impede a formação do MAC

:: SAIBA MAIS... ::



A deficiência de proteínas do sistema complemento causa doenças caracterizadas pela maior susceptibilidade a infecções bacterianas e fúngicas.

3. LINFÓCITO T E A RESPOSTA IMUNE CELULAR

Os linfócitos T (LT) também são originados na medula óssea a partir de uma célula progenitora. No entanto, o timócito ou célula Pró-T migra para o interior do timo onde realiza o processo de maturação. Os estágios de diferenciação celular do LT são: Pró-T, Pré-T, Duplo positivo, Positividade única e célula T virgem madura.

A célula tronco expressa as moléculas de superfície c-kit, CD44 enquanto a célula Pró-T também expressa o CD25. A entrada no timo é determinante para o início do processo de maturação. A célula Pró-T não apresenta DNA recombinado e não expressa o receptor para o Ag do LT (*do inglês, T Cell Receptor – TCR*). A célula Pré-T inicia a recombinação gênica e expressão do receptor pré-T. A célula duplo-positiva expressa ambos os co-receptores CD4 e CD8 além do TCR e baixos níveis do complexo CD3 enquanto a célula de positividade única expressa apenas o CD4 ou CD8 na superfície além do TCR. Os estágios de diferenciação denominados duplo-positivo e de positividade única dependem da presença de Ag próprios. A célula T virgem expressa TCR, CD4 ou CD8, elevados níveis do complexo CD3 e deve sofrer ativação na periferia.

3.1 O PAPEL DO TIMO NA MATURAÇÃO DO LINFÓCITO T

O timo é uma glândula localizada na região do mediastino (Figura 19). A atividade do timo é bastante elevada após o nascimento até o final da puberdade que representa o período de grande proliferação e maturação de LT nos seres vertebrados. Após a entrada no timo, os timócitos recebem vários estímulos necessários para a sua sobrevivência, proliferação e locomoção no interior deste órgão. A presença de hormônios (ex. timosina) produzidos por células do estroma tímico e quimiocinas que atraem os timócitos da região do córtex até a medula tímica são considerados cruciais para o sucesso da maturação dos linfócitos T.

Inicialmente os timócitos penetram no córtex tímico onde se inicia a proliferação destas células e a recombinação dos genes das cadeias polipeptídicas que formam o receptor TCR. A maior parte dos timócitos expressa o TCR $\alpha\beta$ e ambos os co-receptores CD4 e CD8 tornando-os capazes de reconhecer Ag no interior do timo. Os LT são as únicas células que dependem do reconhecimento de Ag na superfície de outra célula. Estas células são as APCs do timo como as células epiteliais, macrófagos e células dendríticas. As APCs tímicas apresentam Ag próprios associados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (*do inglês, Major Histocompatibility Complex – MHC*). Estas moléculas estão presentes na superfície da APC ligadas a fragmentos do Ag e podem ser de dois tipos: molécula de MHC de classe I e MHC de classe II. Como mencionado anteriormente, os Ag tímicos são próprios porque este órgão é

totalmente livre de contaminação. As APCs expressam genes de Ag órgão-específicos capacitando-as a apresentar moléculas originalmente localizadas em diferentes sítios anatômicos como coração, pulmão, fígados e demais órgãos do corpo.

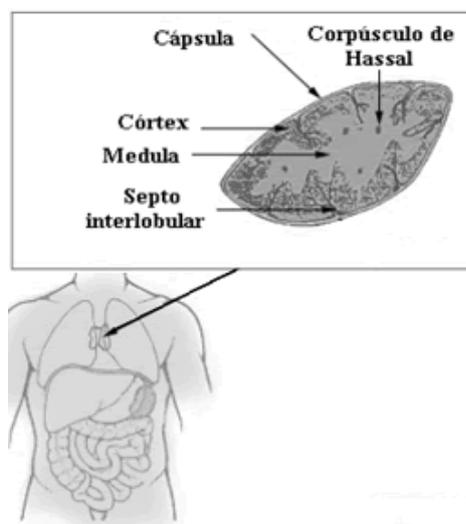


Figura 19. A glândula timo.

Este órgão linfóide primário localizado na região do mediastino é o local de maturação do LT. No detalhe a anatomia do timo mostrando a cápsula, córtex, medula, septo interlobular e o corpúsculo de Hassal. Os tímócitos penetram no córtex e migram em direção a medula tímica durante a aquisição dos receptores de superfície entre eles o TCR, CD4 ou CD8 principalmente. Este processo é estimulado por hormônios e quimiocinas necessárias para a viagem do LT pelo timo.

Fonte: http://www.ogruppo.org.br/imagens/mensagens/glandula_timo.jpg

O objetivo de apresentar Ag próprios aos tímócitos é induzir um processo de tolerância ou não reatividade ao próprio. Isto porque os LT devem realizar respostas de defesa apenas contra os Ag estranhos. Para que a tolerância seja induzida aos tímócitos alguns eventos devem ocorrer durante a maturação no timo: a determinação da positividade única dos tímócitos e a eliminação dos LT defeituosos.

Os LT duplo-positivos expressando TCR reconhecem Ag próprios na superfície das APCs. Caso o LT reconheça via TCR Ag próprio associado ao MHC de classe I, o co-receptor CD8 que também apresenta afinidade pelo MHC I se ligará resultando na permanência do CD8 na membrana do LT. Neste caso o CD4 deixa de ser expresso e o LT torna-se uma célula de positividade única denominada LTCD8⁺ ou LT citotóxico. Por outro lado, se o LT reconhecer via TCR o Ag próprio associado ao MHC de classe II, o co-receptor CD4 se ligará ao MHC II para o qual tem afinidade determinando a diferenciação desta célula em LTCD4⁺ ou LT auxiliar.

Aqueles LT que não expressam TCR ou apresentam o receptor defeituoso incapaz de reconhecer Ag próprio associado ao MHC morrem por apoptose. Já aqueles LT que reconhecem Ag próprio (seleção positiva) com elevada intensidade da ligação TCR-peptídeo antigênico-MHC também devem sofrer apoptose através de um processo denominado seleção negativa. A eliminação de LT no timo via seleção negativa garante que apenas LT saudáveis e que toleram Ag próprios devem sobreviver e ser encarregados de realizarem as respostas imunes protetoras na periferia do corpo (Figura 20).

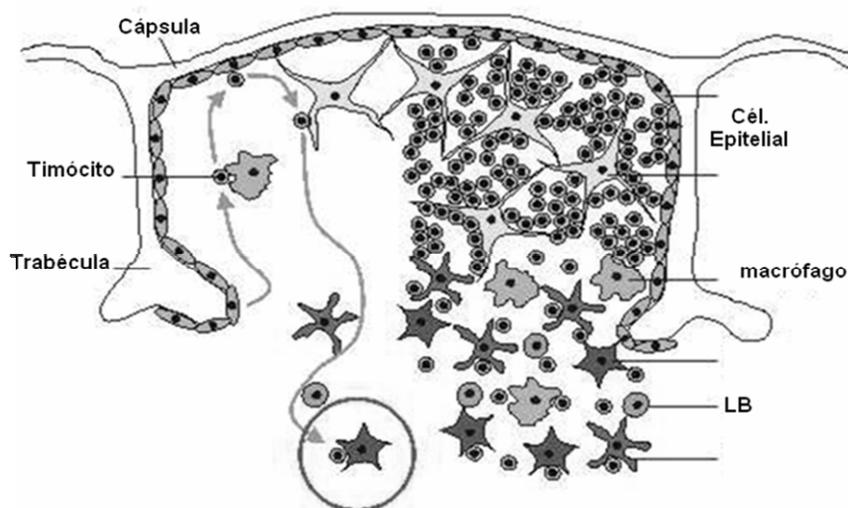


Figura 20. Seleção dos linfócitos T.

Os timócitos migram do córtex até a medula (círculo abaixo) durante a maturação. Observe que a maior parte dos timócitos não conclui o processo de maturação devido à seleção negativa que elimina as células defeituosas. Ao final da maturação tímica, os LT migram para a corrente sanguínea e órgãos linfóides periféricos (não mostrado).

Fonte: http://www.sfb405.uni-hd.de/Kyewski_files/thymus.jpg

A ativação do LT após o reconhecimento do Ag está condicionada a intensidade ou avides da ligação TCR-peptídeo-MHC. Sabe-se que as interações com avides intermediária entre LT e os Ag próprios apresentados no timo não ativam os LTs. Este comportamento dos LT é fundamental na indução da tolerância no timo, tolerância central. Por outro lado, se a avides do reconhecimento antigênico no timo for elevada o LT receberá um sinal de morte o que determina a sua eliminação. As interações com elevada avides são necessárias para a ativação dos LT o que resulta na destruição do Ag. Aqueles LT que reconhecem Ag próprio com elevada avides são considerados células potencialmente nocivas (LT autorreativo) ao organismo porque uma vez liberadas do timo para a periferia estes LT poderiam reconhecer e agredir tecidos e órgãos causando doenças autoimunes.

Atualmente não é conhecido nenhum mecanismo de reparação do TCR defeituoso para as células T autorreativas, no entanto, acredita-se que algumas destas células podem se diferenciar em LT regulatórios que consistem em uma nova sub-população de LT responsáveis pela regulação das respostas imunes. Uma provável fonte de citocinas envolvidas no processo de diferenciação em LT regulatórios seria o corpúsculo de Hassal conhecido como um marcador histológico do timo e que até recentemente não se conhecia alguma função específica desta estrutura na maturação do LT.

Uma vez concluído a maturação no timo, os LTa e LTc migram do interior deste órgão para a periferia representada pela corrente sanguínea, linfonodos, baço e MALTs. No interior destes órgãos linfóides periféricos os LT terão o primeiro contato com os Ag estranhos apresentados por APCs profissionais. Para melhor entendermos os processos de apresentação e reconhecimento de Ag estranhos pelos LT se faz necessário conhecer a função das moléculas do MHC.

4. O COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE - MHC

O MHC (*do inglês, Major Histocompatibility Complex*) consiste em um conjunto de genes altamente polimórficos localizados no DNA dos seres vertebrados. Nos seres humanos este complexo gênico é chamado de antígeno leucocitário humano (*do inglês, Human Leucocyte Antigen – HLA*). Os principais genes do HLA são denominados de HLA-A, HLA-B e HLA-C. Em camundongos o MHC é chamado de H2. Esta espécie animal é a mais estudada em Imunologia devido à grande semelhança ao MHC humano quanto a localização cromossômica, estrutura e função das moléculas do MHC. O termo MHC deve-se aos estudos realizados com transplantes que demonstraram a participação destas moléculas nos processos de aceitação ou rejeição dos enxertos. As moléculas do MHC são expressas nas superfícies de todas as células nucleadas na forma de heterodímeros. As moléculas do MHC são classificadas em moléculas de classe I e classe II (Figura 21).

A molécula de classe I apresenta-se na forma de duas cadeias polipeptídicas sendo a primeira chamada de cadeia α e a segunda cadeia β 2-microglobulina. A cadeia α apresenta regiões extracelular, transmembranar e intracelular enquanto que a β 2-microglobulina é uma cadeia extracelular. As duas cadeias polipeptídicas estão unidas por forças não covalentes e formam uma fenda na região extracelular onde se liga o peptídeo antigênico.

A molécula de classe II apresenta uma estrutura semelhante à molécula de classe I, no entanto ambas as cadeias polipeptídicas α e β apresentam as três regiões extracelular, transmembranar e intracelular. As regiões denominadas α 1 e β 1 formam a fenda para a ligação do peptídeo antigênico.

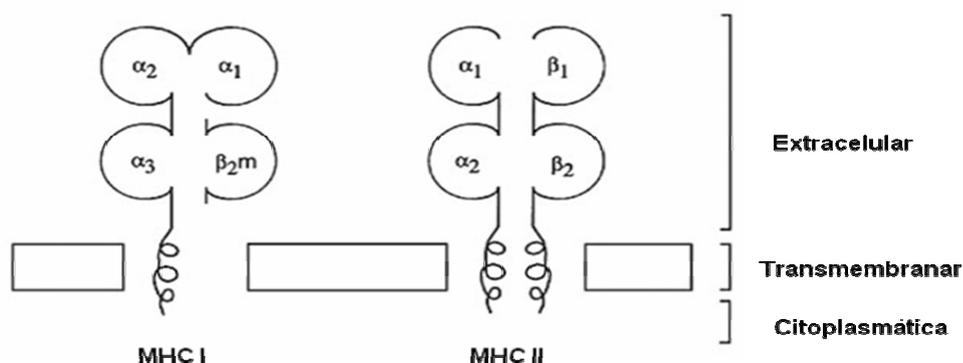


Figura 21. Estrutura das moléculas do MHC.

A molécula de classe I apresenta uma cadeia α com regiões extracelular, transmembranar e citoplasmática enquanto ambas as cadeias da molécula de classe II apresentam as três regiões acima. Observar que a região da fenda de ligação com o peptídeo antigênico na molécula de MHC de classe I é formada pelas subunidades α 1 e α 2 enquanto a fenda da molécula de classe II é formada por α 1 e β 1.

Fonte: <http://www.funpecrp.com.br/GMR/year2006/vol4-5/images/gmr0218fig2.jpg>

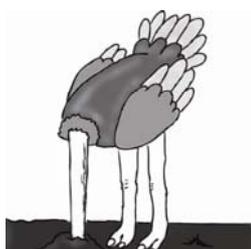
:: PERGUNTA?? ::**Atividades**

O que pode acontecer a uma pessoa que perdeu o timo na infância? O que você acha?

