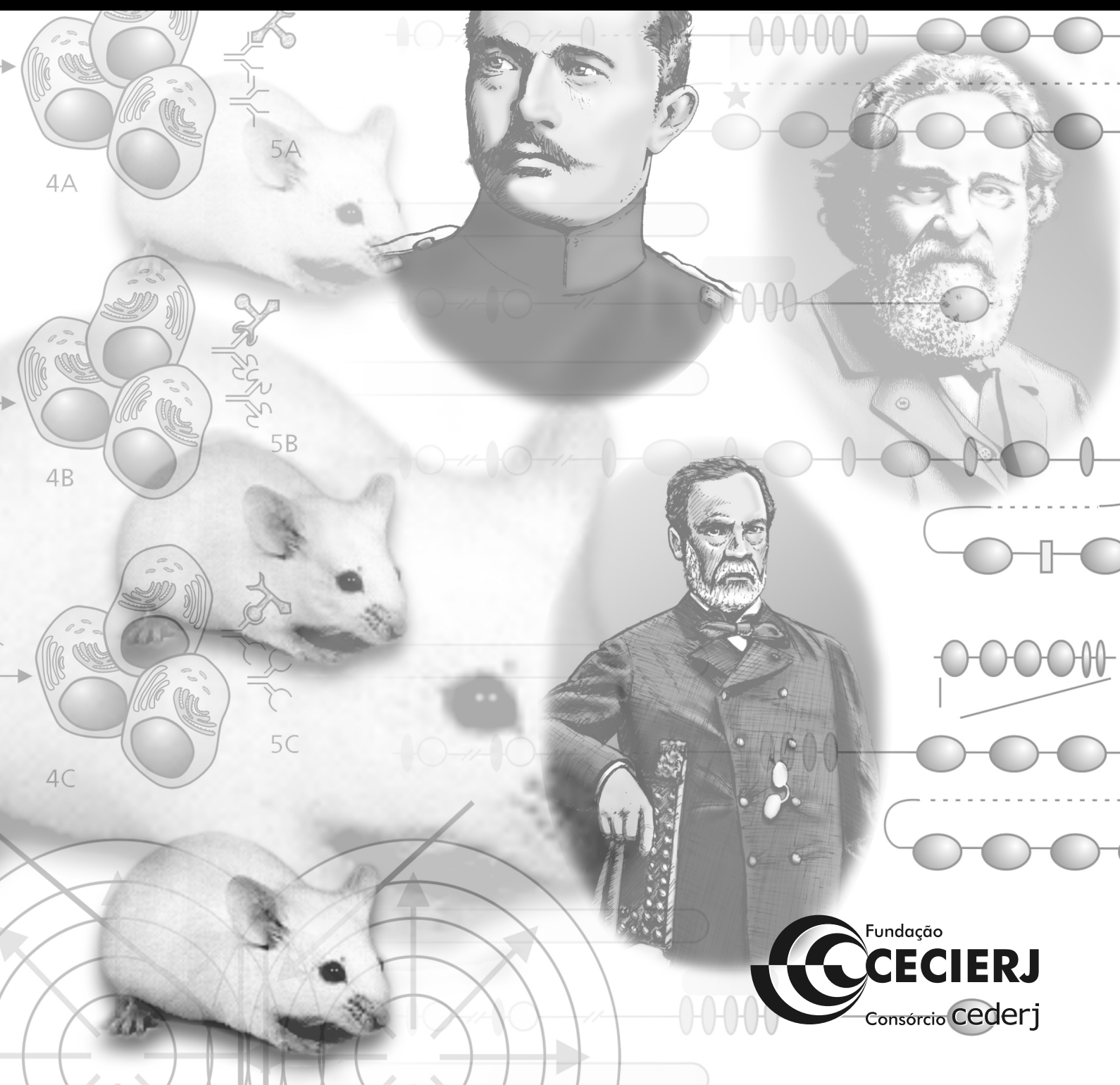


Lílian M. G. Bahia Oliveira
Milton M. Kanashiro

Imunologia





Fundação

CECIERJ

Consórcio **cederj**

Centro de Educação Superior a Distância do Estado do Rio de Janeiro

Imunologia

Volume 2 - Módulo 2
2ª edição

Lílian M. G. Bahia Oliveira
Milton M. Kanashiro



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério
da Educação



Apoio:



Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Rua Visconde de Niterói, 1364 – Mangueira – Rio de Janeiro, RJ – CEP 20943-001

Tel.: (21) 2334-1569 Fax: (21) 2568-0725

Presidente

Masako Oya Masuda

Vice-presidente

Mirian Crapez

Coordenação do Curso de Biologia

UENF - Milton Kanashiro

UFRJ - Ricardo Iglesias Rios

UERJ - Celly Saba

Material Didático

ELABORAÇÃO DE CONTEÚDO

Lílian M. G. Bahia Oliveira

Milton M. Kanashiro

COORDENAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL

Cristine Costa Barreto

DESENVOLVIMENTO INSTRUCIONAL E REVISÃO

Anna Carolina da Matta Machado

Anna Maria Osborne

Marta Abdala

COORDENAÇÃO DE LINGUAGEM

Cyana Leahy-Dios

Maria Angélica Alves

COORDENAÇÃO DE AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Débora Barreiros

AVALIAÇÃO DO MATERIAL DIDÁTICO

Ana Paula Abreu Fialho

Aroaldo Veneu

Departamento de Produção

EDITORA

Tereza Queiroz

REVISÃO TIPOGRÁFICA

Cristina Freixinho

Elaine Barbosa

Marcus Knupp

Patrícia Paula

COORDENAÇÃO GRÁFICA

Jorge Moura

PROGRAMAÇÃO VISUAL

Alexandre d'Oliveira

Bruno Gomes

Katy Araújo

ILUSTRAÇÃO

Morvan Neto

CAPA

Morvan Neto

PRODUÇÃO GRÁFICA

Oséias Ferraz

Verônica Paranhos

Copyright © 2005, Fundação Cecierj / Consórcio Cederj

Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada, por qualquer meio eletrônico, mecânico, por fotocópia e outros, sem a prévia autorização, por escrito, da Fundação.

O48i

Oliveira, Lílian M.G. Bahia.

Imunologia. v. 2 / Lílian M. G. Bahia Oliveira;

Milton M. Kanashiro. – 2.ed. – Rio de Janeiro:

Fundação CECIERJ, 2010.

248p.; 19 x 26,5 cm.

ISBN: 85-7648-241-X

1. Imunologia celular. 2. Imunologia molecular.
3. Linfócitos. 4. Citocinas. 5. Vacinas. I. Kanashiro,
Milton M. II. Título.

CDD: 571.96

2010/1

Governo do Estado do Rio de Janeiro

Governador
Sérgio Cabral Filho

Secretário de Estado de Ciência e Tecnologia
Alexandre Cardoso

Universidades Consorciadas

**UENF - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO
NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**
Reitor: Almy Junior Cordeiro de Carvalho

**UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Vieiralves

UFF - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
Reitor: Roberto de Souza Salles

**UFRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**
Reitor: Aloísio Teixeira

**UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO**
Reitor: Ricardo Motta Miranda

**UNIRIO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO
DO RIO DE JANEIRO**
Reitora: Malvina Tania Tuttman

SUMÁRIO

Aula 11	– Complexo principal de histocompatibilidade, processamento e apresentação de antígenos _____	7
	<i>Milton M. Kanashiro</i>	
Aula 12	– Ontogenia e maturação de células B e T _____	35
	<i>Lílian M. G. Bahia Oliveira</i>	
Aula 13	– Ativação de linfócitos T _____	63
	<i>Lílian M. G. Bahia Oliveira</i>	
Aula 14	– Ativação de linfócitos B _____	87
	<i>Lílian M. G. Bahia Oliveira</i>	
Aula 15	– Citocinas _____	105
	<i>Lílian M. G. Bahia Oliveira</i>	
Aula 16	– Mecanismos efetores da imunidade humoral e celular _____	131
	<i>Milton M. Kanashiro</i>	
Aula 17	– Reações de hipersensibilidade _____	159
	<i>Milton M. Kanashiro</i>	
Aula 18	– Imunidade a infecções _____	191
	<i>Lílian M. G. Bahia Oliveira</i>	
Aula 19	– Vacinas _____	209
	<i>Milton M. Kanashiro</i>	
Referências	_____	241

Complexo principal de histocompatibilidade, processamento e apresentação de antígenos

AULA 11

Meta da aula

Apresentar a molécula do complexo principal de histocompatibilidade, sua função e o processamento e apresentação de antígenos.

objetivos

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- definir a estrutura molecular do complexo principal de histocompatibilidade;
- distinguir a função do MHC de classe I e classe II;
- descrever o processamento e apresentação de antígenos.

Pré-requisitos

Para que você entenda melhor esta aula, é importante que tenha claro alguns conceitos, tais como imunidade adaptativa, células e órgãos do sistema imune e receptores de células T e B, apresentados nas Aulas 1, 2, 3, 4 e 9 desta disciplina; estrutura de proteínas, Aula 12 de Bioquímica I, e polimorfismo, que foi visto na Aula 9 de Genética Básica.

INTRODUÇÃO

Você lembra que o antígeno pode ser reconhecido por dois grupos distintos de moléculas receptoras altamente variáveis, os receptores de células B e T? Eles foram trabalhados na Aula 9 e em outras desta disciplina. Os BCRs podem reconhecer antígenos na sua forma nativa, enquanto os TCRs não são capazes de “enxergar” os antígenos nessa forma, ou seja, o TCR só consegue reconhecer um antígeno quando ele é processado e apresentado associado a moléculas de MHC, conforme veremos nesta aula.

A identificação das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade, ou MHC, como também é conhecido, vem do inglês *Major Histocompatibility Complex*, e aconteceu pela investigação da sua função na resposta imunológica aos tumores, na rejeição de transplantes de pele e no controle da resposta imune. Esses estudos foram conduzidos principalmente em modelos de transplante em camundongos, nos quais foram identificadas várias regiões cromossômicas que determinavam a rejeição dos transplantes. Dentre essas regiões, uma apresentava um papel determinante e era capaz de induzir, rapidamente, a rejeição do tecido transplantado de um animal para outro. Assim, essa região foi denominada complexo principal de histocompatibilidade.

Nesta aula, vamos estudar a organização genética e estrutural da molécula do MHC e a sua função na resposta imune. Vamos entender como o antígeno é fragmentado e como os peptídeos gerados são associados ao MHC e, assim, disponibilizados na superfície celular para que o TCR possa reconhecê-lo, o que confere especificidade a essas células envolvidas na resposta imune. A partir desta aula, vamos tratar dos vários mecanismos que integram os componentes do sistema imune que podem resultar na sua ativação adequada e conseqüentemente na proteção do nosso organismo. Caso haja uma ativação inadequada, falhas ou mesmo patógenos que sejam capazes de evadir os mecanismos imunológicos, o desfecho poderá ser trágico! Ou seja, doença ou até mesmo a morte! Mas no momento não vamos nos preocupar com isso. Afinal, ainda temos muito que aprender, não é mesmo?