4.1 O PROCESSAMENTO E A APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENO

Na periferia do corpo as APCs estão preparadas para fagocitar, processar (fragmentar) e apresentar os peptídeos antigênicos para os LT. Os mecanismos de processamento e apresentação antigênica dependem da natureza do Ag influenciado as respostas de defesa realizadas pelos linfócitos T. Os Ag denominados de natureza endógena como os vírus e algumas bactérias e protozoários são aqueles de vida intracelular obrigatória porque são capazes de proliferar no interior de células. Já os Ag chamados de exógenos são aqueles fagocitados como a maioria das bactérias de vida extracelular (ex. salmonela e E. coli). Os Ag endógenos são processados e apresentados pela via endógena do MHC (Figura 22).

Se imaginarmos um vírus penetrando uma célula poderemos observar que inicialmente o vírus adere à membrana plasmática e em seguida inocula o seu material genético no citosol. Os vírus utilizam o maquinário genético da célula hospedeira para sintetizar as suas próprias proteínas resultando na formação de novas partículas virais. Parte destas partículas recém sintetizadas sofre a ação de um complexo enzimático, presente no citosol das células nucleadas, chamado de proteassomo. As enzimas do proteassomo degradam proteínas citosólicas que tenham sido ubiquitinizadas o que significa desnaturação após a ligação da proteína ubiquitina presente no citosol. As proteínas virais desnaturadas penetram no proteassomo onde podem ser clivadas gerando peptídeos. Em seguida os peptídeos solúveis no citosol são bombeados para o interior do retículo endoplasmático rugoso (RER) pela ação do transportador de peptídeos (*do inglês, Transporter of Antigenic Peptides – TAP*) presente na membrana desta organela. Os peptídeos que apresentarem uma seqüência de aminoácidos com tamanho adequado e afinidade pela fenda de ligação do Ag da molécula de MHC de classe I, sintetizada no interior do retículo, se ligará formando o complexo MHC I-peptídeo viral. Este complexo migra para o aparelho de golgi localizado próximo ao retículo e em seguida é transportado em vesículas até a superfície da célula apresentadora. O complexo é facilmente inserido na membrana plasmática onde permanecerá exposto para o reconhecimento pelo LTCD8⁺.

:: FIQUE POR DENTRO!! ::**Importante!**

O transporte dos peptídeos virais por vesículas do aparelho de golgi até a membrana plasmática da APC se faz necessário para evitar o ataque de enzimas proteolíticas citosólicas sobre o complexo MHC-peptídeo. A destruição do complexo impediria a apresentação dos peptídeos ao LT implicando na falta de resposta imune.

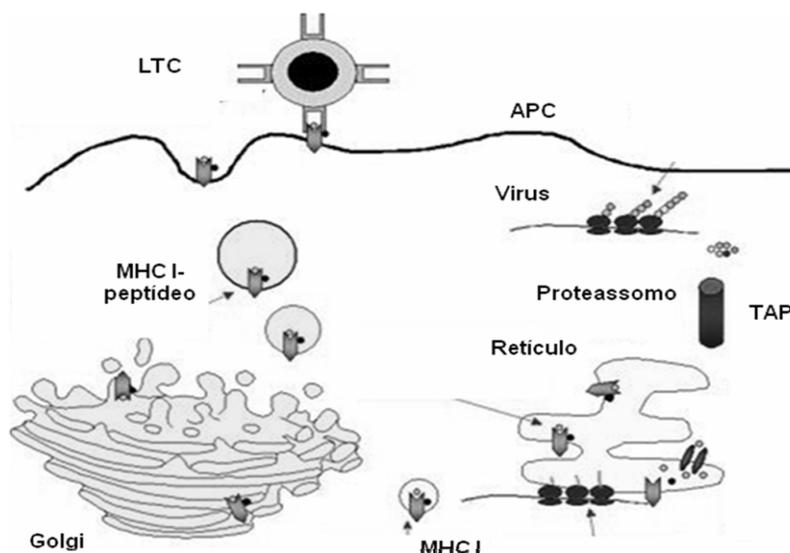


Figura 22. A via endógena do MHC

As proteínas virais são processadas no proteassomo fornecendo os peptídeos bombeados pelo TAP para o interior do retículo endoplasmático rugoso. No interior dessa organela ocorre a ligação MHC I-peptídeo e migração do complexo para o aparelho de Golgi e depois para a membrana plasmática da APC. Acima observamos o LTC reconhecendo o Ag endógeno.

Fonte: http://www.rbi.fmrp.usp.br/imunobiol/aulas/t10_12220300.jpg

A via exógena de processamento e apresentação antigênica se inicia com a fagocitose do Ag de natureza extracelular (Figura 23). No caso de uma salmonela, inicialmente APCs localizadas no trato intestinal fagocitam a bactéria utilizando os receptores da resposta inata como descrito na Unidade I. Posteriormente, observa-se a formação de uma organela chamada de fagossomo que tem a mesma constituição da membrana plasmática da APC. O fagossomo apenas aprisiona a bactéria, mas sem a capacidade de processamento, no entanto, quando ocorre a fusão do fagossomo com lisossomos presentes no citosol origina-se uma nova organela, o fagolisossomo.

O fagolisossomo contém enzimas lisossômicas que contribuem para a digestão da bactéria gerando os peptídeos antigênicos. Neste caso, os peptídeos não podem ser bombeados para o interior do RER, pois se encontram no interior do fagolisossomo sendo assim necessária outra estratégia para ligação nas moléculas do MHC. Concomitantemente a geração dos peptídeos, moléculas de MHC de classe II são sintetizadas no RER e transportadas em vesículas do aparelho de golgi em direção a membrana plasmática da APC. Caso ocorra o encontro do fagolisossomo com a vesícula contendo o MHC de classe II, as duas vesículas sofrem fusão facilitando o preenchimento da fenda de ligação para o peptídeo. Sabe-se que a molécula de MHC de classe II, no interior do RER, apresenta a fenda protegida por uma cadeia polipeptídica denominada cadeia invariante. A função desta cadeia é impedir que peptídeos de natureza endógena bombeados pelo TAP se liguem a fenda da molécula de MHC de classe II. Portanto, após a fusão do fagolisossomo com a vesícula do golgi contendo o MHC ligado a cadeia invariante, ocorre a degradação desta última pelas enzimas lisossômicas liberando assim, a fenda de ligação para o Ag que se associa com o peptídeo bacteriano de natureza exógena. Em seguida

o complexo MHC de classe II-peptídeo migra para a superfície da membrana plasmática da APC onde permanecerá exposto para o reconhecimento pelo $LTCD4^+$.

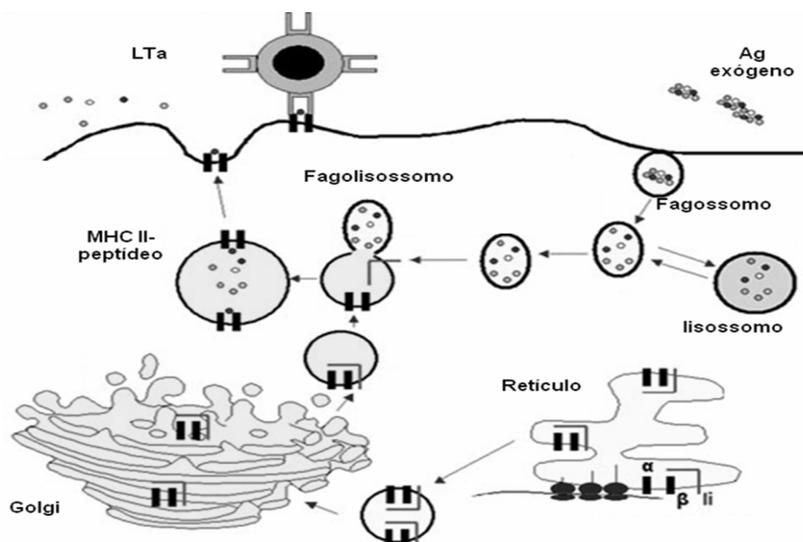


Figura 23. A via exógena do MHC

O Ag exógeno é fagocitado e processado no interior de vesículas. A fusão com vesículas do Golgi contendo moléculas de classe II anteriormente sintetizadas no retículo permitem a formação do complexo MHC II-peptídeo que é reconhecido na superfície da APC pelo $LTCD4^+$ (LT auxiliar).

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/bowers/fig2-mhc2.jpg>

Esses dois principais mecanismos de processamento e apresentação antigênica dependentes do MHC permitem que as APCs realizem uma triagem da qualidade dos peptídeos endógenos e exógenos presentes no organismo. Se os peptídeos apresentados forem oriundos de Ag próprios (ex. albumina do sangue) certamente os linfócitos reconhecerão, mas não serão ativados, pois estas células foram treinadas no timo para tolerar estes Ag. No entanto, se os peptídeos apresentados forem de natureza estranha, os linfócitos reconhecerão e serão ativados devido à alta avides do complexo trimolecular TCR-peptídeo-MHC como determinado na seleção tímica. O reconhecimento dos peptídeos estranhos via TCR induz a ativação do LT como descrito adiante.

4.2 ATIVAÇÃO DO LINFÓCITO T

Os LT reconhecem peptídeos estranhos associados ao MHC. Ambas as populações de LT virgens têm o primeiro contato com Ag estranhos nos órgãos linfóides periféricos. A presença de APCs profissionais como os macrófagos e as células dendríticas garantem o processamento e apresentação dos peptídeos antigênicos. Durante o reconhecimento o LT interage o TCR com a região polimórfica da molécula de MHC onde se encontra ligado o peptídeo. Além da interação com o TCR, os co-receptores CD4 ou CD8 também interagem com regiões não polimórficas do MHC. Os $LTCD8^+$ apresentam TCR com afinidade pelo MHC de classe I enquanto o $LTCD4^+$ tem afinidade pelo MHC de classe II.

A especificidade do TCR dos linfócitos por diferentes moléculas do MHC garante a ativação de diferentes populações celulares contra Ag estranhos diferentes. Logo as células T $CD8^+$ devem se ativar apenas contra Ag de natureza endógena enquanto as células T $CD4^+$ se

ativam contra Ag exógenos. Esta estratégia do sistema imunológico se relaciona com as funções efetoras de cada sub-população de linfócitos T uma vez que os LTCD8⁺ apresentam função de citotoxicidade necessária para eliminação de Ag endógenos enquanto os LTCD4⁺ são células exclusivamente produtoras de citocinas.

A ativação dos LTCD4⁺ implica na liberação de citocinas como a IL-2 que age de maneira autócrina induzindo proliferação dos linfócitos (expansão clonal), geração de clones efetores e de memória. Os clones efetores produzem citocinas que auxiliam nas respostas de eliminação dos Ag estranhos.

A formação do complexo trimolecular, primeiro sinal para a ativação do LT, não é suficiente para a total ativação do LT e, portanto se faz necessário demais interações moleculares, segundos sinais, entre os linfócitos e as APCs. O segundo sinal para ativação do LT consiste em várias interações às vezes denominadas de sinais coestimulatórios. Os mais importantes são as moléculas B7 expressas na superfície das APCs que interagem com o CD28 presente na membrana plasmática dos LT. Este sinal coestimulatório é crucial para ativação dos linfócitos assim como a interação entre o CD40 das APCs com o ligante do CD40 (CD40L) nos linfócitos. O CD40 é uma molécula constitutiva nas APCs enquanto o CD40L é induzido após a formação do complexo trimolecular. Por outro lado, o CD28 é constitutivo nos LT enquanto as moléculas B7 são induzidas nas APCs após a entrada do Ag nesta célula. Sabe-se que APCs como as células dendríticas apresentam altos níveis de moléculas B7 na membrana e por isso esta célula é a principal APC envolvida na ativação de LT virgens. Vários estudos demonstraram a importância dos coestímulos na ativação dos LT.

- APCs deficientes de moléculas coestimulatórias falham em induzir ativação dos LT que se tornam não responsivos aos Ag estranhos, processo denominado anergia;
- Se as APCs deficientes forem transfectadas com genes de B7 os LT recuperam a capacidade de ativação, proliferam e se diferenciam em cultura de células;
- Caso as culturas de células contendo as APCs deficientes forem estimuladas com Ig anti-CD28 (mimetiza o papel de B7) os LT também se ativam;
- Porém se as culturas não tiverem APCs apresentando peptídeos estranhos e os LT forem estimulados com Ig anti-TCR os LT não se ativam e desenvolvem anergia. Isto demonstra que apenas o primeiro sinal não é suficiente para ativar os LT;
- Por outro lado se os linfócitos em cultura forem estimulado como Ig anti-TCR e Ig anti-CD28 os LT se ativam, proliferam e se diferenciam.

A ativação do LT depende de uma série de eventos intracelulares iniciados pelos sinais enviados pelo TCR para o citosol do linfócito. A participação de proteínas adaptadoras, ativação das vias das enzimas fosfolipase C γ 1, ERK e JNK bem como a geração dos fatores de transcrição NFAT, NF κ B e AP-1 já foram descritos. Em seguida descreveremos as fases efetoras dos linfócitos T ativados.

4.3 O LTCD8⁺ E A RESPOSTA DE CITOTOXIDADE

As células T CD8⁺ ativadas são capazes de eliminar Ag estranhos de natureza endógena via mecanismos de citotoxicidade.

Adicionalmente, estas células dependem da citocina $\text{IFN-}\gamma$, segundo sinal, produzida por LTCD4^+ para adquirirem o status de célula ativada ou LT citolíticos. A necessidade deste segundo sinal ocorre apenas para as respostas primárias do LTCD8^+ e levanta um questionamento importante.

- Como os LTCD8^+ que reconhecem Ag endógenos via MHC de classe I serão estimulados por $\text{IFN-}\gamma$ se esta citocina é produzida por LTCD4^+ que reconhece Ag exógeno apresentado via MHC de classe II?

A resposta para este questionamento encontra-se no conhecimento de uma terceira via de processamento de Ag denominada via cruzada (Figura 24). As células infectadas por Ag estranhos de natureza endógena são fagocitadas permitindo que estes Ag além de serem apresentados pela via do MHC de classe I para os LTCD8^+ também sejam apresentados pela via exógena, dependente de fagocitose e formação de fagolisossomo, do MHC de classe II para os LTCD4^+ produtores da citocina $\text{IFN-}\gamma$. Agora as células citotóxicas na presença do coestímulo ($\text{IFN-}\gamma$) estão prontas para exercer a sua função biológica de eliminar Ag endógenos.

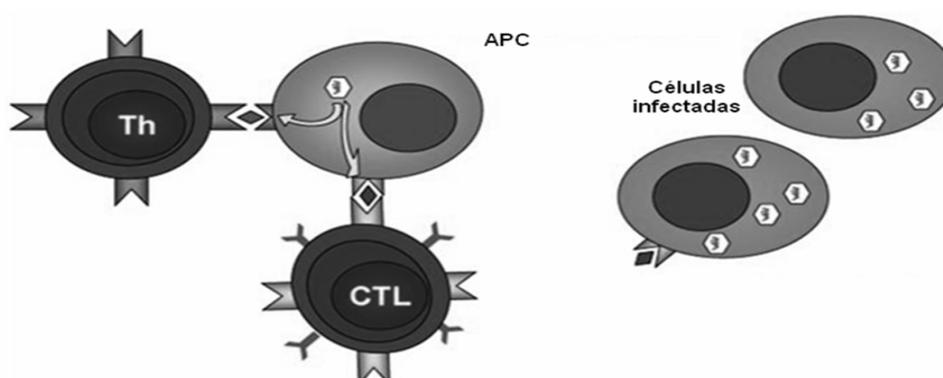


Figura 24. Via de apresentação cruzada.

As células infectadas sofrem fagocitose por APCs que processam e apresentam peptídeos virais pela via exógena do MHC de classe II. Os LT auxiliares produzem a citocina $\text{IFN-}\gamma$ necessária para ativação do LT citotóxico (citólítico / estado ativado). Th - linfócito T auxiliar; CTL – linfócito T citotóxico (CD8^+).

Fonte: <http://www.oliphant.org.au/april2008/images/khanna/Slide2.JPG>

Os LT citotóxicos apresentam uma rica granulação citoplasmática contendo várias toxinas como a perforina e a granzima que são liberadas sobre as células infectadas. O contato entre a célula citotóxica e a célula alvo infectada é muito próximo levando a formação de um espaço virtual chamado de sinapse imunológica. Estudos recentes de imagem do sistema imunológico revelaram uma concentração dos grânulos do LT citotóxico na região da sinapse garantido que o conteúdo tóxico será eliminado apenas sobre a célula infectada. Após a desgranulação do linfócito, as perforinas que receberam este nome devido à semelhança estrutural com o componente poli-C9/MAC do sistema complemento são inseridas na membrana plasmática da célula infectada formando poros no alvo a ser eliminado. Os poros de perforina facilitam a entrada das granzimas que têm a capacidade de ativar a via das enzimas caspases que iniciam o processo de morte celular programada denominado de apoptose (Figura 25).

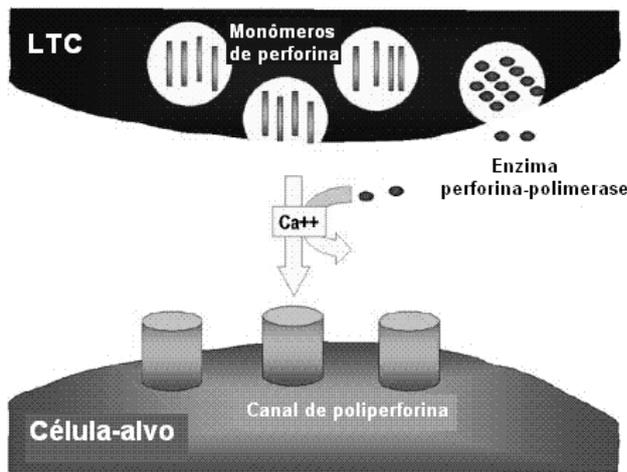


Figura 25. Os poros de perforina

O LNC ativado libera os grânulos contendo a perforina que forma poros na membrana da célula alvo. A morte pode ser induzida por lise osmótica ou apoptose ativada granzimas ou cálcio extracelular.

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap12-8a.GIF>

O LT citotóxico se distancia da célula infectada após a liberação das toxinas para não ser a alvo do seu próprio mecanismo de

citotoxicidade. Esta célula é considerada o principal mecanismo antitumoral presente no organismo e, é responsável pela vigilância imunológica que consiste em um processo de verificação fenotípica das células nucleadas do corpo. Caso alguma transformação celular esteja ocorrendo, isto implicará em alterações de determinantes antigênicos expressos nas superfícies celulares. Tais alterações devem ser reconhecidas como estranhas e provocar o reconhecimento com alta avides via TCR.

A ativação dos LT citotóxicos e eliminação dos Ag transformados é um bom exemplo da competência da resposta citotóxica na prevenção do desenvolvimento de tumores malignos.

O papel marcante dos LT citotóxicos como células da imunidade antitumoral é bem conhecido. Porém alguns pacientes apresentam deficiência na produção e/ou ativação destas células e ainda assim não são mais susceptíveis ao crescimento de tumores malignos. Este fato nos leva a pensar que deva existir um segundo mecanismo antitumoral. Um componente da resposta inata é responsável por esta função, as células NK.

4.4 NK: CÉLULAS CITOTÓXICAS DA RESPOSTA INATA

As células NK são linfócitos, porém não expressam TCR nem alta capacidade de discriminar Ag estranhos e, por isso são consideradas células da resposta imune inata. Estas também participam da vigilância imunológica e são capazes de eliminar células infectadas, transformadas ou tumorais. Para tanto, as NK utilizam dois receptores de membrana sendo um de ativação e o outro inibitório (Figura 26).

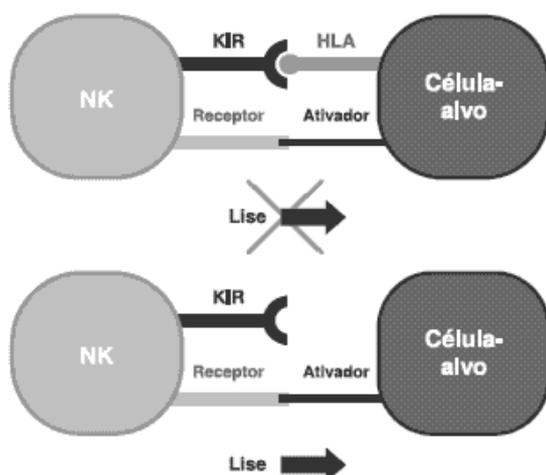


Figura 26. Ativação da célula NK

Acima, a célula NK em repouso após o engajamento de ambos os receptores de ativação e inibitório. Abaixo, a ausência do MHC de classe I impede a ligação do receptor inibitório favorecendo a ativação, liberação de grânulos contendo toxinas e morte da célula alvo. KIR – receptor inibitório de morte (do inglês, *Killer Inhibitory Receptor*); HLA – antígeno leucocitário humano (MHC humano).

Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/jped/v84n4s0/4s1a09f1.gif>

As células nucleadas do corpo expressam constitutivamente um ligante de célula NK que interagem com o receptor de ativação. Esta interação molecular envia sinais de ativação para o citosol da NK dependente de enzimas cinases que iniciam as cascatas bioquímicas que levam a desgranulação da célula. Por outro lado, a interação simultânea do receptor inibitório com moléculas de MHC de classe I bloqueia a ativação da NK já que esta segunda interação ativa enzimas fosfatases que desfosforilam o receptor de ativação da célula NK impedindo a liberação dos grânulos contendo as toxinas semelhantes àquelas liberadas pelos LT citotóxicos.

O sinal de ativação para as células NK depende da ausência das moléculas de MHC de classe I na superfície de células transformadas ou infectadas. Nestes casos a falta de expressão do MHC está associada a mecanismos de escape dos tumores e/ou patógenos intracelulares que inibem a síntese das moléculas de classe I na tentativa de silenciar a resposta imune adaptativa e favorecer a proliferação dos patógenos e a infecção. Células nucleadas com baixos níveis de MHC sofrem o ataque das células NK devido à falta de interação do receptor inibitório com as moléculas de classe I. Em seguida observa-se a ativação das NK que liberam são grânulos tóxicos causando a morte da célula alvo juntamente com o patógeno. As células NK ativadas além de destruir células infectadas também secretam citocinas como o $\text{INF-}\gamma$ que é um potente ativador de macrófagos.

As células NK infiltrantes de tumores têm sido utilizadas como ferramentas no tratamento de alguns tumores malignos. Inicialmente se remove uma biópsia do tumor e se realiza a separação das células NK utilizando-se anticorpos específicos para marcadores de superfície das NK que posteriormente são estimuladas em meio de cultura com a citocina IL-2. Como resultado se obtém as células matadoras ativadas por linfocinas (*do inglês, Lymphokine Activated Killers – LAK*) que são reintroduzidas no paciente e apresentam um elevado potencial citotóxico. A diferenciação de células NK em LAK é uma de muitas técnicas de laboratório já disponíveis na Clínica para o tratamento de doenças.

A resposta imune mediada por LT é altamente complexa e necessária para a montagem de respostas imunes adaptativas apropriadas para cada tipo de Ag estranho que venha penetrar no organismo. As respostas inatas também são afetadas pelas citocinas secretadas pelos LT principalmente a população de células T CD4^+ .

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

Quais as células responsáveis pela destruição dos tumores? Elas agem da mesma maneira? Explique.

UNIDADE 3 REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE

1. AS SUBPOPULAÇÕES Th1 E Th2

De acordo com a natureza do Ag e sítio anatômico ou microambiente imunológico onde ocorre a apresentação e o reconhecimento antigênico, os $LTCD4^+$ podem se diferenciar nas subpopulações de células T auxiliar do tipo I ou II (*do inglês, T helper cell* – célula Th1 ou Th2).

1.1 AS CÉLULAS TH1 SECRETAM $IFN-\gamma$

As células Th1 são originadas a partir de $LTCD4^+$ virgem após o primeiro reconhecimento antigênico. As células T virgens estão localizadas no interior dos órgãos linfóides periféricos onde têm o primeiro contato com os Ag estranhos. Após a ativação da célula T ocorre a diferenciação em clones efetores e de memória de perfis Th1 quando a apresentação antigênica ocorrer na presença de elevados níveis da citocina IL-12. Esta é uma citocina da imunidade inata cujas principais fontes são os macrófagos. Portanto estas APCs são fundamentais em induzir a diferenciação dos clones de perfil Th1 (Figura 27).

A célula Th1 apresenta fenótipo semelhante às demais células T, no entanto secreta um conjunto de citocinas característico desta sub-população celular. Os clones Th1 são produtores das citocinas IL-2 e $IFN-\gamma$, sendo a primeira um fator de crescimento de células T e a segunda responsável pela ativação de macrófagos, LB e $LTCD8^+$.

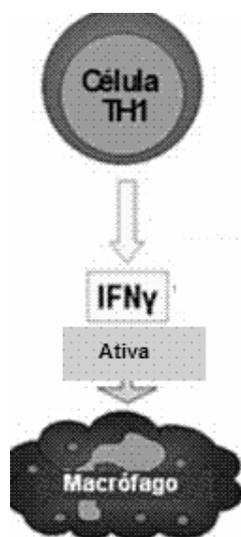


Figura 27. Células Th1

Célula Th1 secreta a citocina $IFN-\gamma$ que consiste em um potente ativador de macrófagos. Estes fagócitos apresentam uma atividade microbicida aumentada após ativação mediada pelo interferon indicando que a resposta Th1 melhora o papel de respostas inatas como a fagocitose e morte intracelular de Ag estranhos.

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap12-3.GIF>

A IL-2 foi descoberta no início da década de 80 durante estudos que resultaram no cultivo de células T em laboratório. Após este achado a pesquisa na área da Imunologia celular se desenvolveu fortemente contribuindo para o entendimento das funções das células T e da descoberta sobre o principal reservatório para a infecção do vírus HIV, o $LTCD4^+$. O $IFN-\gamma$ é uma citocina de múltiplas funções sendo um potente ativador de macrófagos que é liberado logo após a apresentação do Ag por esta APC. Os macrófagos expressam receptores de superfície para o $IFN-\gamma$ e são ativados por um mecanismo dependente de CD40 que envia sinais intracelulares que resultam no aumento da produção de várias proteínas e leva a ativação dos fatores de transcrição $NF-\kappa B$ e AP-1. Na tabela abaixo podemos observar algumas das funções dos macrófagos ativados.

A ativação de macrófagos pelo IFN- γ (Tabela 2) é crucial na eliminação de patógenos de vida intracelular como observado na doença leishmaniose. Nesta patologia os indivíduos susceptíveis à infecção pelo protozoário produzem níveis reduzidos de interferon resultando numa ativação ineficaz dos macrófagos. Os monócitos do sangue e os macrófagos nos tecidos são alvos da infecção pela leishmania que é inoculada no ser humano por mosquitos do tipo flebótomo durante o repasto sanguíneo das fêmeas infectadas.

Como os fagócitos de indivíduos susceptíveis não conseguem eliminar completamente a leishmania, o sistema imunológico monta uma potente resposta inflamatória no local da infecção causando lesões no tecido e aparecimento de feridas na pele conhecidas como úlceras leishmanióticas caracterizadas por bordas bem definidas e bastante doloridas. Inúmeros estudos demonstraram a deficiência de IFN- γ nesses indivíduos através de testes laboratoriais capazes de quantificar a citocina no soro do paciente. O NO é importante na eliminação de patógenos intracelulares presentes no citosol de células e serve como um importante marcador biológico na doença causada pela leishmania. Este intermediário do oxigênio representa o principal mecanismo de morte intracelular contra parasitos como a leishmania.