UM BREVE HISTÓRICO

A pesquisa em transplantes tem sido alvo dos cientistas desde o começo do século XX, sendo que a substituição de órgãos e tecidos defeituosos é um sonho desde a Idade Média. A ela se reporta o milagre do transplante de uma perna por São Cosme e Damião, de que já falamos na nossa Aula 1. Estudos realizados no início do século XX por E. E. Tyzzer,

com animais isogênicos (caso tenha dúvidas, reveja esses conceitos na Aula 4 desta disciplina), revelaram a existência de um componente genético no processo de rejeição de transplantes e que não era herdado como um fator mendeliano único (único gene). Lembre-se de que, nessa época, ainda não eram conhecidos os genes. Entre 1930 e 1940, George Snell desenvolveu as linhagens isogênicas de camundongos. Esses animais eram resultantes do cruzamento entre irmãos por cerca de vinte gerações e se caracterizavam por serem geneticamente idênticos. Posteriormente, ele desenvolveu as linhagens congênicas de camundongos que têm as características dos animais isogênicos, ou seja, todos os genes em homozigose, exceto para um *locus* cromossômico, que é o que caracteriza os congênicos. Esses animais foram fundamentais para a descrição do MHC.

Até meados do século XX, o tema transplante era abordado principalmente por cirurgiões, oncologistas, biólogos e geneticistas. A partir desse período e, principalmente, na década de 1960, vários grupos de imunologistas começaram a se dedicar ao estudo do MHC. Nesse período, foi determinada a conceituação genética do MHC e foi identificada a sua localização no genoma. Os avanços no conhecimento dessas moléculas de histocompatibilidade renderam a três imunologistas da época, **BARUJ BENACERRAF**, **JEAN DAUSSET** e **GEORGE SNELL**, o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia do ano de 1980.

RELEMBRANDO ALGUNS ASPECTOS IMPORTANTES

O MHC é mais um elemento importante na composição do sistema imune que vimos até agora. Vamos entender de uma maneira simplificada como esses elementos se integram? Na Aula 2, vimos as barreiras naturais constituídas pelas mucosas e pele e os componentes associados a elas. Os antígenos que conseguem ultrapassar essas barreiras induzem inflamação e podem fixar complemento pela via alternativa ou pela via das lectinas, como já vimos nas Aulas 5 e 7. Além disso, esses antígenos podem ser fagocitados por polimorfonucleares ou macrófagos e células dendríticas. Os antígenos livres e as células dendríticas e os macrófagos são carregados através da linfa para os órgãos linfóides que drenam a região (Aula 3). Nesses órgãos, os linfócitos B reconhecem o antígeno pelo seu receptor BCR (Aula 9) e, ao serem ativados, produzem anticorpos, que já vimos na Aula 6. As células T, também presentes nesses

BARUJ BENACERRAF

(1916-)

Pesquisador francês da Universidade de Paris (França) e, a partir de 1970, pesquisador da Universidade de Harvard. Descobriu os fatores genéticos associados aos antígenos de histocompatibilidade e interação do MHC nas células do sistema imune.

JEAN DAUSSET

(1920-)

Pesquisador venezuelano da Universidade de Harvard (EUA). Demonstrou a existência de antígenos de histocompatibilidade em humanos e elucidou a regulação genética da sua formação.

GEORGE SNELL

(1903-1996)

Pesquisador americano do Jackson Laboratory, referência mundial em animais de laboratório. Descobriu os fatores genéticos que possibilitam o transplante de tecido entre indivíduos e introduziu o conceito de antígenos de histocompatibilidade.

órgãos, serão ativadas por meio do reconhecimento do antígeno pelo TCR, associados a outros co-estímulos que veremos ainda numa outra aula desta disciplina. Entretanto, para que o TCR reconheça o antígeno, ele deve atender a alguns requisitos. Dentre eles, dois são essenciais: ser constituído por fragmentos peptídicos de aproximadamente 10-30 aminoácidos; estar associado à molécula de MHC.

ESTRUTURA DAS MOLÉCULAS DO MHC

As moléculas codificadas pelos genes que compõem o MHC pertencem às superfamílias das imunoglobulinas, cujas características dessas proteínas vimos na Aula 5 desta disciplina, e incluem os anticorpos, o TCR e algumas moléculas de adesão. A região cromossômica, que codifica as moléculas do MHC, compreende um conjunto de genes interligados e interdependentes, localizados nos cromossomos 6 e 17 de humanos e de camundongos e denominado HLA e H-2, respectivamente. O MHC pode ser dividido em quatro subconjuntos de genes ou classes: classes I, II, III e IV, sendo que trataremos nesta aula os de classe I e II que estão ligados ao processamento e apresentação de antígenos, enquanto os genes que compõem as classes III e IV codificam outras proteínas, sendo que algumas estão relacionadas com a resposta imune tais como componentes do sistema complemento, algumas citocinas etc., que já abordamos ou abordaremos nas próximas aulas. As moléculas do MHC de classe I, que estão presentes na maioria das células nucleadas, são reconhecidas principalmente pelo TCR de linfócitos T CD8, ao passo que as moléculas de classe II, presentes na superfície das células apresentadoras de antígenos, são reconhecidas pelo TCR dos linfócitos T CD4.

COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE DE CLASSE I

As moléculas do MHC de classe I são glicoproteínas expressas na membrana celular da maioria das células nucleadas dos vertebrados. Sua estrutura é constituída por uma cadeia α (alfa) de aproximadamente 45kDa. Veja no **Quadro 11.1** os componentes da molécula do MHC de classe I. A cadeia α contém um domínio hidrofóbico que atravessa a membrana plasmática e forma uma pequena cauda citoplasmática, que corresponde à região carboxi-terminal da molécula. Observe na **Figura 11.1.a**, que esta

cadeia se liga de forma não-covalente a uma outra molécula chamada β 2-microglobulina de massa molecular de 12kDa. Os genes que codificam a cadeia α , variável, estão localizados dentro da região genômica do MHC, enquanto os genes que codificam a β 2-microglobulina, invariáveis, estão localizados fora da região do MHC e em outro cromossomo. Veja na **Figura 11.1.a e b** que a cadeia α é formada por três segmentos α 1, α 2 e α 3. A região em que o peptídeo se liga corresponde à região amino-terminal e é composta pelos segmentos α 1 e α 2 que formam uma fenda ou bolsa, na qual ele se encaixa. Essa região também é responsável pela variabilidade da molécula do MHC de classe I, representado por círculos pretos na **Figura 11.1**, os resíduos que apresentam maior polimorfismo. A fenda é composta por duas estruturas do tipo α -hélice dispostas paralelamente e apoiadas sobre uma base do tipo folha β pregueada, formada por oito fitas β antiparalelas, que podem ser vistas na **Figura 11.1.b**. Caso você tenha dúvida quanto a essas estruturas de proteínas, reveja a Aula 12 de Bioquímica I. O tamanho dessa fenda permite ligar peptídeos de 8 a 11 aminoácidos e corresponde à região do MHC de classe I que interage com o TCR do linfócito T. Por essa razão, os antígenos protéicos precisam ser processados para gerar peptídeos, pequenos o suficiente para se ligarem à molécula do MHC, conforme veremos mais à frente nesta aula. A região globular, invariável, que corresponde ao segmento α 3, se liga ao co-receptor CD8 do linfócito T. Essa ligação confere a especificidade da molécula de classe I com a célula T CD8, que veremos com mais detalhes na Aula 13. O domínio α 3, também se liga de forma não-covalente à molécula β 2-microglobulina, sendo esse complexo estabilizado pelo peptídeo processado que se liga nos domínios α 1 e α 2. Somente nessa forma estável a molécula do MHC de classe I é expressa na superfície das células.

Quadro 11.1: Características das moléculas do MHC de classe I e II

Características	MHC classe I	MHC classe II
Cadeia polipeptídica	α (44 – 47 kDa) β 2-microglobulina (12 kDa)	α (32 – 34 kDa) β (29 – 32 kDa)
Localização dos resíduos polimórficos	Domínios α 1 e α 2	Domínios α 1 e β 1
Sítio de ligação ao co-receptor da célula T	Região α 3 se liga à molécula CD8	Região β 2 se liga à molécula CD4
Tamanho da fenda de ligação do peptídeo	Acomoda peptídeos de 8 – 11 aminoácidos	Acomoda peptídeos de 10 – 30 aminoácidos ou mais
Nomenclatura Humanos Camundongos	HLA-A, HLA-B, HLA-C. H-2K, H-2D, H-2L	HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR I-A, I-E

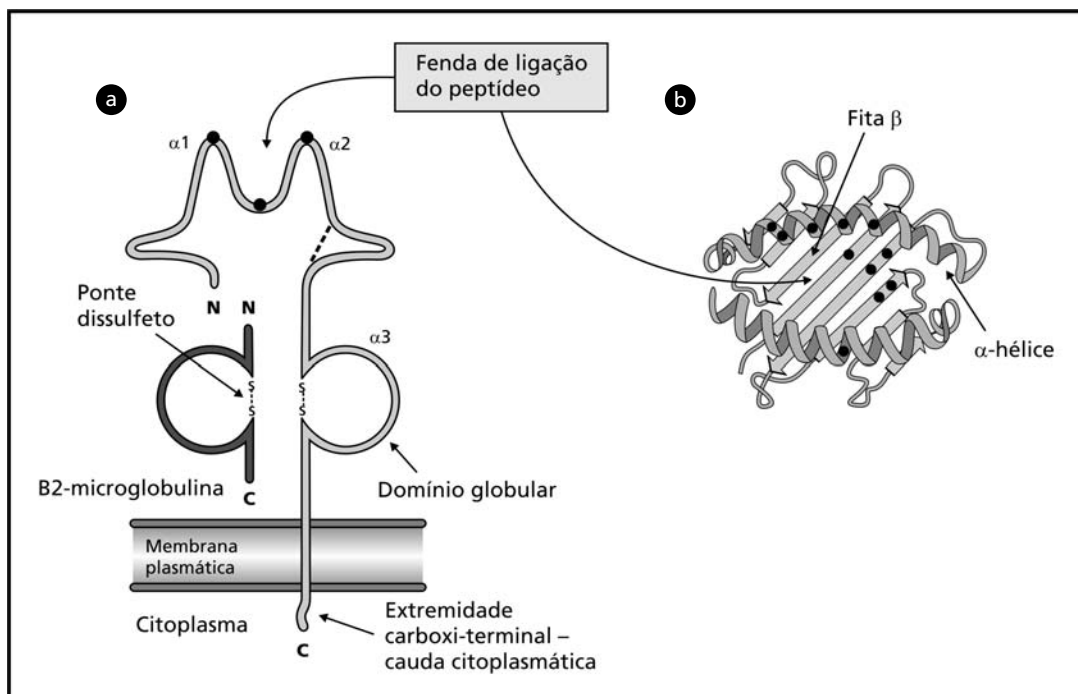


Figura 11.1: Desenho esquemático da molécula do MHC de classe I: (a) Diagrama demonstrando as diferentes regiões da molécula do MHC classe I. Observe os três segmentos da cadeia α , a cadeia invariável β 2-microglobulina e os respectivos domínios globulares; (b) estrutura tridimensional obtida de cristais de moléculas do MHC de classe I. Note as estruturas α -hélice e fita β da molécula que formam a fenda de ligação do peptídeo. Os círculos em preto denotam os resíduos polimórficos; veja que, nessa molécula, eles estão em maior número no segmento α 1 da cadeia α .

COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE DE CLASSE II

As moléculas do MHC de classe II também são glicoproteínas expressas na membrana celular. Entretanto, essas moléculas, diferentemente do MHC de classe I, são expressas na superfície de células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen presenting cells*). Essas células incluem as células dendríticas, os macrófagos e os linfócitos B. A molécula de classe II é formada por um heterodímero constituído de uma cadeia α e uma β , ligadas de forma não-covalente. A cadeia α tem 32-34kDa, enquanto a cadeia β tem 29-32kDa, conforme podemos ver no **Quadro 11.1**. Diferente das moléculas do MHC de classe I, as duas cadeias do MHC de classe II são codificadas dentro da região genômica do MHC e ambas são polimórficas, ou seja, são variáveis. As cadeias α e β , na porção extracelular, possuem domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ e $\beta 1$ e $\beta 2$, respectivamente, onde a porção variável das duas cadeias são os segmentos $\alpha 1$ e $\beta 1$, conforme pode ser visto na **Figura 11.2**. Ainda nessa figura, observe que os domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ interagem para formar a fenda de ligação ao peptídeo, que estruturalmente é bastante similar à molécula do MHC de classe I. Veja que o segmento $\alpha 1$ compõe a metade da fenda, compreendida por uma α -hélice e quatro fitas β , enquanto o segmento $\beta 1$ compõe a outra metade que corresponde a outra α -hélice e mais quatro fitas β . Esta fenda ou bolsa, como na molécula do MHC de classe I, é onde se encaixa o peptídeo a ser apresentado à célula T. Assim, como é de se esperar, esta também, é a região da molécula do MHC de classe II que apresenta maior variabilidade. Na molécula de classe II em humanos, o maior grau de polimorfismo é observado na cadeia β , conforme podemos observar na **Figura 11.2**. Os resíduos representados pelos círculos em preto apresentam maior variabilidade. Na molécula de classe II, as extremidades da fenda de ligação do peptídeo são abertas, o que, em geral, permite a ligação de peptídeos de 10-30 aminoácidos, mas pode ocorrer a ligação de peptídeos maiores, o que não acontece com a molécula de classe I que tem as extremidades fechadas (veja no **Quadro 11.1**).

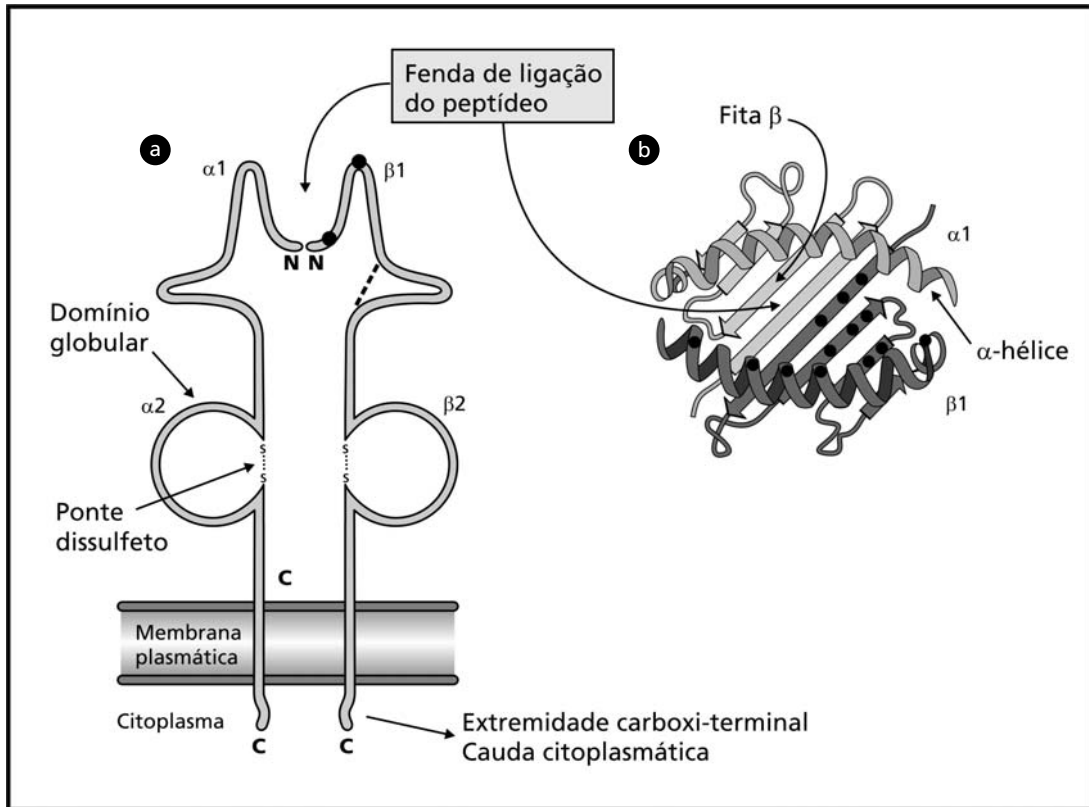


Figura 11.2: Desenho esquemático da molécula do MHC de classe II: (a) Diagrama demonstrando as diferentes regiões da molécula do MHC classe II. Observe as cadeias α e β com os segmentos $\alpha 1$ e $\alpha 2$ da cadeia α , $\beta 1$ e $\beta 2$ da cadeia β e os respectivos domínios globulares; (b) estrutura tridimensional obtida de cristais de moléculas do MHC de classe II. Note as estruturas α -hélice e fita β da cadeia α e que essas mesmas estruturas se repetem na cadeia β . Os círculos em preto denotam os resíduos polimórficos na cadeia β . Entretanto, não se esqueça! O polimorfismo também acontece na cadeia α , apesar de não estar representado.

Os segmentos $\alpha 2$ e $\beta 2$ do MHC de classe II, como o segmento $\alpha 3$ e a $\beta 2$ -microglobulina da molécula de classe I, apresentam domínios globulares e não são polimórficos, ou seja, não apresentam variabilidade. O domínio globular do segmento $\beta 2$ da molécula de classe II se liga à molécula co-receptora CD4, de forma similar ao que acontece com a molécula de classe I, que liga a molécula co-receptora CD8 no segmento $\alpha 3$. Essas interações entre o MHC e o TCR serão vistas com maiores detalhes numa aula mais à frente. Contudo, já podemos facilmente concluir que existe uma especificidade de interações, ou seja, a molécula do MHC de classe I se liga especificamente ao TCR de células T CD8, enquanto a molécula de classe II se liga ao TCR de células T CD4.



ATIVIDADE

1. Relacione e descreva sucintamente qual a molécula do MHC presente nas células nucleadas do organismo animal, e a molécula que está presente nas células apresentadoras de antígeno. Ao resolver esta atividade, você terá atingido o primeiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Você acertou se escreveu que a molécula do MHC de classe I está presente nas células nucleadas dos animais e que a molécula de classe II está presente nas células apresentadoras de antígenos. A molécula de classe I é composta pela cadeia α e β 2-microglobulina, sendo que a cadeia α é subdividida em α 1, α 2 e α 3. E as regiões α 1 e α 2 apresentam variabilidade e formam a fenda de ligação ao peptídeo. A molécula de classe II é composta pelas cadeias α e β que também são subdivididas em α 1 e α 2, e β 1 e β 2. Sendo as regiões α 1 e β 1 variáveis, juntas formam a fenda de ligação ao peptídeo. Parabéns!

Caso você tenha errado, reveja esses conceitos no texto, eles são muito importantes para a compreensão dos temas que serão apresentados nas próximas aulas.

ORGANIZAÇÃO GÊNICA DO MHC

Já vimos que os genes que codificam as moléculas do MHC estão localizados no cromossomo 6, em humanos, e no 17, em camundongos. Para entender como os genes que codificam o MHC estão organizados nesses cromossomos, veja na **Figura 11.3** um esquema simplificado dos *loci* MHC humano e murino. Observe que, em humanos, existem três *loci* que codificam as moléculas de classe I que são denominados HLA-A (antígeno leucocitário humano, do inglês *human leukocyte antigen*), HLA-B e HLA-C. Em camundongos, também existem três *loci* e são denominados H-2K, H-2D e H-2L. Esses genes codificam as respectivas cadeias α do MHC de classe I. Além desses, uma série de genes já foi descrita neste *locus*, cujas moléculas codificadas por eles se assemelham ao MHC. Dentre essas moléculas, a mais estudada é a molécula CD1,

que tem a capacidade de apresentar antígenos lipídicos às células T. De forma semelhante, em humanos, existem três *loci* gênicos do MHC de classe II, que são denominados HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR. Entretanto, em camundongos, são descritos somente dois *loci* de classe II, conhecidos como I-A e I-E. Os *loci* de classe II, murino e humano, incluem, cada um deles, genes para a cadeia α , e pelo menos um gene para a cadeia β do MHC de classe II. Lembre-se de que, na molécula do MHC de classe II, as cadeias α e β são codificadas pelo *locus* MHC, enquanto na de classe I somente a cadeia α é codificada pelo *locus* MHC. Normalmente, um indivíduo herda duas cópias de cada *locus* gênico (um de cada progenitor). Assim, em humanos, temos seis *loci* de classe I e seis *loci* de classe II, ao passo que nos camundongos temos seis *loci* de classe I e quatro *loci* de classe II. Todos esses *loci* apresentam alto grau de polimorfismo, ou seja, apresentam múltiplos alelos na população. Por exemplo, em humanos, alguns *loci* de HLA apresentam mais de 250 alelos na população. Caso você tenha dúvidas acerca de polimorfismo, reveja o início da Aula 9 de Genética Básica.

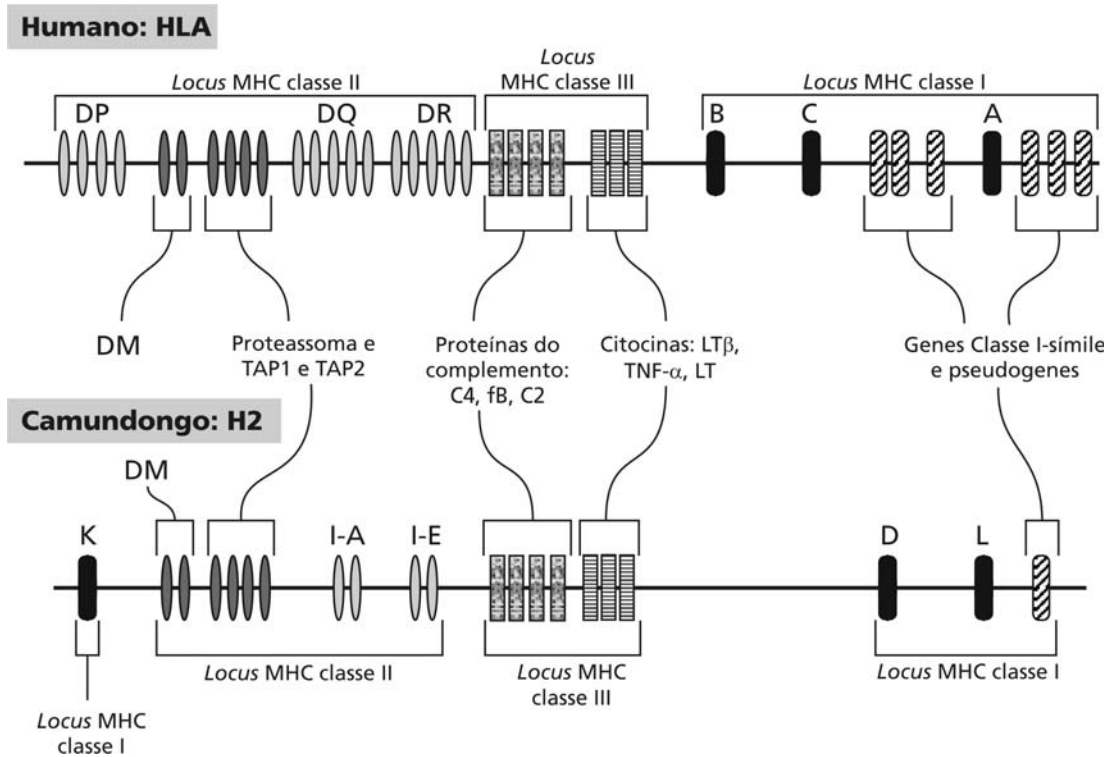


Figura 11.3: Mapa esquemático dos *loci* MHC humano e murino. Perceba que o *locus* do MHC de classe III contém genes que codificam outras moléculas do sistema imune.