Tabela 2. Funções dos macrófagos ativados pelo INF- γ

Macrófago ativado	Função biológica
Aumento na produção de NO, ROIs e enzimas lisossomais	Morte dos microorganismos no citosol e fagolisossomos, respectivamente.
Produção das citocinas TNF, IL-1 e IL-12	TNF e IL-1: recrutamento de leucócitos (inflamação) e IL-12: diferenciação de Th1
Aumento da expressão de coestimuladores B7 e moléculas do MHC	Amplificação das respostas de LT

Estudos utilizando cobaias de laboratório foram pioneiros na descoberta das respostas Th1 e a sua contrapartida regulatória, as respostas Th2. Nestes experimentos a utilização de camundongos isogênicos da linhagem C57bl/6 resistentes a leishmaniose foram injetados na pata com a forma infectante do protozoário. Após algumas semanas foi observado que os animais eram capazes de controlar o crescimento da lesão e a carga parasitária. Isto se deve ao fato que os camundongos C57bl/6 apresentam um perfil genético resistente a leishmaniose caracterizado por elevada produção de NO cuja função é eliminar o parasito. Os níveis de NO e IFN- γ no soro dos animais estavam aumentados justificando a sobrevivência dos animais.

De maneira similar ao camundongo resistente aqueles seres humanos e demais vertebrados que são resistentes a doença apresentam perfis de respostas imunes semelhantes ao do camundongo citado nos estudos. Esses achados foram de grande relevância para o melhor entendimento das respostas imunes contra patógenos intracelulares e, têm contribuído para a pesquisa de novas estratégias terapêuticas para o tratamento da leishmaniose e outras doenças causadas por protozoários como a doença de chagas e malária.

:: SAIBA MAIS... ::



Os flebótomos são contaminados após se alimentarem do sangue de animais silvestres infectados com o protozoário e, ao migrarem para as regiões habitadas transmitem a leishmania para os seres humanos e animais domésticos que se tornam os reservatórios do protozoário nas zonas urbanas.

A liberação de IFN- γ por Th1 também ativa e induz a troca de isotipo de imunoglobulina nos LB. Como descrito anteriormente, as células B apresentam função de APC e, portanto podem sofrer a estimulação via citocinas das células Th1. Os LB estão localizados em grande quantidade no interior dos folículos dos LN, baço e MALTs. Estas células expressam ambas as moléculas de MHC de classe I e II sendo capazes de apresentar peptídeos para diferentes células T.

Posteriormente a apresentação antigênica, as células B são estimuladas pelo IFN- γ que representa um sinal importante para a transcrição do gene da cadeia pesada γ das IgGs originando os clones de LB produtores de IgG específicas para aquele Ag particular. Portanto, a produção da classe IgG depende da colaboração das células Th1 a partir das citocinas secretadas. As IgGs ativam respostas de ADCC, opsonização e fagocitose, protegem o feto e o recém nascido de infecções além de conferir imunidade duradoura nos seres vertebrados como descrito na Unidade II deste livro.

As respostas Th1 são fundamentais na ativação do LT citotóxico. Estudos demonstraram que células TCD8⁺ virgens cultivadas com APCs infectadas reconhecem os peptídeos estranhos, mas não são capazes de eliminar via mecanismos de citotoxicidade a célula alvo. No entanto, a adição de LTCD4⁺ na cultura resulta na diferenciação em Th1, produção de IFN- γ , ativação dos LT citotóxicos e destruição da célula alvo infectada. A adição da citocina diretamente na cultura também estimula as células citotóxicas demonstrando a importância do interferon na indução das respostas de citotoxicidade dependente de linfócito T.

:: SAIBA MAIS... ::



A deficiência de IFN- γ no organismo prejudica a imunidade contra microorganismos patogênicos intracelulares (ex. vírus) e a eliminação de tumores malignos. Esta citocina também é importante na ativação de macrófagos em diferentes órgãos e tecidos.

1.2 AS CÉLULAS TH2 SECRETAM IL-4

A célula Th2 é morfológicamente semelhante às células Th1, porém apresentam um perfil de citocinas completamente diferente (Figura 28). A diferenciação em Th2 depende de um microambiente imunológico rico em IL-4 cujas principais fontes são os mastócitos e as próprias células Th2. Quando as células T CD4⁺ virgens reconhecem Ag estranhos associados ao MHC de classe II e estas células são estimuladas por IL-4 observa-se a diferenciação celular resultando em clones Th2 efetores e de memória. Estas células secretam citocinas como IL-4, IL-5, IL-9, IL-

10, IL-11 e IL-13 cujas funções são distintas e necessárias para induzir uma gama de respostas imunes.

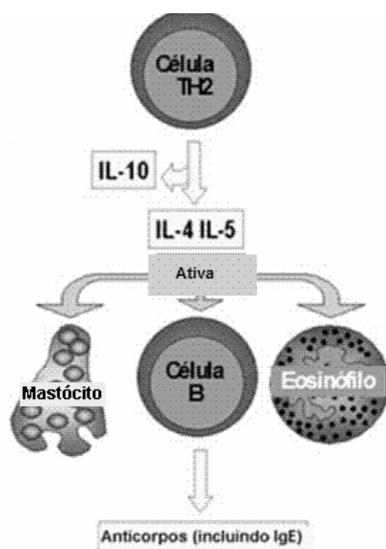


Figura 28. A célula Th2

Célula Th2 secretora de citocinas ativadoras de LB (IgE), mastócito e eosinófilos

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap12-3.GIF>

Os clones Th2 efetores estimulam a diferenciação de células B a partir da liberação das citocinas IL-4 e IL-13 consideradas fundamentais para a troca de isotipo de IgM para IgE. Estas citocinas induzem a síntese da cadeia pesada ϵ da IgE que apresenta um papel crucial nas respostas imunes contra parasitos helmintos via mecanismos de ADCC como descrito anteriormente.

A liberação da IL-5 conhecida como fator quimiotático para eosinófilos permite a migração destes leucócitos para a mucosa intestinal onde se encontra o helminto. Este processo facilita a ação dos eosinófilos na eliminação dos parasitos na resposta de ADCC. Estudos anteriores mostraram que animais tratados com Ig anti-IL-5 não eram capazes de eliminar parasitos helmintos devido a uma redução no número de eosinófilos no sangue e por conseqüência a falta de resposta na mucosa intestinal. A IL-5 também é um fator de crescimento e diferenciação de eosinófilos na medula óssea. Como podemos observar a realização de uma única resposta imune depende de células e um conjunto de citocinas que orquestram os mecanismos de eliminação do parasito no trato intestinal.

A IL-10 produzida por clones Th2 apresenta função antiinflamatória sendo liberada nos momentos tardios da inflamação com o objetivo de regular a resposta. Em estudos utilizando macrófagos infectados com *Trypanosoma cruzi* e estimulados com o alcalóide warifteína, um potente indutor de IL-10, observou-se uma proliferação intensa do protozoário no interior do macrófago.

O aumento da carga parasitária foi diretamente proporcional à produção de IL-10 nas culturas de macrófagos peritoneais de camundongos mostrando que a citocina interfere nos mecanismos inflamatórios do fagócito. Adicionalmente, o estudo citado demonstrou que as culturas de macrófagos apresentavam baixos níveis de NO confirmando a atividade antiinflamatória da IL-10.

A deficiência de IL-10 no organismo está associada ao aparecimento de inflamações crônicas a exemplo da asma brônquica. De fato a produção desta citocina está associada ao controle das inflamações prevenindo a cronicidade destas respostas que podem levar a danos teciduais e doenças.

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

Qual a melhor resposta imune para prevenir a leishmaniose? A resposta Th1 ou Th2? Explique.

1.3 AS CITOCINAS IFN- γ E IL-4 REGULAM A RESPOSTA IMUNE

Os clones Th1 e Th2 apresentam funções regulatórias. O IFN- γ inibe os clones Th2 enquanto a IL-4 inibe os clones Th1 isto significa que estas respostas imunes não ocorrem simultaneamente com a mesma intensidade. Um exemplo marcante desta regulação é aquela observada em animais resistentes ou susceptíveis a leishmaniose. No primeiro caso, os macrófagos dos camundongos C57bl/6 – *resistentes* - quando infectados com o protozoário produzem NO e níveis séricos elevados de IFN- γ (Th1) que é um potente ativador de macrófagos como descrito acima. No segundo caso, a infecção de macrófagos de camundongos BALB/c – *susceptíveis* – produzem baixos níveis de NO e elevadas concentrações de IL-4, uma citocina de perfil Th2.

Em seres humanos observamos perfis de respostas imunes semelhantes aos camundongos C57bl/6 e BALB/c. Aqueles indivíduos infectados que não apresentam a sintomatologia da doença conseguem controlar a proliferação da leishmania no interior dos monócitos e macrófagos porque desenvolvem respostas de perfil Th1 responsáveis pelo aumento na produção de interferon e ativação de macrófagos que produzem NO e eliminam o parasito. Por outro lado, aqueles pacientes susceptíveis a leishmaniose montam respostas de perfil Th2 com aumento de IL-4. Esta resposta não ativa as respostas imunes celulares e sim aquelas respostas humorais produtoras de anticorpos que não conferem proteção contra Ag intracelulares como a leishmania. O perfil genético do indivíduo é o fator determinante no desenvolvimento de uma resposta Th1 ou Th2 frente ao mesmo patógeno e, portanto podemos dizer que aqueles pacientes susceptíveis a leishmaniose apresentam uma resposta do sistema imunológico inadequada para eliminação do parasito.

A dicotomia / polarização Th1 *versus* Th2 foi bem estabelecida no modelo de leishmaniose e por décadas se atribui a essas sub-populações de LTCD4⁺ o papel de regulação para a maioria das respostas imunes. No entanto, há várias situações onde não se consegue identificar uma polarização da resposta imune sugerindo a existência de outros componentes celulares envolvidos na regulação da resposta imunológica. Recentemente, novas populações de LT vêm sendo descritas dentre elas os LT regulatórios (Tregs) do tipo 1 produtores de IL-10 e as Tregs do tipo 2 secretoras do fator de crescimento de transformação β (*do inglês, Transforming Growth Factor β - TGF- β*). Estas células regulam a atividade de clones Th1 e Th2 bem como inibem clones de linfócitos autorreativos que não sofreram apoptose durante os processos de maturação na medula óssea (LB) e no timo (LT). O TGF- β é conhecido como uma citocina imunossupressora capaz de inibir todos os componentes do sistema imune a exemplo de LB, LT e APCs. A produção basal desta citocina no contexto da regulação das respostas imunes causa efeitos benéficos como

a indução da auto-regulação da resposta imune. No entanto, a produção exacerbada de TGF- β pode causar efeitos prejudiciais ao organismo.

O crescimento rápido de alguns tumores malignos pode ser atribuído a produção de TGF- β pelas células cancerígenas. Este fenômeno representa um dos mecanismos de escape dos tumores da resposta imune. Sob o efeito imunossupressor da citocina os principais mecanismos anti-tumorais como os LT auxiliares, LT citotóxicos e células NK são regulados negativamente. Outras células como os LB e as APCs também são inibidas pelo TGF- β permitindo o crescimento rápido e de mau prognóstico do tumor. Em contrapartida a deficiência de Tregs produtoras tanto de IL-10 quanto TGF- β vem sendo apontada como a provável causa para doenças crônicas como a esclerose múltipla.

O uso de imunoterapias a base de citocinas a fim de regular a resposta imune vem sendo aplicado em pacientes com cânceres e infecções virais como as hepatites. Os interferons apresentam efeitos consideráveis na ativação das respostas celulares protetoras, porém uma limitação da terapia a base de citocinas seria os diversos efeitos colaterais.

O sucesso das respostas imunes depende de uma fina regulação das respostas por citocinas de perfil Th1 e Th2 e qualquer descontrole deste processo pode causar doenças do sistema imune. Essas patologias podem ser classificadas em dois grandes grupos: as respostas de hipersensibilidade e as imunodeficiências.

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

Qual a melhor resposta imune contra as viroses? Explique.

UNIDADE 4

AS DOENÇAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

1. AS REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE

As doenças do sistema imune denominadas de reações de hipersensibilidades são aquelas caracterizadas por respostas exacerbadas contra Ag próprios (doenças autoimunes) ou estranhos. As doenças autoimunes são mediadas por clones de linfócitos autorreativos pré-existentes oriundos de falhas dos mecanismos de tolerância central e periférico.

A tolerância periférica consiste em um processo de eliminação ou inibição de clones autorreativos que escaparam da medula óssea e do timo como descrito abaixo:

- Ausência do antígeno: As células autorreativas necessitam do Ag para se ativarem podendo sofrer morte por apoptose na ausência de apresentação e reconhecimento antigênico;
- Falta de coestímulo: Os sinais coestimulatórios (ex. moléculas B7) são essenciais para a ativação completa dos linfócitos. Linfócitos autorreativos podem reconhecer Ag próprios com alta avides, porém não se ativam devido a ausência dos segundos sinais resultando em células não responsivas ou anérgicas;
- Expressão de receptores inibitórios: A expressão do antígeno tardio de célula T (CTLA-4) pelas células alvo regula negativamente os clones autorreativos;
- Exclusão folicular: As células B autorreativas que não expressam receptor CCR7 para quimiocina são conseguem penetrar nos folículos presentes no baço onde ocorre a maturação da afinidade das Igs levando os clones de LB à apoptose;
- Presença de Tregs: Os clones autorreativos são inibidos pelas Tregs produtoras de TGF- β .

Caso os mecanismos de tolerância periférica falhem os clones de linfócitos autorreativos podem causar danos aos tecidos e órgãos do corpo causando, geralmente, as doenças autoimunes. Essas doenças são mediadas por autoanticorpos das classes IgM e/ou IgG e se classificam imunologicamente como reações de hipersensibilidade citotóxica e do imunocomplexo.

1.1 HIPERSENSIBILIDADE CITOTÓXICA

As reações de hipersensibilidade citotóxica ocorrem em sua grande maioria contra Ag próprios localizados nas superfícies de células ou tecidos do corpo (Figura 29). Existem várias doenças pertencentes a esta classe de hipersensibilidade como a miastenia gravis, a púrpura trombocitopênica autoimune, diabetes melitus do tipo I, anemia hemolítica auto-imune, hipertireodismo ente outras doenças.

Na miastenia gravis ocorre um bloqueio, mediado por autoanticorpos, dos receptores da acetilcolina (Ach) presentes na placa motora causando fraqueza muscular e paralisia. A ativação desses receptores pela Ach induz a entrada de íons sódio na fibra muscular esquelética e conseqüente resposta de contração. Esta doença não tem cura e o seu tratamento é realizado com medicamentos anticolinesterásicos que inibem a enzima acetilcolinesterase responsável pela degradação fisiológica do neurotransmissor Ach no músculo esquelético.

A produção de autoanticorpos contra proteínas das membranas das plaquetas causa opsonização destas células e fagocitose. O número reduzido de plaquetas favorece o aparecimento de petéquias que são pequenos pontos hemorrágicos em várias partes do corpo. Como toda doença autoimune, a púrpura é considerada incurável e a principal forma de tratamento é feita com o uso de medicamentos imunossupressores como os antiinflamatórios do tipo glicocorticóides que têm o objetivo de inibir a atividade das células B autorreativas e reduzir a produção dos autoanticorpos.

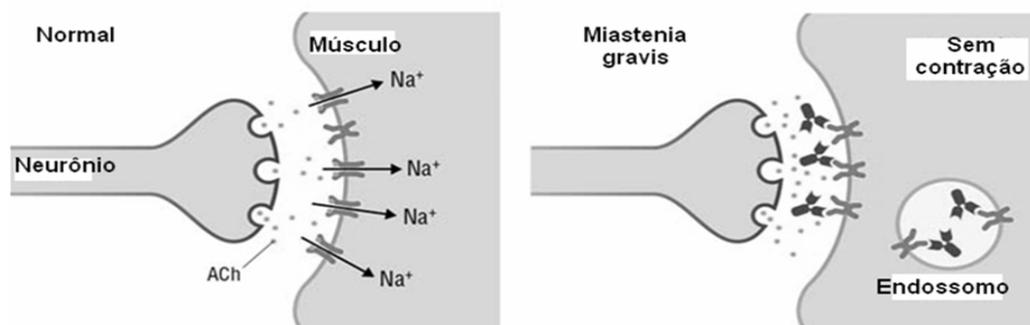
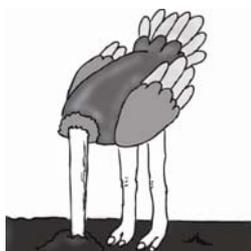


Figura 29. Hipersensibilidade citotóxica – Miastenia gravis

Na miastenia gravis há perda do tônus muscular causada pelo bloqueio mediado por Ig contra o receptor da acetilcolina, ACh. Este receptor é um canal de sódio fundamental para o processo de contração do músculo esquelético.

Fonte: http://www.new-science-press.com/info/illustration_files/nsp-immunity-12-5-12_13.jpg

:: FIQUE POR DENTRO!! ::



Durante séculos a púrpura trombocitopênica autoimune foi considerada uma maldição entre alguns povos europeus que sangravam nas mucosas principalmente na boca e na língua. Devido à cor branca e pálida da pele, os lábios cor de sangue e os hábitos noturnos, esses indivíduos eram chamados de vampiros.

A anemia hemolítica autoimune é mediada por autoanticorpos específicos para proteínas de membrana das hemáceas (fator Rh) que opsonizam e induzem a fagocitose das hemáceas. As principais manifestações clínicas desta doença são a hemólise e a redução do número de células vermelhas do sangue, anemia.

O diabetes do tipo I é uma doença causada por autoanticorpos que se ligam nos receptores de insulina bloqueando a ação deste hormônio. Como resultado os pacientes apresentam hiperglicemia e cetoacidose. Nessa patologia também é observada a destruição das células β pancreáticas produtoras de insulina descartando qualquer possibilidade de cura para o diabetes do tipo I. A reposição da insulina é o principal tratamento disponível até o momento.

No hipertireoidismo ou doença de graves o paciente produz autoanticorpos contra o receptor do hormônio estimulante da tireóide (TSH). Neste caso o anticorpo se liga e ativa por tempo indeterminado o receptor que media a síntese dos hormônios tireoidianos T3 e T4. O aumento na produção dos hormônios da glândula tireóide provoca várias alterações do

metabolismo como perda de peso e representa um fator desencadeante de doenças cardiovasculares como a hipertensão arterial.

A transferência de IgG materna via placenta é o principal mecanismo de proteção ao feto. No entanto, algumas mulheres podem produzir IgGs específicas para hemácias fetais caso ocorra mistura do sangue da mãe com o sangue da criança durante o parto. Isto se explica quando o feto apresenta fator Rh (Ag próprio) nas membranas das hemácias e o tipo sanguíneo da mãe é Rh negativo. A presença das hemácias fetais na circulação sanguínea materna deve ativar o sistema imunológico da mulher que desenvolverá uma resposta imune adaptativa contra o fator Rh fetal. Nas próximas gestações há o risco de transferência de IgGs fator Rh-específicas serem transferidas via placenta podendo ativar os mecanismos efetores das imunoglobulinas como opsonização e fagocitose além da via clássica do sistema complemento. A agressão do sistema imune às hemácias fetais só ocorrerá contra fetos Rh positivos. Essa reação é classificada como uma hipersensibilidade citotóxica, porém difere das demais doenças citadas acima porque o fator Rh fetal é um Ag estranho.

1.2 HIPERSENSIBILIDADE DO IMUNOCOMPLEXO

Os imunocomplexos são formados por antígenos, próprios ou estranhos, e anticorpos pré-existent (Figura 30). A descoberta de reações de hipersensibilidade envolvendo a participação dos complexos foi evidenciada desde o início do século XX quando as infecções diftéricas eram tratadas com soros de cavalos ricos em Ig antitoxina. Os soros eram transferidos passivamente aos pacientes que apresentavam melhora dos sinais e sintomas da doença, mas após uma semana aproximadamente eram acometidos por dores nas articulações, lesões vasculares e inclusive danos renais. Essa nova condição clínica dos pacientes recebeu o nome de doença do soro ou do imunocomplexo. Atualmente, a doença do soro é utilizada como modelo experimental para o estudo dos mecanismos e possíveis formas de tratamento para patologias classificadas imunologicamente como reações de hipersensibilidade mediada por imunocomplexos como o lúpus eritematoso sistêmico (LES) e a poliarterite nodosa.

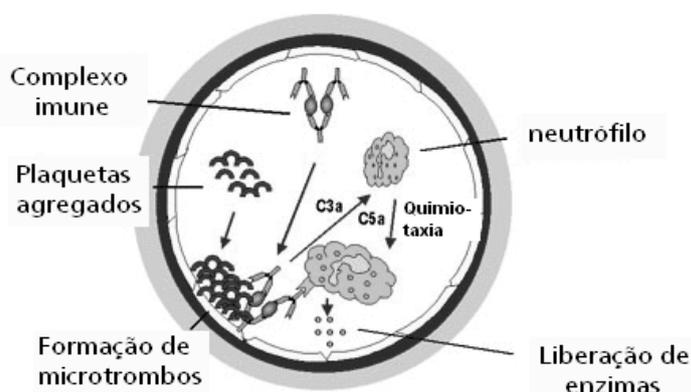


Figura 30. Hipersensibilidade do imunocomplexo.

Os complexo Ag-Ig se depositam na parede vascular ativando o sistema complemento e ativando células inflamatórias que liberam enzimas que digerem o endotélio causando vasculites.

Fonte:

<http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap17-4a.gif>

No LES os Ag envolvidos são DNA e nucleoproteínas de leucócitos que induzem a produção de autoanticorpos que mediam a resposta inflamatória dependente do sistema complemento e pelo receptor Fc das Igs. Os imunocomplexos se depositam sobre as paredes dos vasos sanguíneos sobre tudo aqueles que sofrem alta pressão hidrostática como os vasos que

irrigam os rins. As principais manifestações clínicas no LES são a nefrite, artrite e vasculite caracterizando assim o aspecto sistêmico da doença.

Há falha no transporte dos imunocomplexos pelas hemácias da corrente sanguínea em direção ao fígado onde ocorre a depuração dos complexos. As hemácias expressam receptores para o fragmento C3b do sistema complemento que por sua vez encontra-se ligado as membranas dos Ag estranhos devido à ativação do sistema complemento induzida pelos autoanticorpos. Caso haja deficiência na expressão do receptor de C3b, o transporte dos complexos diminui favorecendo a deposição destes sobre os vasos sanguíneos.

A glomerulonefrite pós-estreptocócica causa danos renais semelhantes àqueles observados no LES. A endotoxina bacteriana pode aderir na membrana basal dos glomérulos e ativar a resposta imune com a produção de Ig anti-endotoxina levando a ativação da resposta inflamatória. Como a ligação a interação Ig-endotoxina ocorre na superfície do glomérulo não podemos classificar esta patologia como uma doença do imunocomplexo e, sim uma hipersensibilidade citotóxica. Adicionalmente, a síndrome de Goodpasture também é mediada por Ig contra Ag de membrana basal glomerular e dos alvéolos pulmonares e, portanto essas patologias não podem ser confundidas com as reações do imunocomplexo.

Na poliarterite nodosa há produção de Ig contra Ag de superfície do vírus da hepatite B. A vasculite observada nesta patologia também é mediada pelo sistema complemento e pelo receptor Fc. Exames de imagem são úteis para visualização das áreas afetadas pelas reações mediadas por Ig anti-membrana basal e imunocomplexos. Esses métodos de diagnóstico serão descritos mais adiante.

1.3 HIPERSENSIBILIDADE IMEDIATA

Na unidade II aprendemos que anticorpos da classe IgE participam de respostas de ADCC contra parasitos helmintos. Mas existe um papel não protetor para estas Igs relacionado com o desenvolvimento de reações de hipersensibilidade imediatas ou anafiláticas.

As doenças mediadas por IgE ocorrem em indivíduos geneticamente pré-dispostos que entram em contato com os fatores ambientais desencadeantes das reações de hipersensibilidade. Doenças como asma alérgica, rinosinusite alérgica, urticária, alergia alimentar e choque anafilático são induzidas na presença de Ag estranhos denominados de alérgenos por serem os causadores das doenças alérgicas (Figura 31).

Os principais alérgenos ambientais são as fezes de ácaros, baratas, alimentos (ex. amendoim e crustáceos), pigmentos, medicamentos como a penicilina e dipirona entre outros. A maioria dos indivíduos tolera ou realiza respostas imunes protetoras contra estes alérgenos, porém aqueles com pré-disposição genética para produzir elevados níveis de IgE, conhecidos como atópicos, montam respostas muito potentes que causam lesões aos tecidos normais causando doença.

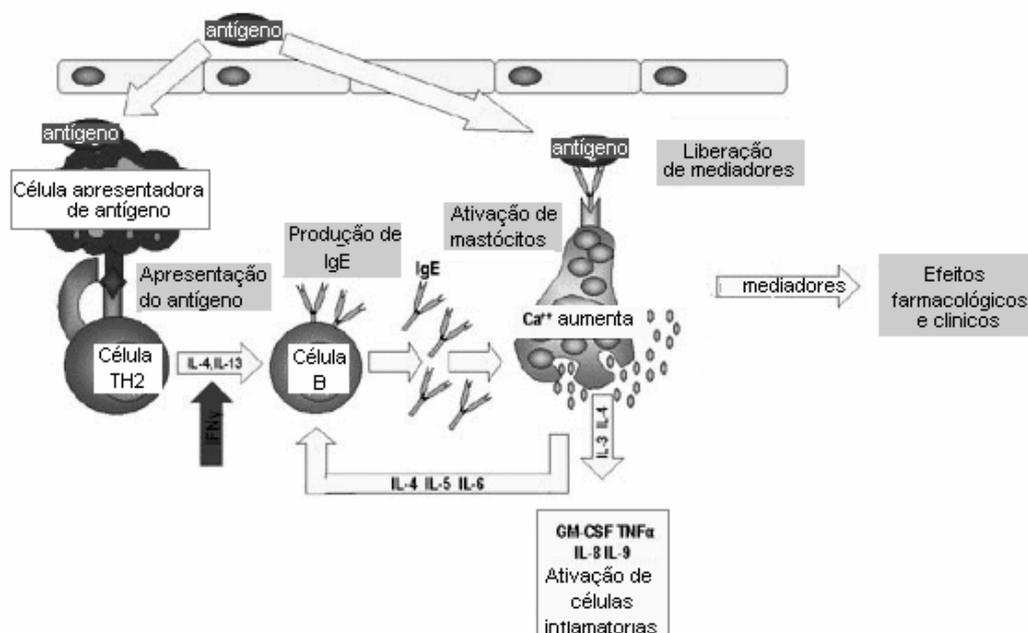


Figura 31. Hipersensibilidade imediata

O alérgeno induz a diferenciação de clones Th2 produtores de IL-4 e IL-13 necessárias para a troca de isotipo (IgE) pelas células B. As IgE se ligam em receptores de mastócitos e a após a re-exposição ao alérgeno ocorre a desgranulação destas células liberando os mediadores inflamatórios causadores dos sintomas clínicos.

Fonte: <http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/chap17-1.gif>

Essas reações de hipersensibilidade são chamadas de imediatas porque ocorrem poucos minutos após a exposição ao alérgeno. O mecanismo celular e molecular envolvido nessa reação apresenta perfil do tipo Th2 que se inicia com a resposta primária no interior de um órgão linfóide periférico. O alérgeno inicialmente sofre fagocitose por APCs profissionais e os peptídeos são apresentados ao LTCD4⁺ virgem que reconhece o complexo MHC de classe II/peptídeo via TCR na presença de sinais coestimulatórios. A ativação da célula T em microambiente rico em IL-4 induz a diferenciação dos clones Th2.