Ainda dentro do *locus* de classe II, estão localizados genes que codificam várias moléculas essenciais no processamento e na apresentação de antígenos. Vamos citar as principais: a TAP (proteína transportadora associada ao processamento de antígeno), cuja função é transportar peptídeos do citosol para o retículo endoplasmático; um complexo de proteases citosólicas denominado proteassoma, responsável pela degradação de proteínas citosólicas em peptídeos que serão apresentados pela molécula de MHC de classe I; a molécula similar ao MHC de classe II, chamada HLA-DM em humanos e H-2M em camundongos, está associada à ligação de peptídeos, à molécula de MHC de classe II. Vamos voltar a falar dessas moléculas mais adiante nesta aula, quando falarmos de processamento e apresentação de antígenos.

O conjunto de alelos do MHC presente em cada cromossomo é chamado haplotipo do MHC. No homem, os alelos do HLA foram numericamente designados. Por exemplo, o haplotipo HLA de um indivíduo pode ser HLA-A2, HLA-C5, HLA-DR3, e assim por diante. Num indivíduo heterozigoto, obviamente, teremos dois haplotipos de HLA, como normalmente se observa na população, um herdado do pai e o outro da mãe. Em camundongos, diferentemente dos humanos, cada alelo H-2 é designado por letras minúsculas e sobrescrito. Para que isso fique mais fácil de entender, vejamos o exemplo de um camundongo isogênico (animal homozigoto). Este camundongo tem alelos idênticos em todos os *loci* do MHC e, conseqüentemente, tem somente um haplotipo, pois, o mesmo haplotipo do MHC é herdado do pai e da mãe. É importante que você não se esqueça de que, numa população isogênica, todos os animais têm o mesmo padrão genético. Assim, num camundongo, cujo haplotipo é do tipo *d* (H-2^d), podemos representar as suas moléculas do MHC da seguinte maneira, H-2K^d, I-A^d, I-E^d, H-2D^d, H-2L^d.

Os genes do MHC são expressos de forma co-dominante, o que significa que todos os alelos presentes no indivíduo são expressos. Vamos ver na **Figura 11.4** como se expressam as moléculas do MHC em uma célula apresentadora de antígenos de um camundongo heterozigoto H-2^{d/k}, cujo haplotipo do pai é H-2^d e o da mãe é H-2^k. Escolhemos esta célula porque ela expressa tanto moléculas do MHC de classe I como de classe II. Observe na figura que todos os alelos de classe I e II se expressam.

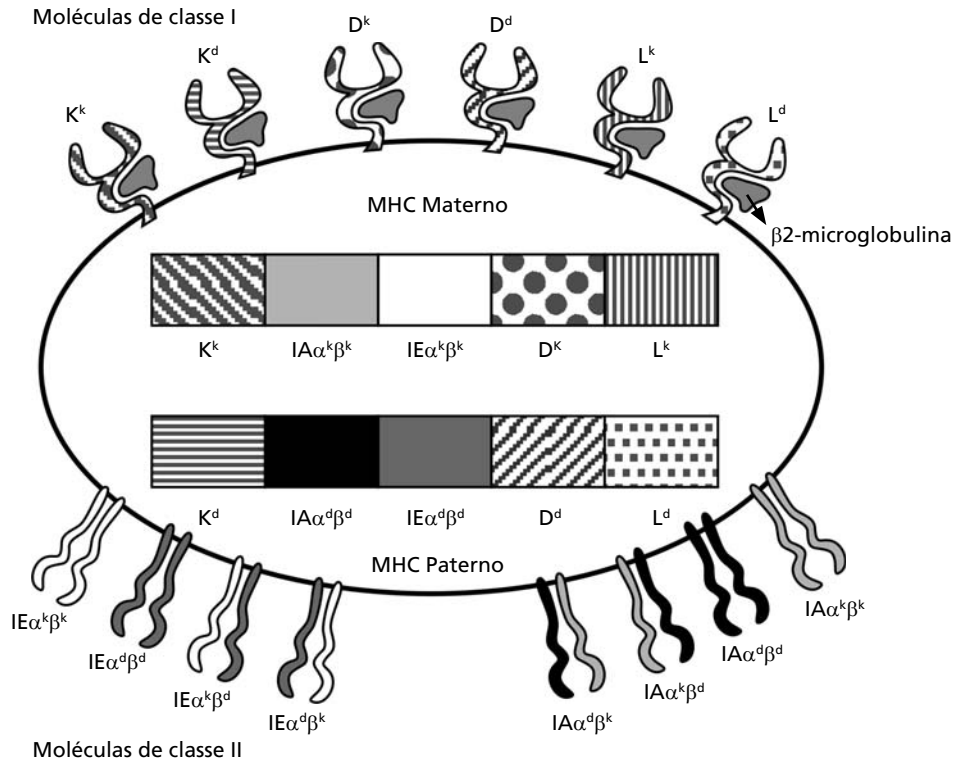


Figura 11.4: Diagrama ilustrativo das moléculas do MHC expressas em uma célula apresentadora de antígenos de um camundongo heterozigoto H-2^{k/d}.

Observe que ambos os genes, maternos e paternos, são expressos. Na molécula de classe I a $\beta 2$ -microglobulina é herdada de um dos parentais e não interfere na diversidade genética da molécula do MHC.

À parte as populações geneticamente homogêneas, como é o caso das linhagens isogênicas de camundongos, você seria capaz de imaginar como seria a herança genética do MHC numa população não-isogênica? Na população humana, por exemplo? Em primeiro lugar, vamos considerar o alto grau de polimorfismo genético do MHC, o que resulta, provavelmente, que a maioria dos indivíduos sejam heterozigotos em cada *locus* do MHC. Observe na **Figura 11.5**. Vamos tomar como exemplo apenas um *locus* em que os dois alelos são heterozigotos. Assim, existem quatro combinações alélicas possíveis que podem ser observadas nos descendentes, sendo que os alelos presentes em cada indivíduo são expressos nas suas células. Imagine que esse fato ocorra em todos os *loci* do MHC. Logo, fica fácil concluir que existe uma grande diversidade de haplotipos na população. Uma consequência direta disso é a dificuldade de se encontrarem doadores adequados para transplantes de tecidos ou órgãos, uma vez que as moléculas

do MHC são responsáveis pela histocompatibilidade. Contudo, o alto grau de polimorfismo do MHC se traduz em vantagens tanto para o indivíduo como para a população. Na população, diferentes graus de susceptibilidade a determinadas doenças estão associados ao haplotipo de MHC presente em cada indivíduo. Veja o boxe de atenção. No indivíduo, a presença de vários alelos aumenta a diversidade de peptídeos apresentados às células T. Mas como isso acontece? Bem, já vimos que a variabilidade da molécula do MHC acontece principalmente na fenda onde o peptídeo se liga, e essa variabilidade é dada pelo polimorfismo genético da molécula. Então, um indivíduo heterozigoto nos vários *loci* do MHC vai expressar moléculas diferentes do MHC nas suas células, e conseqüentemente terá uma diversidade maior de peptídeos apresentados. Este fato, examinado no contexto populacional, gera indivíduos que exibem diferenças na capacidade de resistir a determinadas doenças. Ainda é importante ressaltar que um alelo do MHC pode apresentar vários, mas não todos os antígenos. De onde podemos concluir que a capacidade de resposta de um indivíduo é aumentada pela expressão de várias moléculas diferentes do MHC.

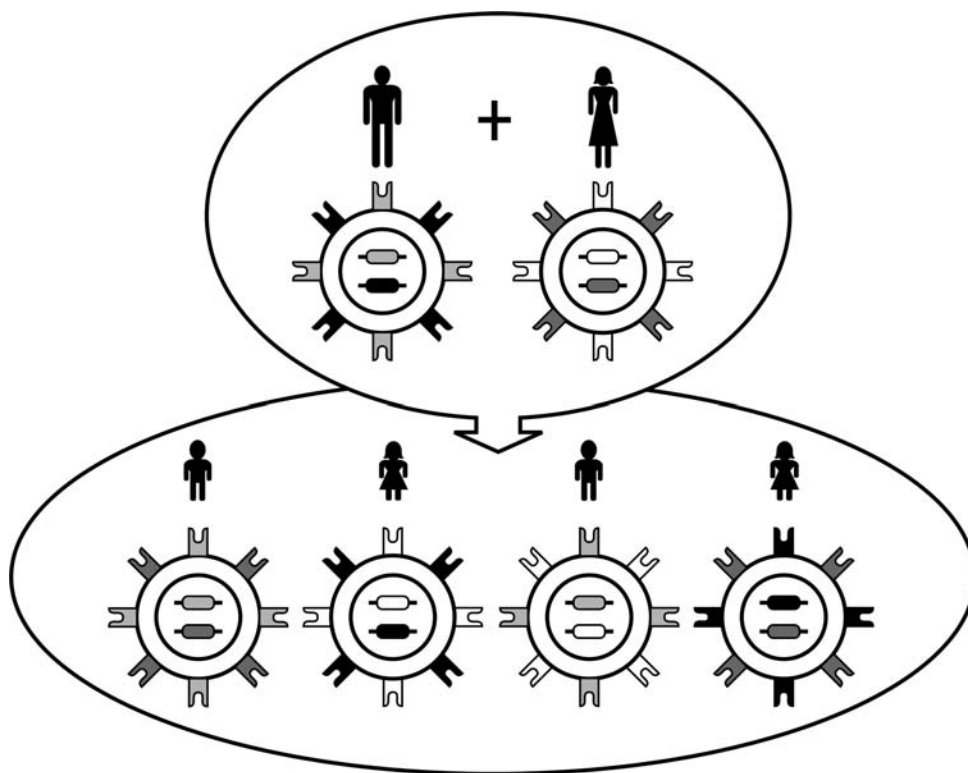


Figura 11.5: Diagrama esquemático da expressão co-dominante da molécula do MHC. Observe que todos os alelos se expressam.



Para reforçar a importância do polimorfismo genético do MHC, vejamos alguns exemplos.

Numa população, quando o grau de polimorfismo do MHC diminui, aumentam os riscos de surgimento de doenças infecciosas, como é o caso do guepardo, felídeo africano. É uma espécie em extinção, e possui pouca variedade de haplotipos de MHC. Esses animais são muito suscetíveis a ataques por certos vírus.

Em algumas doenças, já se tem determinado os alelos que são responsáveis pela suscetibilidade ou resistência, como é o caso do alelo B19 em galinhas, que determina a suscetibilidade à doença infecciosa de Marek, causada por um vírus que acomete as aves. As que possuem o alelo B21 são resistentes a essa enfermidade.

Em outras doenças, a pressão seletiva pode determinar a seleção de alelos que determinam maior resistência a estas doenças, ou seja, os alelos que determinam maior suscetibilidade, têm sua frequência na população bastante reduzida devido à morte dos indivíduos que o carregam. Este é o caso da malária na região oeste da África, onde esta enfermidade é endêmica. A frequência do alelo do MHC de classe I HLA-B53 é bastante elevada na população, uma vez que este alelo está associado a maior resistência ao *Plasmodium falciparum*, o agente etiológico da malária.

FUNÇÕES DO MHC

As moléculas do MHC, tanto as de classe I e as de classe II, têm apenas uma fenda de ligação que acomoda um único peptídeo. Entretanto, essas moléculas apresentam uma larga especificidade de ligação de peptídeos, ou seja, cada molécula pode ligar diferentes peptídeos originados dos mais diversos antígenos. Observe na **Figura 11.6** que a especificidade antigênica fina é dada pelo receptor da célula T. Isto significa que a especificidade da resposta celular é dada pelo TCR do linfócito T que reconhece especificamente o peptídeo. O resultado deste reconhecimento são a ativação e a proliferação da célula que reconheceu o peptídeo apresentado pelo MHC, que pode ser visto também na figura **Figura 11.6**.

Para prosseguirmos falando da função do MHC, vamos definir alguns termos importantes que serão muito utilizados. O termo “processamento” é utilizado para designar os eventos bioquímicos envolvidos na produção de fragmentos antigênicos (peptídeos), originados de moléculas maiores. Já àqueles que levam a ligação desses fragmentos com a molécula do MHC e a sua exposição na superfície celular para o reconhecimento pelo linfócito T antígeno-específico, denominamos “apresentação”.

A principal função da molécula do MHC é apresentar fragmentos de macromoléculas na superfície celular, em um arranjo específico que permita o seu reconhecimento por células do sistema imune, principalmente os linfócitos T $\alpha\beta^+$, o que resulta na ativação da resposta imune adaptativa.

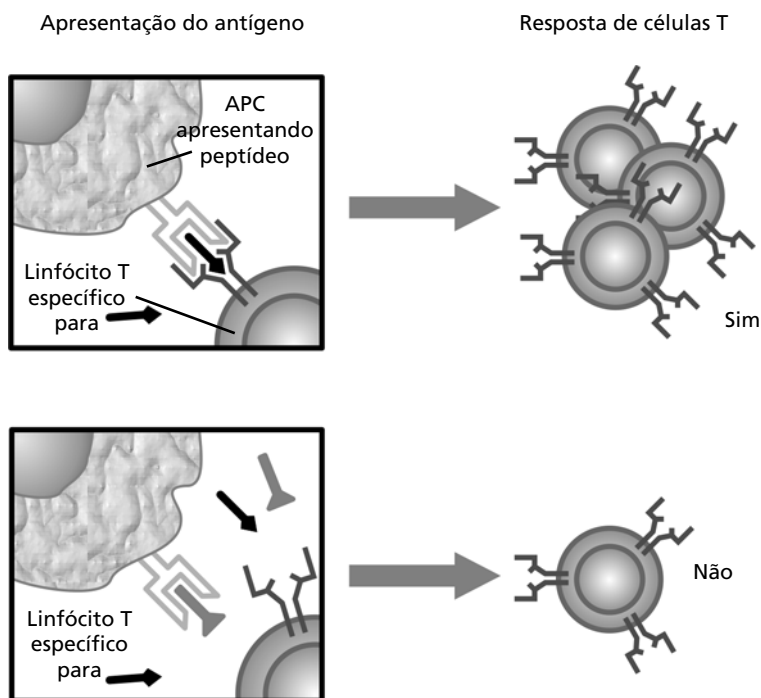


Figura 11.6: Apresentação de peptídeos por uma célula apresentadora de antígeno (APC). Veja que somente o linfócito T que tem o TCR específico para o peptídeo é ativado.

Como já falamos, as moléculas do MHC de classe I apresentam peptídeos presentes no citoplasma das células, sendo que estes peptídeos podem ser próprios, originados de parasitas intracelulares, como por exemplo os vírus, algumas bactérias e alguns protozoários, ou também de células tumorais. As células que possuem moléculas de MHC de classe I associadas a peptídeos de origem microbiana ou tumorais são alvos de células T CD8 ativadas (também conhecida como citotóxica ou citolítica e abreviada como CTL – linfócito T citolítico, do inglês *cytotoxic T lymphocyte*), que induzem à morte essas células infectadas ou transformadas. Não se preocupe, falaremos mais detalhadamente sobre esse assunto nas aulas seguintes. Mas, agora, já dá para entender o motivo pelo qual as moléculas de classe I estão presentes em todas as células nucleadas do nosso organismo, não é mesmo? Todas essas células são passíveis de infecções por organismos intracelulares ou mesmo de se transformarem em células cancerosas. Em contraste, as moléculas do MHC de classe II, presentes quase que exclusivamente em células B, macrófagos e células dendríticas, também conhecidas como APC (células apresentadoras de antígenos), apresentam peptídeos originados do meio extracelular, que englobam organismos ou substâncias presentes nesses

locais. As células T CD4, também conhecidas como células T auxiliares (do inglês *helper*) e abreviadas Th, são ativadas pelo contato e reconhecimento de um peptídeo estranho apresentado pela molécula do MHC de classe II. As células T CD4 ativadas, como a própria denominação diz, auxiliam a resposta imune, ou seja, participam na ativação de células B para que elas produzam anticorpos e também ativam os macrófagos para que eles matem mais eficientemente os microrganismos fagocitados. Todos esses mecanismos serão adequadamente abordados nas próximas aulas.

ATIVIDADE



2. Correlacione os itens abaixo, cuja função da apresentação de antígenos seja A para MHC de classe I e B para MHC de classe II. Ao concluir corretamente esta atividade, você terá atingido com sucesso o segundo objetivo desta aula.

1. () Antígenos tumorais.
2. () Vacina anti-hepatite B. Esta vacina é constituída de uma proteína recombinante chamada HBSAg e é administrada por via intramuscular.
3. () Infecção pelo vírus da hepatite B.
4. () Infecção pela bactéria *Staphylococcus aureus*. Não é um parasita intracelular.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu 1A, 2B, 3A, 4B, acertou! Excelente! Se errou, vamos entender por quê? Bem, com relação aos itens 1 e 4, caso você tenha errado, reveja o texto, ele é bem claro acerca desse assunto. Quanto aos itens 2 e 3, mesmo você que acertou deve estar se perguntando: Como pode a vacina contra o vírus da hepatite ser apresentada via MHC de classe II e a infecção pelo vírus da hepatite, o antígeno, ser apresentado via MHC de classe I? E a vacina induzir uma resposta imune protetora contra o vírus da hepatite? Em primeiro lugar, vamos esclarecer que a produção de anticorpos é fundamental para a proteção contra o vírus da hepatite e, nos dois casos, são produzidos anticorpos neutralizantes. No caso da vacina, o antígeno injetado intramuscularmente é fagocitado e apresentado via MHC de classe II pelas APCs, incluindo linfócitos B, que reconhecem o antígeno vacinal pelo seu receptor, o BCR. Este processo pode também acontecer na infecção pelo vírus quando ele se encontra na fase extracelular. Como resultado, os linfócitos B são ativados e diferenciam em células produtoras de anticorpos. No caso da infecção pelo vírus, as células infectadas apresentarão

os antígenos via MHC de classe I, mas a apresentação de antígenos via classe II também acontece por alguns mecanismos, que podemos citar: os vírus, ao emergirem de uma célula infectada para infectar outra célula, podem ser fagocitados; as células mortas ou não pela infecção viral ou pela ação das células T citolíticas também poderão ser fagocitadas. Em ambos os casos, os antígenos virais poderão ser apresentados via MHC de classe II, o que terá como consequência a ativação de linfócitos B e produção de anticorpos.

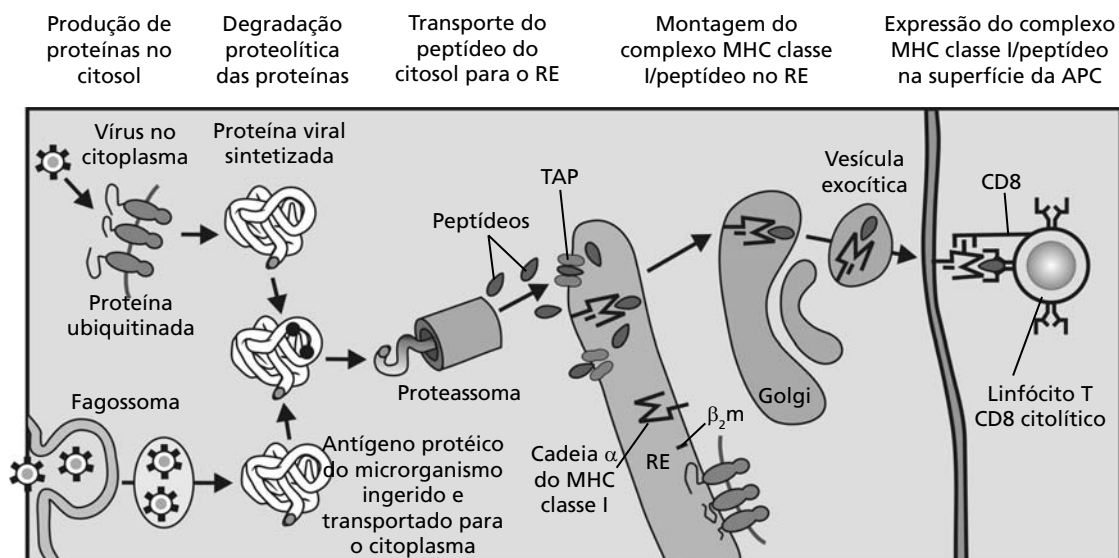
PROCESSAMENTO E APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS

Processamento e apresentação de antígenos às células T CD8

Antígenos apresentados pelas moléculas de MHC de classe I são, na maioria das vezes, gerados dentro da mesma célula que produziu a molécula de classe I. Os peptídeos gerados são derivados de proteínas que se encontram no citosol da célula, que podem ser da própria célula, de origem viral ou de outros microrganismos intracelulares e antígenos tumorais. Alguns microrganismos fagocitados conseguem escapar das vesículas fagolisossomais para o citoplasma, como é o caso de cepas patogênicas da bactéria *Listeria monocytogenes* e alguns vírus. Esse fato faz com que esses antígenos sejam tratados como citosólicos, ou seja, processados e apresentados via MHC de classe I. Os antígenos, em geral proteínas presentes no citoplasma, são degradados em peptídeos por um complexo multiproteolítico denominado proteassoma. Acompanhe pela **Figura 11.7**. Esses peptídeos são transportados do citoplasma para o retículo endoplasmático rugoso por intermédio de uma proteína transportadora chamada TAP, como já mencionamos antes. A TAP, que se apresenta na forma de dímero, encontra-se inserida na membrana do retículo endoplasmático e parece favorecer o transporte de peptídeos que tenham a região c-terminal com características hidrofóbicas ou alcalinas. Peptídeos com essas propriedades se ligam preferencialmente às moléculas do MHC de classe I.