Os clones efetores secretam as citocinas IL-4, IL-5 e IL-3 necessárias para indução da reação patológica. A troca de isotipo de IgM para IgE por células B ativadas ocorre durante as respostas secundárias a medida que o indivíduo sofre novas exposições ao alérgeno e, depende das citocinas IL4 e IL13. A IgE é produzida em baixíssimos níveis e se eleva em duas situações distintas, as infecções parasitárias e nas reações alérgicas. Esta Ig apresenta afinidade por receptores de leucócitos como os eosinófilos, basófilos e, mastócitos residentes de tecidos.

Os mastócitos são considerados as células efetoras das reações de hipersensibilidade imediata. Isto ocorre porque as IgE ligadas aos receptores de alta afinidade Fc ϵ RI dos mastócitos podem permanecer ligadas por tempo indeterminado. Este processo é denominado de sensibilização dos mastócitos. Uma vez revestidos por IgE os mastócitos estão prontos para mediar os processos patológicos desta reação que dependem de um novo contato do paciente com o alérgeno que desencadeou a produção da IgE.

A ligação cruzada do alérgeno com duas moléculas de IgE presentes na superfície do mastócito é suficiente para ativar esta célula que libera os seus grânulos citoplasmáticos ricos em mediadores inflamatórios. Os mastócitos armazenam aminas biogênicas como histamina e serotonina, derivados lipídicos do ácido araquidônico, citocinas inflamatórias e enzimas proteolíticas. O principal modelo de estudo das reações imediatas é a inflamação e a hiperreatividade brônquica observados no pulmão asmático.

1.3.1 ASMA ALÉRGICA

A asma alérgica acomete milhões de pessoas no mundo inteiro e vem sendo largamente estudada por grupos de pesquisa com o objetivo de produzir novos medicamentos capazes de minimizar a sintomatologia da doença. O pulmão asmático é o cenário perfeito para estudar as reações de hipersensibilidade imediata devido à riqueza de componentes celulares e moleculares envolvidos na lesão ao epitélio brônquico.

Os mediadores dos mastócitos são classificados como inflamatórios e espasmogênicos. A princípio há liberação imediata de histamina que induz aumento de permeabilidade vascular e contração do músculo liso brônquico e, em seguida ocorre a síntese dos derivados lipídicos do ácido araquidônico como prostaglandinas e leucotrienos que além de induzirem inflamação também são potentes broncoconstritores. Citocinas inflamatórias como TNF- α e enzimas proteolíticas a exemplo das proteases de mastócitos colaboram para a lesão tecidual.

A fase aguda na asma alérgica é marcada por dificuldade respiratória induzida pelo broncoespasmo enquanto a fase tardia consiste na entrada de leucócitos na luz do brônquio. Esta resposta inflamatória permite que granulócitos neutrófilos migrem para o pulmão atingindo um pico máximo por volta das seis horas após a exposição ao alérgeno. Cerca de 24 horas após a exposição alérgica podemos observar um potente influxo de eosinófilos no pulmão o que contribui para a agressão do epitélio.

Os eosinófilos são considerados os principais “vilões” da asma alérgica porque são capazes de desgranular substâncias tóxicas sobre o epitélio brônquico (Figura 32).

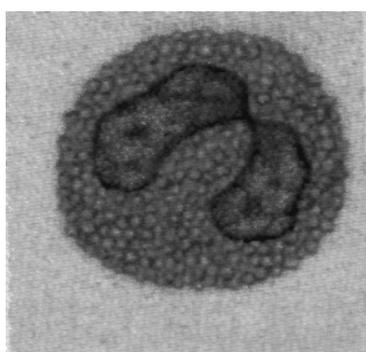


Figura 32. Eosinófilos

Fotografia de um granulócito eosinófilo com destaque para o núcleo bilobado e a rica e grosseira granulação citoplasmática.

Fonte:

http://www.netprof.pt/biologia_Geologia/ApoioComplAula/TExpCam po//gifs/Image35.gif

A desgranulação é mediada por IgE uma vez que os eosinófilos também expressão receptores do tipo Fc ϵ RI de superfície. Estas células armazenam proteínas catiônicas como a proteína básica principal e a proteína catiônica eosinofílica além da enzima peroxidase eosinofílica envolvida no reparo dos tecidos. Normalmente ocorre falha no processo de reparo (cicatrização) do tecido com posterior deposição de fibrina levando a fibrose do tecido. Estas áreas do epitélio perdem a função biológica de realizar trocas gasosas podendo causar no futuro a insuficiência respiratória e morte dos pacientes.

Semelhante ao mecanismo que rege a lesão no pulmão asmático, as demais reações imediatas diferem na localização anatômica e evidentemente nos sinais e sintomas característicos do órgão afetado.

Na rinosinusite alérgica a resposta inflamatória causa obstrução das vias aéreas superiores, corrimento nasal e urticária, porém quando a desgranulação dos mastócitos ocorre na mucosa ocular o paciente relata como manifestações clínicas eritema, lacrimejamento dos olhos e urticária sendo este último sintoma comum nas reações alérgicas imediatas que acometem a pele. Nas alergias alimentares, os mediadores inflamatórios aumentam a motilidade intestinal causando as diarreias.

Uma reação alérgica imediata potencialmente fatal é o choque anafilático. A presença do alérgeno na corrente sanguínea pode induzir a desgranulação de eosinófilos e principalmente basófilos sensibilizados por IgE específica para o alérgeno. Alguns medicamentos, pigmentos e venenos de insetos são descritos como indutores desta reação em pacientes alérgicos. O choque é provocado pela liberação sistêmica de histamina que aumenta a permeabilidade dos vasos sanguíneos causando uma drástica hipotensão e impossibilitando a circulação do sangue o que caracteriza o choque circulatório. Além da estase sanguínea, a histamina circulante causa dilatação dos vasos sanguíneos da glote causando edema. Este mediador também induz broncoespasmo contribuindo para a dificuldade respiratória que pode causar morte por asfixia. A única maneira de se reverter os sintomas do choque anafilático é a administração do hormônio adrenalina que é capaz de restaurar a pressão arterial e liberar as vias aéreas do paciente causando broncodilatação.

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividade

Para pesquisar: Seria possível o indivíduo sofrer uma reação de choque anafilático após uma única exposição ao alérgeno? Explique.

Dica: Durante a sua pesquisa utiliza palavras-chaves como alérgeno, choque anafilático e reação cruzada

1.4 TERAPIAS DAS DOENÇAS ALÉRGICAS IMEDIATAS

Atualmente há inúmeros estudos em andamento com o objetivo de produzir novos medicamentos para o tratamento das doenças alérgicas do tipo imediato. O uso de substâncias como estabilizadores de membrana de mastócito (cromoglicato), inibidores das enzimas fosfodiesterases (teofilina), agonistas β -adrenérgicos (salbutamol e adrenalina), antiinflamatórios glicocorticóides (prednizolona) e inibidores de leucotrienos (montelukast e derivados) vêm sendo utilizados na clínica para bloquear os sinais e sintomas da doença. No entanto, as doenças alérgicas continuam incuráveis justificando uma intensa corrida em busca de novas formas de tratamento.

As imunoterapias representam um novo método de tratamento para as reações alérgicas imediatas. A injeção de alérgenos por via subcutânea é utilizada na perspectiva de induzir respostas imunes regulatórias e desviar o perfil imunológico do paciente. Este conceito recebeu o

nome de teoria da dessensibilização porque é capaz de alterar a resposta humoral de parte dos pacientes submetidos a este procedimento. O tratamento consiste na administração de sucessivas injeções do alérgeno em diferentes concentrações ao longo do tempo. Os resultados da terapia podem ser observados em meses ou até anos e, induz proteção apenas em parte dos pacientes não conferindo status de vacina a esta estratégia terapêutica.

Naqueles pacientes que respondem positivamente a terapia de dessensibilização pode-se observar uma inversão nos níveis séricos de IgE (resposta Th2) com relação aos níveis séricos de IgG (resposta Th1). Acredita-se que a mudança do perfil imunológico dos pacientes se deva a ativação de clones de células Treg que seriam as responsáveis por regular negativamente a resposta Th2 defeituosa dos pacientes. Recentemente a produção de medicamentos a base de anticorpos anti-IgE vem permitindo o tratamento de pacientes com asma alérgica refratários aos medicamentos broncodilatadores e glicocorticóides, porém o uso desta terapia continua bastante restrito em virtude do seu elevado custo.

1.5 HIPERSENSIBILIDADE CELULAR

As doenças causadas por células Th1, LTCD8⁺ e macrófagos são classificadas com reações de hipersensibilidade celular ou tardia (*do inglês, Delayed Type Hypersensitivity – DTH*). Essas reações ocorrem contra Ag próprios ou estranhos persistentes como alguns patógenos intracelulares e substâncias inertes (Figura 33). Podemos citar como exemplos a tuberculose pulmonar, a hanseníase, a esquistossomose, a encefalomielite auto-imune experimental, a doença inflamatória intestinal e diabetes do tipo I.

A tuberculose pulmonar e a hanseníase são causadas por micobactérias conhecidas como patógenos de vida intracelular. Alguns indivíduos não montam respostas celulares protetoras contra estes Ag estranhos resultando em uma intensa reação inflamatória mediada por LT secretores de IFN- γ e macrófagos, ativados por esta citocina, que causam lesão tecidual via liberação de ROIs e enzimas hidrolíticas. A inflamação no pulmão (tuberculose) e na pele (hanseníase) contribui para a fibrose e perda da sensibilidade, respectivamente. A fibrose é induzida após a formação de estruturas celulares denominadas de granuloma formada por LT, macrófagos e fibroblastos que circundam o patógeno na tentativa de impedir a sua proliferação. A liberação de citocinas como TGF- β 1 por macrófagos é fundamental para deposição de fibrina pelos fibroblastos e posterior fibrose do tecido que resultará em insuficiência respiratória naqueles pacientes não tratados. Provavelmente esses pacientes apresentam um perfil de resposta Th2 que impede a ativação adequada da resposta imune celular necessária para eliminação das micobactérias. De maneira semelhante às doenças causadas por micobactérias, as lesões causadas pela esquistossomose também são imunologicamente classificadas como reações de hipersensibilidade celular. Nesta patologia, a formação de granuloma e a fibrose hepática são eventos marcantes da doença.

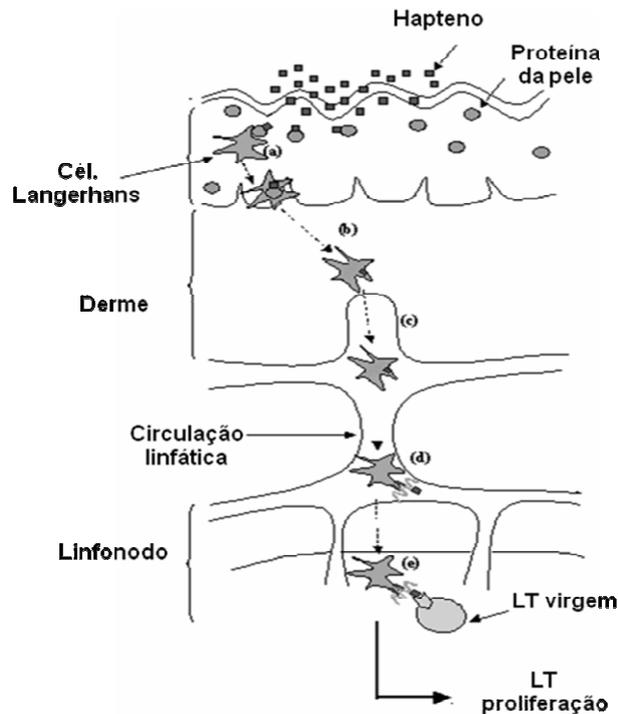


Figura 33. Reação de DTH

Formação do conjugado hapteno-carreador na epiderme e posterior fagocitose pelas células de Langerhans. Estas migram via circulação linfática para os linfonodos onde ocorre a apresentação de antígeno para o LT virgem que se ativa, diferencia e prolifera como clones Th1 efetores e de memória. Os clones efetores são responsáveis por respostas imunes intensas causando lesão nos órgãos afetados.

Fonte: http://www.cdc.gov/niosh/topics/skin/conference/s1t3_1.gif

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

O metal níquel é considerado um Ag persistente. De que maneira este Ag poderia estimular respostas de DTH? Explique.

Os LT e macrófagos também participam de respostas autoimunes. A encefalomielite autoimune experimental conhecida como a contrapartida experimental da doença esclerose múltipla é induzida em animais vacinados com Ag protéicos de mielina do sistema nervoso central e adjuvantes. A resposta envolve a ativação de clones Th1 e macrófagos que circundam os nervos do cérebro e medula espinhal causando lesões que resultam em déficit neurológico. Já a doença inflamatória intestinal é mediada por Th1 e uma produção excessiva de citocinas como $\text{IFN-}\gamma$ e $\text{TNF-}\alpha$ que induzem inflamação e lesão na mucosa intestinal. Estudos anteriores demonstraram que animais nocautes para IL-10 desenvolvem a doença devido a ativação exacerbada dos macrófagos contra bactérias presentes no intestino.

:: SAIBA MAIS... ::



Animais nocautes são aqueles que tiveram genes removidos utilizando-se técnicas sofisticadas. Esse método permite o estudo de vários produtos gênicos e suas funções biológicas a exemplo de citocinas como a IL-10.

O diabetes do tipo I anteriormente descrito como uma doença classificada como hipersensibilidade citotóxica também é considerada uma hipersensibilidade celular devido à presença de infiltrado de LT e macrófagos no pâncreas do indivíduo afetado.