A cadeia α e a molécula β 2-microglobulina são sintetizadas no retículo endoplasmático, cuja ligação com o peptídeo é fundamental.

Observe ainda na **Figura 11.7** que os peptídeos transportados pela TAP para dentro do retículo endoplasmático se ligam à molécula nascente do MHC classe I. O peptídeo ligado à molécula do MHC de classe I faz com que esta molécula fique estável. Assim, o complexo resultante, MHC classe I e peptídeo, agora estável, deixa o retículo endoplasmático e move-se para o complexo de Golgi, e daí é transportado para a superfície da célula em vesículas exocíticas. As moléculas de classe I que não se ligam a peptídeos tornam-se instáveis e não deixam o retículo endoplasmático e são degradadas neste mesmo local. Ainda na **Figura 11.7**, observe que a molécula de classe I associada ao peptídeo e expressa na superfície celular é reconhecida pela célula T CD8. O TCR do linfócito T CD8 reconhece especificamente o peptídeo associado à molécula do MHC classe I, e a molécula CD8 se liga à região conservada da molécula de classe I, a região $\alpha 3$. Esse reconhecimento específico do MHC classe I/peptídeo pelo TCR da célula T CD8, associado a outros estímulos co-estimulatórios, resulta na ativação do linfócito T CD8. É importante ressaltar que as moléculas do MHC das nossas células estão continuamente apresentando peptídeos endógenos de proteínas normais presentes no citoplasma celular. As células T CD8 reconhecem esses peptídeos como próprios e não há o desencadeamento de uma resposta imune. Entretanto, caso haja qualquer alteração no citoplasma da célula devido à presença de parasitas intracelulares ou início de um processo tumoral, essa alteração é detectada pela presença de peptídeos estranhos apresentados pela molécula do MHC de classe I. Em consequência disso é desencadeada a resposta imune contra o parasita ou a célula transformada. Esse processo funciona como uma forma de “checagem” que o sistema imune desenvolveu para verificar continuamente as funções celulares no nível citoplasmático.



RE - Retículo endoplasmático.

TAP - Proteína transportadora associada ao processamento de antígeno.

β_2m - beta-2 microglobulina.

Figura 11.7: Diagrama esquemático do processamento e apresentação de antígenos às células T CD8. Observe que somente os antígenos presentes no citoplasma são apresentados pela molécula do MHC de classe I, mesmo os antígenos fagocitados, ou seja, de origem externa, só serão apresentados via MHC de classe I se eles forem translocados do fagossoma para o citosol da célula.

A célula T CD8 ativada é capaz de reconhecer peptídeos associados à molécula de classe I, em qualquer célula que esteja expressando esse respectivo antígeno, e a consequência desse fato é a destruição da mesma. A expressão ubíqua da molécula do MHC de classe I (lembre-se de que esta molécula é expressa em todas as células nucleadas do organismo animal) permite que as CTLs (linfócitos T citolíticos) eliminem qualquer tipo de células infectadas ou de origem tumoral. Células que fagocitam antígenos particulados podem também ser alvo de células T citotóxicas, uma vez que algumas proteínas podem ser translocadas da vesícula fagocítica para o citosol e, assim, ser apresentadas via MHC de classe I.

A ativação da célula T CD8 possui, aparentemente, um problema em particular, que é o seguinte: a apresentação de antígenos pela molécula do MHC de classe I pode ser realizada por qualquer célula nucleada do organismo animal, que não funciona como uma célula apresentadora de antígenos (APC). Para a célula T CD8 ser ativada, proliferar e diferenciar em uma CTL efetora, ela necessita reconhecer o antígeno peptídico associado

à molécula de classe I e também receber sinais co-estimuladores da APC ou de uma célula T CD4 auxiliar. Caso esses co-estímulos não aconteçam, a célula T CD8 não se ativa.



ATIVIDADE

3. De acordo com o problema que acabamos de expor, o que você acha que acontece para que as células T CD8 sejam adequadamente ativadas? Uma dica: reveja a Atividade 2. Ao concluir esta atividade, você terá atingido uma parte do terceiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu algo similar ao que vamos descrever, acertou. Parabéns! Mas se errou, não se preocupe. Esta atividade tem um caráter provocativo para que você exercite os seus conhecimentos. Vamos lá? As células infectadas por organismos intracelulares ou as células tumorais são capturadas pelas células dendríticas. Como já falamos, normalmente os antígenos fagocitados são apresentados via MHC de classe II. Entretanto, as células infectadas ou tumorais, ao serem fagocitadas pelas células dendríticas, os antígenos presentes nessas células são também apresentados via MHC de classe I, e, assim, a célula T CD8 reconhece o antígeno no contexto do MHC de classe I e recebe os sinais co-estimulatórios adequados para se ativar. Este mecanismo é chamado apresentação cruzada. Veja na **Figura 11.8** um esquema desse processo. A apresentação cruzada de antígenos foi descrita há pouco tempo, e os mecanismos moleculares envolvidos nesse processo ainda não foram totalmente esclarecidos. Então, fica claro para você que existe uma exceção para aquele conceito que mostramos inicialmente, de que antígenos fagocitados são apresentados pela molécula do MHC de classe II e os antígenos citosólicos são apresentados pelas de classe I.

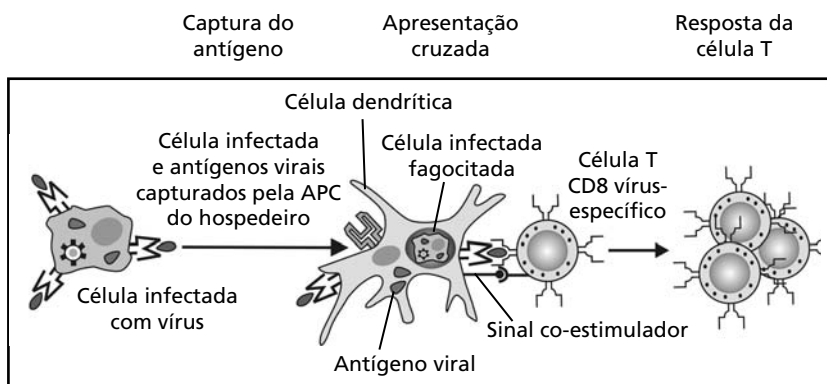


Figura 11.8: Apresentação cruzada de antígenos. Observe que a célula infectada pelo vírus é fagocitada pela célula dendrítica e que o antígeno viral é apresentado pelas moléculas do MHC de classes I e II. Veja também que a célula T CD8 reconhece o MHC de classe I e recebe o sinal co-estimulador da célula dendrítica para que ela se ative adequadamente.

Processamento e apresentação de antígenos às células T CD4

As moléculas do MHC de classe II também se ligam a peptídeos originados da degradação proteica, mas, nesse caso, geralmente os peptídeos resultam da proteólise de moléculas endocitadas ou partículas fagocitadas pelas APCs e, por essa razão, são referidos como peptídeos ou antígenos exógenos. Acompanhe pela **Figura 11.9**. As partículas fagocitadas são internalizadas em vesículas intracelulares, denominadas endossomas, que se fundem com outras, denominadas lisossomas, que contêm enzimas proteolíticas. A vesícula resultante dessa fusão é chamada fagolisossoma, ou lisossoma secundário. O processo de degradação do antígeno ocorre em condições ácidas, que é o pH ótimo para a ação das enzimas proteolíticas, presentes nos endossomas e lisossomas. Os endossomas apresentam uma grande quantidade de moléculas do MHC de classe II. Ainda na **Figura 11.9**, observe que os peptídeos originados da degradação dos antígenos exógenos se ligam na molécula do MHC de classe II.

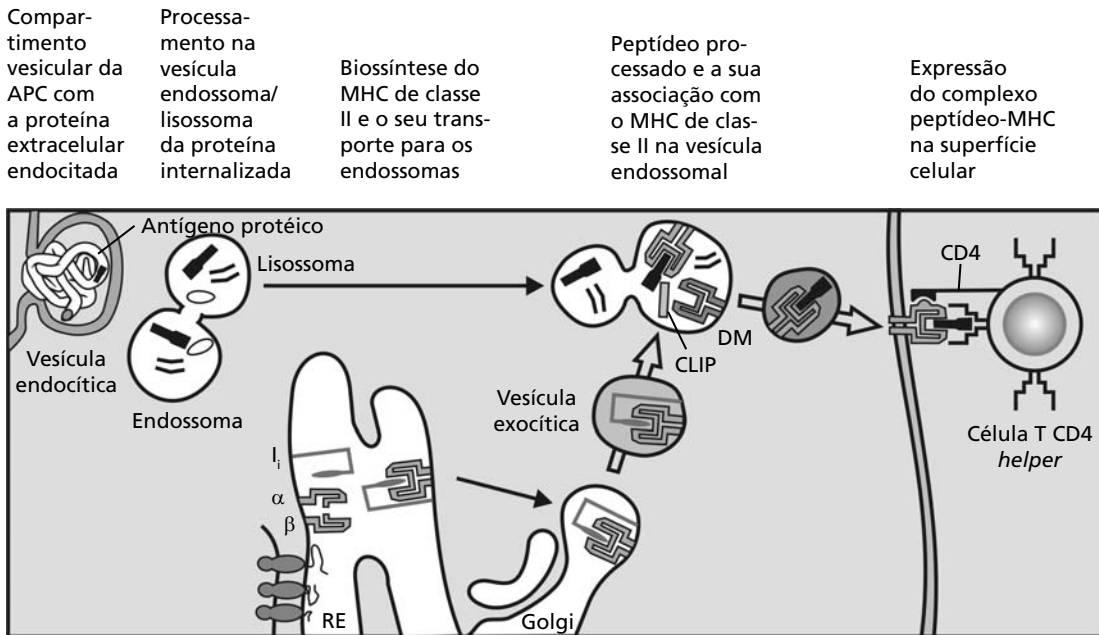


Figura 11.9: Esquema de processamento e apresentação de antígenos via MHC de classe II às células T CD4.