Existem inúmeras doenças do sistema imunológico caracterizadas pela exacerbação das respostas de LB, LT e macrófagos. Por outro lado, a diminuição ou até mesmo a falta de resposta imune induz um grupo diferente de doenças denominadas de imunodeficiências.

2. IMUNODEFICIÊNCIAS

A defesa do organismo contra os microorganismos patogênicos depende da integridade do sistema imunológico. Caso ocorra alguma deficiência de componentes da resposta imune celular e/ou humoral haverá aumento na susceptibilidade a infecções por patógenos de vida extra e intracelular. O conjunto de doenças causadas por respostas imunes diminuídas é chamado de imunodeficiências. Estas podem ser classificadas como imunodeficiência congênita ou primária quando a causa for de origem genética provocando os sinais e sintomas geralmente na infância e adolescência enquanto aquelas provocadas por desnutrição, câncer generalizado, tratamento com medicamentos imunossupressores e por patógenos intracelulares, a exemplo dos vírus, são conhecidas como imunodeficiências secundárias ou adquiridas.

2.1 IMUNODEFICIÊNCIAS CONGÊNITAS

Essas doenças podem afetar a maturação e/ou diferenciação dos linfócitos B e T. As principais características observadas no diagnóstico clínico para os defeitos de LB são os níveis reduzidos de Ig no soro, alteração dos folículos e centros germinativos e aumento da susceptibilidade as infecções por bactérias piogênicas causadoras de otites, pneumonia, meningite e osteomielite além de bactérias entéricas, vírus e alguns parasitos. Quanto às deficiências de LT podemos constatar nos exames clínicos uma redução tanto nos níveis séricos de Ig uma vez que os LTCD4⁺ auxiliam a produção de Ig via secreção de citocinas bem como induzem a troca de isotipo de Ig. As reações de DTH também se apresentam reduzidas porque estas dependem exclusivamente da participação de células como os linfócitos T e, alterações nas regiões parafoliculares, ricas em LT, dos órgãos linfóides periféricos podem ser encontradas. Isto resulta no aumento da susceptibilidade a patógenos, em sua maioria de vida intracelular, como o *Pneumocystis carinii*, muitos vírus, micobactérias e fungos. Os defeitos na maturação dos linfócitos podem causar doenças como:

- Agamaglobulinemia ligada ao X: Redução do número de LB e todas as classes de Ig no soro provavelmente devido ao bloqueio da maturação a partir da célula Pré-B em consequência da mutação na tirosina cinase da célula B;
- Deleções da cadeia pesada das Igs: Ausência das subclasses de IgG, IgA ou IgE provocada pela deleção cromossômica no locus da cadeia pesada de Ig em 14q32;
- Síndrome DiGeorge: Redução do número de LT e podendo apresentar alteração nos níveis séricos de Ig devido ao desenvolvimento anormal da 3ª e 4ª bolsa branquial causando a hipoplasia do timo;

- Imunodeficiência combinada severa: Redução do número de LT com possível alteração do número de LB e diminuição de Ig sérica provocada por mutações do gene do receptor de citocinas e maturação defeituosa de LT por deficiência nos sinais enviados pela IL-7;
- Doença recessiva autossômica: Decréscimo de ambos os linfócitos por maturação defeituosa e de causa ainda desconhecida.

Além das imunodeficiências dos linfócitos T e B os componentes da resposta inata também podem apresentar defeitos. Esta resposta constitui a primeira linha de defesa do organismo contra os Ag estranhos e, portanto a redução de seus componentes tais como fagócitos e sistema complemento podem resultar em imunodeficiências.

2.2 DOENÇAS DOS FAGÓCITOS

A doença granulomatosa crônica é causada por mutações nos genes que codificam a enzima fagócito oxidase. Em consequência da mutação, as células produzem ROIs em quantidades diminuídas favorecendo as infecções recorrentes provocadas por bactérias intracelulares e fungos. Na deficiência de adesão leucocitária 1 ocorre a falta de expressão das integrinas $\beta 2$ necessárias na adesão dos leucócitos na parede vascular. As mutações nos genes que codificam as integrinas são apontadas com a causa da doença que se caracteriza por aumento na incidência de infecções fúngicas e bacterianas. Por outro lado as mutações nos genes dos ligantes das selectinas E e P causam expressão deficiente destas proteínas que são necessárias para a transmigração dos leucócitos da parede vascular em direção aos tecidos. A maior incidência de infecções também é observada nesta patologia denominada de imunodeficiência de adesão leucocitária 2. Os defeitos na função lisossômica de neutrófilos, macrófagos e células dendríticas e, dos grânulos das células NK estão presentes na Síndrome Chédiak-Higashi cuja origem reside nas mutações do gene associado à função dos grânulos citoplasmáticos. Semelhantemente às demais doenças dos fagócitos a Síndrome aumenta a incidência de infecções bacterianas e fúngicas.

O sistema complemento também é alvo de alterações de origem hereditária. Os defeitos envolvendo os componentes da via clássica como C1q, C1r, C2, C3 e C4 já foram descritos sendo a deficiência de C2 e C4 a mais documentada. Nesta patologia o indivíduo desenvolve sinais e sintomas semelhantes ao lúpus eritematoso sistêmico. Uma justificativa para este fenômeno seria o aumento da deposição de imunocomplexos sobre as paredes dos vasos sanguíneos devido a menor ativação do complemento e geração do fragmento C3 fundamental para o transporte dos imunocomplexos realizados pelas hemáceas.

Os componentes da via alternativa (fator D e properdina) além das proteínas C5, C6, C7, C8 e C9 podem apresentar níveis séricos reduzidos implicando em defeitos de ativação da via alternativa ou na formação do MAC. Em ambas as situações observam-se uma maior incidência de infecções piogênicas nos pacientes. As bactérias do gênero *Neisseria* causadores de meningite e gonorréia causam infecções disseminadas nestes pacientes indicando que o sistema complemento apresenta um papel fundamental na proteção do organismo contra estas bactérias.

As proteínas regulatórias como inibidor de C1, Fator I e Fator H estão envolvidas no desenvolvimento de doenças do complemento geralmente quando há ativação excessiva das vias de ativação. Além da maior incidência de infecções, a ausência do Fator I e H causam

glomerulonefrite provavelmente devido a maior produção e deposição dos imunocomplexos nas paredes endoteliais. A deficiência de receptores do complemento como CR3 e CR4 são raras e está associada a adesão leucocitária defeituosa e, aumento na ocorrência de infecções. Doenças causadas pela ativação normal do sistema complemento como as lesões descritas nas doenças auto-imunes não se relacionam com defeitos dos componentes do sistema complemento.

:: ARREGAÇANDO AS MANGAS!! ::



Atividades

Para pesquisar: De que maneira alguns vírus utilizam componentes do sistema complemento para escapar da resposta imune e causar infecção?

2.3 IMUNODEFICIÊNCIAS ADQUIRIDAS

As doenças classificadas como imunodeficiências congênitas podem apresentar diferentes causas como a desnutrição, infecções, tumores malignos e uso de medicamentos imunossupressores. As células do sistema imune utilizam vários micronutrientes tais como as vitaminas A, B e C além de minerais como o zinco para manutenção das suas funções básicas. A falta desses nutrientes prejudica diversas funções celulares desde a fagocitose até a produção de imunoglobulinas.

As infecções podem ser a causa de imunossupressão em pacientes porque alguns microorganismos a exemplo dos vírus oncogênicos (formadores de tumores) são capazes de escapar da resposta imune lançando mão de mecanismos tais como inibição da síntese ou diminuição da expressão das moléculas de MHC de classe I e II, bloqueio dos componentes de processamento antigênico da via endógena representados pelo proteassomo e TAP, falta de expressão das moléculas coestimulatórias B7 e CD40 ou falha no transporte dos complexos MHC-peptídeos para a membrana das células apresentadoras. Adicionalmente, os vírus oncogênicos muitas vezes secretam substâncias imunossupressoras como o TGF- β que inibe a função de todos os componentes celulares da resposta imune adaptativa: os linfócitos T e B, as células apresentadoras e as moléculas secretadas por estas células como as citocinas, as imunoglobulinas e toxinas utilizadas nas respostas de citotoxicidade.

Os corticóides são medicamentos utilizados no tratamento de reações alérgicas e rejeição de transplantes cujo mecanismo de ação está associado com a inibição das respostas imunes humorais e celulares e, portanto esses medicamentos também podem induzir imunodeficiência. Em todos os casos mencionados até este momento vale salientar que a restauração do status nutricional do paciente, a eliminação do processo infeccioso e a interrupção do uso de medicamentos imunossupressores restabelecem as funções normais do sistema imunológico indicando que esses quadros de imunodeficiência são transitórios. Por outro lado, a imunodeficiência causada por alguns vírus pode ser lenta, progressiva e incurável como no caso das infecções pelo vírus HIV.

2.4 INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV E AIDS

O HIV é um retrovírus da família dos lentivírus causadores da imunodeficiência bovina, felina e símia. Em todas as espécies citadas o HIV provoca infecção latente, inicialmente assintomática e imunodeficiência podendo levar a morte. Existem os vírus HIV-1 causador do maior número de infecção e doença e, o vírus HIV-2 que provoca uma doença semelhante ao primeiro vírus. Os vírus HIV apresentam uma estrutura bem conhecida formada por vários genes que codificam as proteínas da capsula, as diferentes enzimas virais entre outras partículas importantes para o processo de infecção e replicação viral nas células hospedeiras. Abaixo podemos visualizar a estrutura um esquema de infecção viral. O ciclo de vida do HIV depende da infecção de células hospedeiras que apresentam todo o maquinário necessário para que o vírus se multiplique e amplifique o seu ciclo infeccioso (Figura 34).

Inicialmente O HIV adere na membrana de células CD4⁺ como LT, macrófagos e células dendríticas. Estas células também expressão receptores para quimiocinas necessários para o processo de adesão do vírus. O HIV expressa a glicoproteína gp41 e gp120 sendo a primeira responsável pela ligação na molécula CD4 e o receptor de quimiocina da célula hospedeira. Em seguida ocorre uma alteração conformacional da gp120 permitindo a inserção da gp41 na bicamada lipídica da célula alvo. Este evento facilita a fusão entre a membrana do vírus com a membrana da célula e, por conseguinte ocorre a entrada do RNA viral.

No citosol da célula alvo a enzima transcriptase reversa do HIV catalisa a síntese do DNA pró-viral que se integra ao DNA da célula onde pode ser transcrito em RNA mensageiro. A transcrição do RNA viral no núcleo da célula depende da ativação da mesma por citocinas durante as respostas imunes a outros patógenos. As proteínas sintetizadas posteriormente são utilizadas na montagem da estrutura central do vírus e as gp41 e gp120 são expressas quando os novos vírus brotam na membrana plasmática da célula. O brotamento de milhares de partículas virais em uma única célula provoca danos irreversíveis à membrana plasmática causando morte principalmente dos linfócitos e demais células alvo.

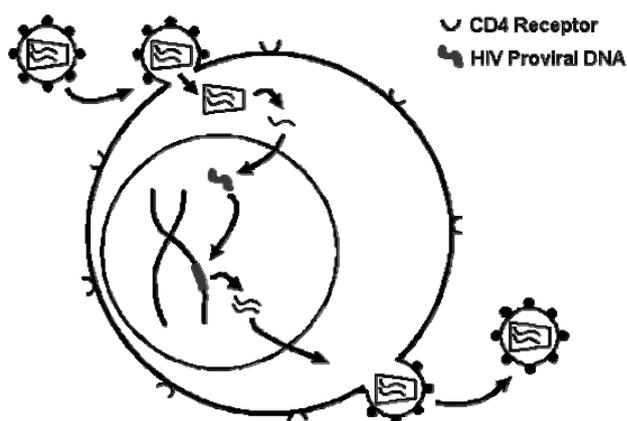


Figura 34. Ciclo de vida vírus HIV

O HIV adere na membrana da célula alvo inserindo o seu material genético. Após a síntese de DNA viral catalisada pela enzima transcriptase reversa, o pró-vírus penetra no núcleo e se recombina com o DNA da célula alvo. Em seguida há síntese de proteínas virais e novos vírus que brotam na membrana plasmática favorecendo um novo ciclo de infecção.

Fonte:

http://www.scottremley.com/viral_images/HIV_Life_Cycle_Diagramm_BandW.gif

A evolução da doença causada pelo HIV pode ser descrita em etapas. Nas primeiras semanas pós-infecção também denominada de infecção primária, o paciente pode apresentar

sinais e sintomas característicos de uma virose comum tais como febre, dor de cabeça, inflamação de garganta com faringite, linfadenopatia generalizada e erupções cutâneas. Nesta fase os vírus são instalados nos linfonodos, baço e MALTs. A presença do vírus no sangue (viremia) é elevada provocando uma queda rápida no número das células CD4⁺ principalmente as células T auxiliares, porém o sistema imune responde produzindo anticorpos anti-HIV além de ativarem a resposta citotóxica dos LTCD8⁺ permitindo um controle parcial da replicação viral. Cerca de doze semanas pós-infecção se inicia o período de latência caracterizado por baixíssima ou nenhuma viremia. Durante a infecção latente os vírus continuam se multiplicando nos órgãos linfóides contribuindo para a redução lenta e progressiva do número das células CD4⁺. As células dendríticas e os macrófagos são importantes neste processo uma vez que são passíveis de infecção, no entanto estas células são mais resistentes a morte induzida pelo HIV. Essas células são consideradas os principais reservatórios do vírus no organismo. A fase de latência pode durar anos ou até mesmo décadas variando de acordo com o paciente.

A presença de anticorpos antienvolpe do vírus e anti-p24 (proteína viral) são facilmente quantificados nos soros dos pacientes bem como LT citotóxicos específicos para peptídeos do HIV. Embora os anticorpos produzidos não apresentem atividade protetora, a presença destes na circulação sanguínea dos pacientes serve como marcadores de diagnóstico. Ao longo do período de latência clínica pode-se evidenciar o decréscimo do número de LT auxiliares que corresponde a aproximadamente 1000 células/ml de sangue em indivíduos saudáveis, mas podendo ser reduzido para menos da metade após anos de infecção e na ausência de tratamento.

O desenvolvimento de novas infecções durante a vida desses pacientes pode ser determinante para o término do período de latência clínica e aumento da replicação viral. A literatura descreve inúmeros casos de pacientes que após sofrerem infecções bacterianas, virais ou fúngicas voltaram a apresentar elevados níveis de viremia contribuindo para a instalação de um quadro clínico grave caracterizado por imunodeficiência. As respostas imunes contra os patógenos fornecem uma série de citocinas que ativam fatores de transcrição e estimulam a replicação do genoma do HIV integrado ao DNA celular. Com o aumento da viremia o decréscimo do número de células T atinge níveis críticos (cerca de 200 células/ml de sangue) que são considerados insuficientes para garantir as repostas imunes protetoras contra os diversos microorganismos patogênicos.

A falta de sucesso das respostas imunes contra o HIV se deve ao fato que o vírus utiliza-se dos mecanismos de reconhecimento antigênico dos linfócitos T auxiliares para realizar a adesão e infecção de novos linfócitos. Isto ocorre porque o processo de reconhecimento dos peptídeos virais depende de um contato íntimo entre a célula infectada expressando o complexo MHC de classe II-peptídeo viral (apresentação cruzada) e o LT auxiliar sadio permitindo a ligação das gp120 com o CD4 e receptor de quimiocina e, depois a inserção da gp41 na bicamada lipídica da célula. Este processo induz a infecção e morte progressiva dos linfócitos T auxiliares e por consequência uma redução das respostas dos linfócitos T citotóxicos que dependem de citocinas como IFN- γ das células auxiliares para concluir o processo de ativação necessário para a lise das células infectadas pelo vírus HIV.

Na tentativa de compensar o decréscimo no número de linfócitos, a medula óssea produz e repõe essas células ao longo de todo o período de infecção impedindo que esta redução ocorra drasticamente, no entanto a capacidade de reposição da medula é inferior a velocidade de replicação viral causando um déficit no número de linfócitos que pode ser observado desde os

primeiros meses da infecção até o final da latência clínica. Adicionalmente, as respostas de células NK não são eficazes na maioria dos pacientes, porém alguns estudos recentes mostram o possível papel anti-HIV de algumas populações de células NK em indivíduos atualmente denominados de *pacientes convivendo com o HIV*.

Simultaneamente à morte dos linfócitos observa-se também uma desorganização e destruição dos tecidos linfóides periféricos contribuindo para uma falência total da capacidade de armazenar células linfóides e organizar respostas imunes eficazes contra os diversos agentes infecciosos caracterizando o quadro de imunodeficiência humana adquirida causada pelo HIV, Aids. Esta fase é conhecida como fase clínica da doença geralmente acompanhada por um conjunto de patologias (Síndrome) representadas pelas infecções oportunistas (Figura 35).

A seguir alguns agentes infecciosos causadores da Aids e outras condições clínicas.

- Protozoários – *Pneumocystis carinii*, *Cryptosporidium*
- Bactérias - *Toxoplasma*, *Mycobaterium avium*, *Salmonela*
- Fungos – *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*
- Vírus – Citomegalovirus, Herpes simples, Varicela zoster
- Tumores – Linfomas (incluindo aqueles associados ao vírus Epstein-Barr), Sarcoma de Kaposi, Carcinoma cervical
- Encefalopatia
- Síndrome caquetizante.



Figura 35. Infecção oportunista – Sarcoma de Kaposi

Câncer de pele em paciente com Aids

Fonte:

<http://www.scielo.br/img/revistas/abd/v77n6/a08f01.jpg>

O tratamento da doença causada pelo HIV é feito com medicamentos inibidores das enzimas transcriptase reversa, proteases e integrases consideradas cruciais para o processo de infecção, geração de DNA e organização das novas partículas virais. Anteriormente ao início do tratamento da Aids e demais doenças que afetam o sistema imunológico se faz necessário o diagnóstico preciso utilizando-se técnicas de laboratório baseadas em sua maioria no uso de anticorpos como ferramentas para detecção de antígenos solúveis ou presentes nas membranas das células obtidas nas amostras dos pacientes para análise.

:: PERGUNTA?? ::



Atividades

Pode-se dizer que um paciente HIV positivo tenha Aids? Explique com base no texto acima.

3. TÉCNICAS DE LABORATÓRIO USADAS EM IMUNOLOGIA

Os métodos de diagnóstico usados em Imunologia têm como objetivo identificar e/ou quantificar a concentração de moléculas presentes em amostras dos pacientes. O alvo dessas técnicas geralmente é um antígeno ou anticorpo que uma vez marcado com uma substância indicadora como um radioisótopo (radioimunoensaio) ou uma enzima (ensaio imunoenzimático - ELISA) permita a detecção da radioatividade emitida ou a quantidade do produto da reação catalisada enzimaticamente.

3.1 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO - ELISA

A versão mais utilizada destes ensaios é denominada de *sanduíche* (Figura 36). Estes são baseados no uso de dois anticorpos específicos para o Ag (concentração desconhecida) presente nas amostras para diagnóstico ou Ag presente em soluções padrão de concentração conhecida. Inicialmente se adiciona o primeiro anticorpo (primário ou de captura) para revestir a superfície de suportes sólidos como placas de poliestireno contendo várias cavidades (ex. 24 ou 96) e em seguida se adiciona a amostra contendo o Ag para que se ligue.

Os Ag não ligados são removidos após lavagem das placas com solução tampão. Posteriormente se adiciona o segundo anticorpo (secundário) marcado com radioisótopo ou enzima para se ligar em determinantes antigênicos não relacionados à especificidade do anticorpo de primário formando uma estrutura chamada de sanduíche onde o Ag está localizado ao centro e os anticorpos ligados nas extremidades.

A leitura do ensaio é realizada usando-se equipamentos para detecção de radiação ou espectrofotômetro capaz de medir a intensidade de cor presente no meio colorido após a conversão de um substrato da enzima na presença de uma substância cromógena. A concentração do antígeno das amostras é obtida a partir de uma curva padrão. Atualmente o método do ELISA sanduíche é utilizado para detecção de anticorpos anti-vírus das hepatites A, B e C e diagnóstico da Aids confirmado pela presença de anticorpos anti-HIV nos soros dos pacientes além de outras doenças.

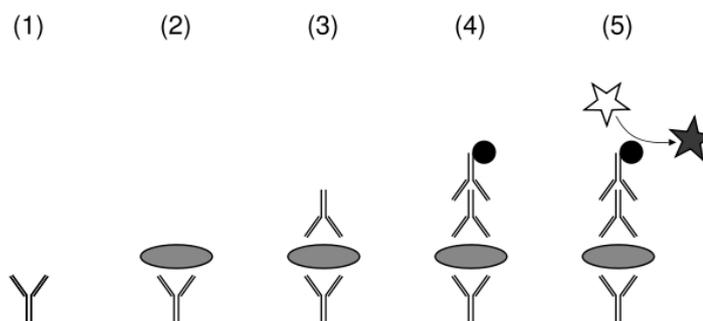


Figura 36. Método do ELISA sanduíche

As etapas do ensaio imunoenzimático. 1) Adição do anticorpo de captura na placa de poliestireno, 2) Adição da amostra, 3) Ligação de anticorpo secundário na amostra/sanduíche, 4) Complexo de amplificação contendo enzima e 5) Adição do substrato e formação de um composto colorido.

Fonte: <http://home.cc.umanitoba.ca/~umguerri/PLNT4600/mini3/640px-ELISA-sandwich.jpg>

3.2 CITOMETRIA DE FLUXO E SEPARAÇÃO CELULAR

A expressão de moléculas de superfície ou intracelulares pode ser detectados com o uso do método de citometria utilizando-se um equipamento chamado de separador de células ativado por fluorescência (*do inglês, Fluorescent Activator Cellular Sorter - FACS*) (Figura 37). Este equipamento é capaz de detectar a emissão de fluorescência emitida em uma suspensão celular por um anticorpo/sonda marcado. Este método é largamente utilizado em pesquisa científica para determinar o perfil celular em amostras de animais ou seres humanos portadores de doenças.

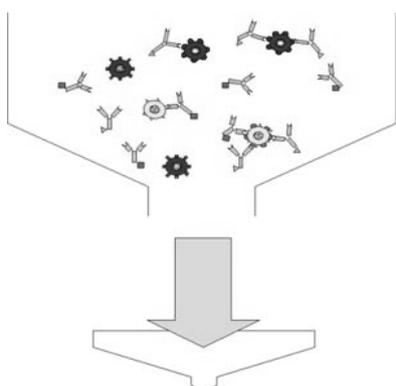


Figura 37. Separador de células ativado por fluorescência - FACS
O uso de diferentes anticorpos com especificidades para receptores celulares marcados com substância fluorescente facilita a separação das células.

Fonte: <http://www.molecularstation.com/images/facs-1.jpg>

O uso de sondas marcadas com fluorescência também é utilizado para determinar a distribuição anatômica de um antígeno dentro de um tecido ou compartimento celular. Este método denominado de Imunohistoquímica é usado rotineiramente na clínica para o diagnóstico de várias doenças a exemplo do câncer (Figura 38).

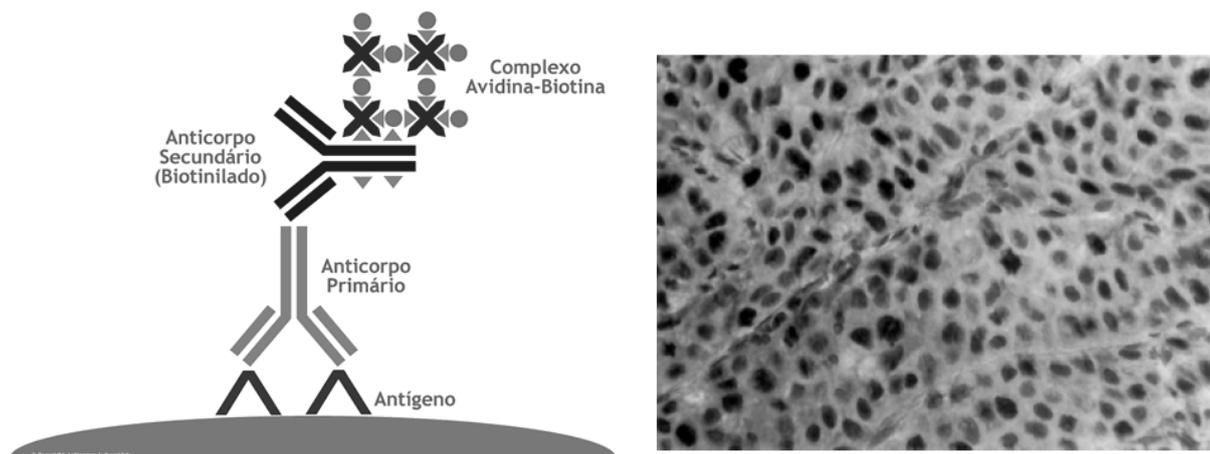


Figura 38. Imunohistoquímica

À esquerda, esquema mostrando a ligação do anticorpo primário em determinantes antigênicos presentes no corte histológico seguida da ligação do anticorpo secundário marcado com substância fluorescente e complexo de amplificação avidina-biotina. À direita, fotografia do corte histológico com pontos escuros mostrando a localização das células marcadas com anticorpo.

Fonte: <http://www.anticorpos.com.br/img/esquema-imuno3.png>,
<http://www.scielo.br/img/revistas/rcbc/v31n3/n3a07f1.gif>

:: PERGUNTA?? ::



Atividades

Como o uso de anticorpos pode ajudar no diagnóstico de doenças? Dê exemplos.

REFERÊNCIAS

ABBAS AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. **Imunologia celular & molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

BALESTIERI, F.M.P. **Imunologia**. Editora Manole, 2006.

JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia – O sistema imune na saúde e na doença**. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

ROITTI IM, DELVES, PJ. **Fundamentos de Imunologia**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

Caro aluno. O Cadernos CB Virtual 5 que você está recebendo agora, série produzida especialmente para dar suporte bibliográfico inicial a vocês estudantes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas à Distância, dá aqui, continuidade aos estudos da flora através do conteúdo da Fisiologia Vegetal. Da mesma forma, em relação aos estudos da fauna com o conteúdo de Fisiologia humana e Animal Comparada. Somando aos estudos da flora e da fauna já iniciados anteriormente os conhecimentos de Ecologia Básica contidos no volume 3, lançamos agora um olhar sobre os problemas ambientais discutidos em Tópicos Atuais em Ecologia. Os conhecimentos adquiridos em Biologia e Fisiologia Celular juntamente com aqueles da Bioquímica Estrutural e Metabólica junto aos de Genética Molecular serão de enorme utilidade para que você possa acompanhar aqui o conteúdo de Princípios de Análise Genética. O conteúdo de Biologia de Microorganismos e também o de Parasitologia II servem de introdução ao conteúdo de Imunologia III aqui abordado. Finalmente, por tratar-se de um livro voltado para um curso de Licenciatura, os fundamentos do fazer pedagógico discutidos no volume 4, através do conteúdo da Didática, tem continuidade nos conteúdos de Metodologia e Instrumentação para o Ensino das Ciências Naturais e de Estágio Supervisionado I – Ensino de Ciências Naturais na Escola de Ensino Fundamental. Esperamos que este volume seja bastante útil e inspirador e você possa acompanhar bem o desenrolar deste semestre. Bons estudos.