Quando recém-sintetizada no retículo endoplasmático, a molécula do MHC de classe II tem a fenda protegida por uma proteína denominada cadeia invariante (Ii). Veja na **Figura 11.9**. Desse modo, a fenda do MHC classe II não pode acomodar peptídeos presentes no retículo endoplasmático. Essa molécula de classe II é, então, direcionada para os endossomas, onde se encontram os peptídeos exógenos resultantes da proteólise dos antígenos externos. Nos endossomas, as enzimas proteolíticas digerem a cadeia Ii, porém, não totalmente, restando apenas 24 aminoácidos ainda associados à fenda da molécula de classe II. Agora, este pequeno fragmento passa a ser chamado CLIP (do inglês *class II associated invariant chain peptide*), como pode ser visto na **Figura 11.10**. Ainda nessa figura, veja que no endossoma a retirada do CLIP é realizada pela molécula HLA-DM (em humanos) e pela H-2M (em camundongos). Já falamos dessas duas moléculas no início desta aula. Essas duas moléculas têm a estrutura muito semelhante ao MHC de classe II. Com a remoção do CLIP, os peptídeos exógenos podem se ligar à fenda da molécula de classe II que torna a molécula mais estável. Observe, na **Figura 11.9**, como isso acontece. Assim, somente as moléculas do MHC de classe II em complexo com peptídeos têm estabilidade para serem expressas na membrana da célula apresentadora

de antígenos. Dessa forma, esse complexo molecular, MHC classe II/peptídeo, pode ser reconhecido especificamente pelo TCR dos linfócitos T CD4. Nestes, a molécula acessória CD4 se liga na região conservada da molécula de classe II constituída pelo domínio $\beta 2$ da cadeia β . O reconhecimento da molécula do MHC classe II associada ao peptídeo pelo TCR da célula CD4, associado aos sinais co-estimulatórios dados pela APC, resulta na ativação e proliferação da célula T CD4.

Para fixar melhor o conceito de processamento e apresentação de antígenos, vamos fazer mais uma atividade?

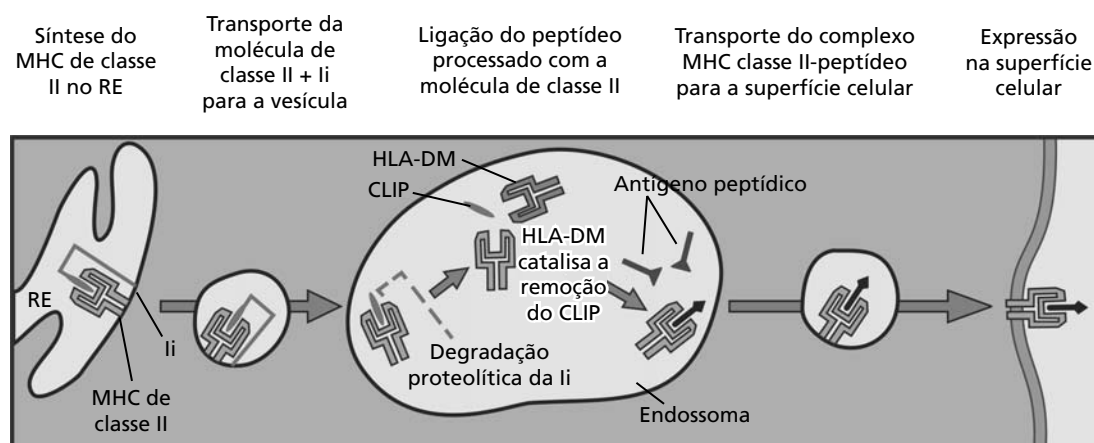
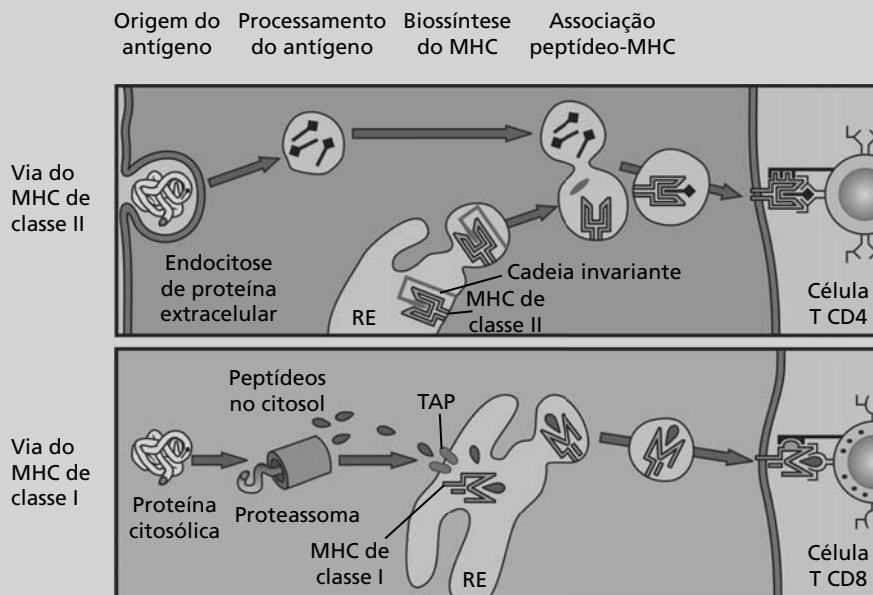


Figura 11.10: Síntese da molécula do MHC de classe II. Observe a cadeia invariante (li) e a remoção do CLIP pela molécula HLA-DM.

ATIVIDADE



4. Veja na figura seguinte a representação esquemática do processamento de antígenos via MHC de classes I e II. No quadro a seguir, preencha os dados comparativos referentes às duas vias. Capriche! Ao concluir esta atividade, você terá atingido mais uma parte do terceiro objetivo desta aula!



Elementos	MHC de classe I	MHC de classe II
Origem do antígeno		
Células que apresentam essas moléculas		
Células T que reconhecem essas moléculas		
Enzimas responsáveis pela geração dos peptídeos		
Local onde o peptídeo se liga à fenda do MHC		

RESPOSTA COMENTADA

Se você preencheu o quadro de resposta como apresentamos a seguir, parabéns, você acertou! Caso tenha errado, reveja o texto. É importante que você não tenha dúvidas sobre este assunto, ele será fundamental para o entendimento das próximas aulas.

Elementos	MHC de classe I	MHC de classe II
Origem do antígeno	<i>Principalmente proteínas presentes no citoplasma da célula</i>	<i>Principalmente proteínas internalizadas do ambiente extracelular</i>
Células que apresentam essas moléculas	<i>Todas as células nucleadas</i>	<i>Principalmente células dendríticas, macrófagos e linfócitos B</i>
Células T que reconhecem essas moléculas	<i>Linfócitos T CD8</i>	<i>Linfócito T CD4</i>
Enzimas responsáveis pela geração dos peptídeos	<i>Proteassoma presentes no citoplasma celular</i>	<i>Enzimas presentes nos endossomas e lisossomas</i>
Local onde o peptídeo se liga à fenda do MHC	<i>Retículo endoplasmático</i>	<i>Endossoma</i>

A evolução tornou o sistema imunológico apto a escolher a resposta mais eficiente para os diferentes microrganismos, bem como para regular os mecanismos efetores da resposta selecionada. Um dos pontos principais para essa escolha eficiente é o sistema ter a capacidade de diferenciar antígenos intracelulares dos extracelulares, pela respectiva combinação às moléculas do MHC de classe I e II, e conseqüentemente à ativação de células T CD8 e CD4 respectivamente. A restrição da apresentação de antígenos intra e extracelulares às moléculas de classe I e II é fundamental para o direcionamento e regulação da resposta imune. Assuntos que veremos nas próximas aulas. Logo, não fique com dúvidas acerca dos conceitos apresentados nesta aula. Eles serão importantes para entender como os linfócitos são ativados e como eles se integram com outros elementos do sistema imune para combater eficientemente os patógenos.

ATIVIDADE FINAL

Para cada um dos componentes listados a seguir, indique se eles estão associados a processamento e apresentação de antígenos de origem intracelular (IN) ou extracelular (EX) ou ambos (AM). Concluindo corretamente esta atividade, você terá atingido inteiramente o terceiro objetivo desta aula. Então capriche!

1. () Molécula do MHC de classe I.
2. () Molécula do MHC de classe II.
3. () Cadeia invariante (Ii).
4. () Enzimas hidrolíticas lisossomais.
5. () Proteassoma.
6. () Proteína TAP.
7. () Retículo endoplasmático.
8. () Transporte de vesículas do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi.
9. () CLIP.
10. () HLA-DM.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu 1- IN, 2- EX, 3- EX, 4- EX, 5- IN, 6- IN, 7- AM, 8- AM, 9- EX, 10- EX, acertou. Parabéns! Se errou, reveja o texto. É importante que você não tenha dúvida acerca deste assunto. Ele será muito importante para as próximas aulas.

RESUMO

As moléculas do MHC são codificadas por genes altamente polimórficos, e a variabilidade dessas moléculas acontece na região onde se ligam os peptídeos que são apresentados aos linfócitos T. A molécula do MHC de classe I apresenta antígeno à célula T CD8, enquanto a de classe II apresenta antígeno ao linfócito T CD4. O MHC de classe I é responsável pela apresentação de antígenos de origem intracelular, principalmente, ao passo que a molécula de classe II apresenta antígeno de origem extracelular.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, você vai ver como as duas células responsáveis pela especificidade do sistema imune, os linfócitos B e T, são originadas e maturadas. Você vai aprender como estas duas células são “educadas” para que não desenvolvam uma resposta imune contra o próprio organismo. Você está curioso? Então, prepare-se!

Ontogenia e maturação de células B e T

AULA 12

Metas da aula

Apresentar eventos que marcam as mais importantes etapas da ontogenia e da maturação dos linfócitos B e T;
descrever os conceitos vigentes sobre os processos de seleção de linfócitos B e T que definem o repertório dos anticorpos e TCRs.

objetivos

Ao final desta aula, você será capaz de:

- listar os eventos que caracterizam as etapas do desenvolvimento e do amadurecimento de linfócitos B e T;
- aplicar o conhecimento adquirido sobre os processos celulares que caracterizam a maturação de linfócitos B e T.

Pré-requisitos

Para acompanhar esta aula, você precisa ter estudado as Aulas 3 (hematopoiese), 9 (recombinação somática) e 11 (processamento e apresentação de antígenos) desta disciplina.

INTRODUÇÃO

Na Aula 9, você estudou os mecanismos moleculares de geração de diversidade dos receptores antigênicos de linfócitos B (imunoglobulinas) e T (TCRs). Comentamos naquela aula que a recombinação somática que gera os receptores antigênicos dos linfócitos B e T se dava ao longo do amadurecimento (maturação) daqueles linfócitos. Nesta aula, iremos descrever a “trajetória de vida” dos linfócitos B e T, desde os primórdios de sua formação na medula óssea até a sua completa maturidade, isto é, até o momento em que aquelas células passam a expressar, na sua membrana, os receptores antigênicos (imunoglobulinas e TCRs) além de outras moléculas; a partir desse momento, essas células estão aptas a participar da resposta imune, reconhecendo antígenos. A ontogenia e a maturação dos linfócitos B e T nada mais são do que esse processo, que vai desde os primórdios da sua formação na medula óssea até o seu completo amadurecimento na própria medula, para os linfócitos B, e no timo para os linfócitos T. O completo amadurecimento dos linfócitos é caracterizado pela expressão de determinadas moléculas na superfície celular e pela competência em responder a um dado estímulo antigênico, conforme veremos nesta aula.

ASPECTOS GERAIS DOS ESTÁGIOS INICIAIS DA MATURAÇÃO DOS LINFÓCITOS B & T

Na Aula 9, você viu que a recombinação somática é o evento que viabiliza, do ponto de vista funcional, o amadurecimento dos linfócitos B e T. Somente após a recombinação somática ter se completado é que os linfócitos estarão em condições de responderem a determinado estímulo antigênico, caracterizando sua maturação propriamente dita. Mas somente a recombinação somática não é suficiente para que os linfócitos B e T tornem-se células competentes. Assim, durante o processo de ontogenia e maturação dos linfócitos B e T, outros eventos devem ocorrer *concomitantemente* à recombinação somática e *após* a mesma ter se consumado, conforme veremos a seguir.

Observe o **Quadro 12.1**: nele estão descritas as principais etapas da ontogenia dos linfócitos B e T até o amadurecimento completo desses linfócitos em indivíduos, após o nascimento. Conforme você viu na Aula 3, a partir da célula-tronco, na medula óssea, observa-se o surgimento de células comprometidas com a diferenciação linfocitária. Essas células darão origem aos linfócitos B, aos linfócitos T e aos linfócitos NK.

Apenas nas células precursoras dos linfócitos B e T ocorrerá o evento da recombinação somática, gerando respectivamente as imunoglobulinas e os TRCs. Intensa atividade mitótica caracteriza os estágios iniciais da diferenciação das linhagens celulares precursoras dos linfócitos B e T. Esta alta taxa de mitose garante o provimento do vasto repertório linfocitário sobre o qual falamos na Aula 9. Ao longo desta aula, você compreenderá melhor o **Quadro 12.1**. No momento, é importante que você observe nesse quadro que, no percurso do amadurecimento dos linfócitos, ocorrem mudanças na sua localização bem como na sua relação com antígenos próprios e não-próprios. Observe que a recombinação somática vista na Aula 9 se inicia no estágio de pró-linfócito, passando pelo estágio de pré-linfócito e terminando no final do estágio de linfócitos imaturos.

LINFÓCITOS NAIVE

(Do inglês *naive* que significa “inocente”). São assim denominados, porque ainda não tiveram contato com antígenos.

Quadro 12.1: Principais etapas da ontogenia e da maturação de linfócitos T e B em função da sua localização anatômica e a relação com antígenos próprios e não-próprios em indivíduos após o nascimento

Etapa (estágio) da maturação	Localização anatômica	Eventos principais	Relação com antígenos próprios e não-próprios
Célula-tronco	Medula óssea	Resposta a citocinas e moléculas presentes no estroma da medula óssea	Nenhuma
Pró-linfócito	Medula óssea (pró-linfócitos B e T) e timo (pró-linfócitos T)	Resposta a citocinas e moléculas presentes no estroma da medula óssea e do timo. Observa-se grande atividade de fatores de transcrição nas células. Inicia-se a recombinação somática	Nenhuma
Pré-linfócito	Medula óssea (pré-linfócitos B) timo (pré-linfócitos T)	Recombinação somática em processo	Nenhuma
Linfócito imaturo	Medula óssea (linfócitos imaturos B) Timo (linfócitos imaturos T)	Recombinação somática em processo de finalização	Interação com antígenos próprios
Linfócito maduro (também chamado LINFÓCITO NAIVE)	Medula óssea (linfócitos B), timo (linfócitos T), órgãos linfóides secundários e tecidos (linfócitos B e linfócitos T)	Recombinação somática já estabelecida	Capacidade de interação com antígenos não-próprios
Linfócito efetor	Órgãos linfóides secundários e tecidos	Produção de anticorpos (por linfócitos B), secreção de citocinas, e moléculas que medeiam reações de citotoxicidade celular (linfócitos T).	Interação com antígenos não-próprios

MATURAÇÃO DE LINFÓCITOS B

A geração de linfócitos B maduros ocorre já muito cedo na fase embrionária e continua ao longo do desenvolvimento do indivíduo. Antes do nascimento, observa-se a maturação de linfócitos B no saco embrionário, no fígado e na medula fetais. Após o nascimento, um número muito elevado de células B é produzido na medula óssea, conforme você viu na Aula 3, mas apenas uma pequena parcela destas células sai da medula e ganha a circulação periférica. As células B maduras, que vão para a circulação periférica, expressam em sua membrana as imunoglobulinas IgM e IgD, e são chamadas células B *naive*, ou linfócitos B naive. Essas células irão povoar órgãos linfóides periféricos onde podem, por meio dos seus receptores antigênicos de membrana, isto é, das imunoglobulinas IgM de membrana, reconhecer antígenos.

Os estágios de desenvolvimento dos linfócitos B

Como você terá a oportunidade de ver, o desenvolvimento dos linfócitos B é caracterizado pela expressão de moléculas na superfície celular bem como no citoplasma da célula. A correta seqüência de eventos é que vai definir o sucesso do desenvolvimento de células B competentes.

Veja a **Figura 12.1**; Ela ilustra as interações entre as células do estroma na medula óssea e os linfócitos B em estágios de amadurecimento. A célula na medula óssea mais inicialmente comprometida com a linhagem de células B é denominada *célula pró-B*. O prefixo *pró* designa célula *progenitora* da célula B. Estas células não produzem imunoglobulinas e expressam moléculas em suas superfícies as quais são restritas à linhagem de células B, tais como CD19 e CD10. Na medula óssea, as células pró-B proliferam nos espaços extravasculares entre os capilares sinusóides nas trabéculas dos ossos esponjosos. Encontram-se também presentes, nesse estágio de desenvolvimento, dois tipos de moléculas denominadas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$, as quais realizam transdução de sinais intracelulares importantes no processo de amadurecimento celular. Nas células pró-B, observa-se o início do rearranjo de cadeias pesadas VDJ $C\mu$ (veja, na Aula 9, a **Figura 9.5**). Com a formação completa da cadeia pesada μ , que é a primeira cadeia a se rearranjar, como vimos na Aula 9, as células, então, passam ao próximo estágio e são denominadas *células pré-B*. O prefixo *pré* designa célula precursora da célula B. A diferenciação da célula pró-B

em célula pré-B requer a participação de células do estroma da medula óssea. As células do estroma interagem tanto com as células pró-B quanto com as células pré-B e secretam citocinas, dentre elas principalmente a IL-7, a qual é fundamental no processo de amadurecimento em curso. Interações de adesão celular específicas entre o estroma da medula óssea e as células em desenvolvimento são também fundamentais. Assim, a interação entre V-CAM-1 (*Vascular Cell Adhesion Molecule-1*), presente no estroma, e VLA-4 (*Very Late Activation Antigen-4*), presente nos linfócitos em desenvolvimento (se tiver dúvidas reveja o **Quadro 5.2** da Aula 5), faz com que, nos linfócitos pró-B, ocorra a interação entre o receptor denominado **c-KIT** e uma molécula presente na superfície de células do estroma, denominada **LIGANTE DE c-KIT**, também conhecida como CD117. A interação entre c-kit e o ligante de c-kit estimula o início da divisão celular e da diferenciação das células pró-B em pré-B.

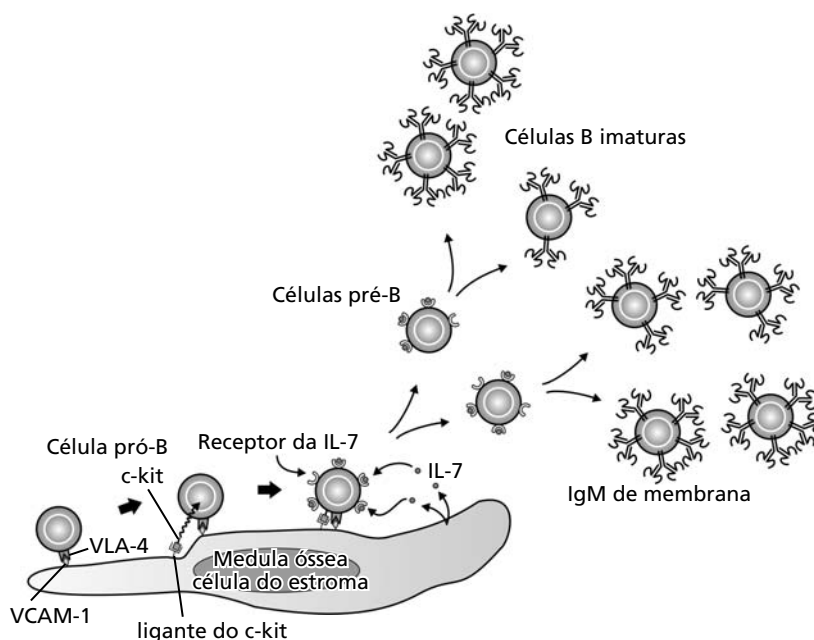


Figura 12.1: Interações entre as células do estroma da medula óssea e os linfócitos em diferentes estágios de amadurecimento.

C-KIT

É o produto do proto-oncogene c-kit que codifica para uma proteína de membrana (um receptor) com atividade tirosina-quinase muito importante durante a hematopoiese. Normalmente os produtos de proto-oncogenes não têm atividade oncogênica (de transformação em tumor). Ao contrário, eles estão envolvidos na regulação e diferenciação do crescimento celular e, em geral, têm atividade de proteína-quinase.

O LIGANTE DE c-KIT

(anteriormente chamado de *Stem Cell Factor SCF*, que significa, fator célula-tronco) é uma proteína que pode estar na forma solúvel ou de membrana, e que é importante em diversos processos durante a hematopoiese (vista na Aula 3). Tanto na medula óssea quanto no timo, o ligante de c-kit se liga em c-kit. Esta ligação resulta em transdução de sinal por parte de c-kit e implica regulação/diferenciação do crescimento celular.



Vimos na Aula 3 que é na medula óssea dos ossos planos ou chatos, no adulto, que ocorre a hematopoiese. Mais precisamente falando, é no tecido ósseo esponjoso, localizado na medula do osso e que é composto por uma rede de trabéculas, que a hematopoiese acontece.

As células pré-B ainda não podem reconhecer antígenos, pois apenas uma das cadeias (a pesada) está formada. Algumas das cadeias pesadas μ se associam a proteínas chamadas *cadeias leves substitutas* que, em inglês, são denominadas *surrogate light chains*. Essas cadeias leves substitutas são homólogas, isto é, muito semelhantes às cadeias leves convencionais κ e λ das imunoglobulinas sobre as quais falamos na Aula 9. No entanto, as cadeias leves substitutas são invariantes, isto é, elas não variam e portanto são idênticas em todas as células pré-B. As cadeias leves substitutas são constituídas por duas cadeias ligadas não covalentemente, que são:

- a cadeia $\lambda 5$ (similar ao domínio constante da cadeia leve λ convencional das imunoglobulinas);
- a cadeia V pré-B (semelhante ao domínio variável das cadeias leves convencionais das imunoglobulinas).

As cadeias leves substitutas interagem com a cadeia pesada μ e se expressam na superfície da célula pré-B em associação com as moléculas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Estas últimas estarão presentes na superfície das células até o estágio final de diferenciação em plasmócitos. Denomina-se *receptor da célula pré-B* o complexo molecular constituído por cadeias pesadas μ associadas às cadeias leves substitutas e complexadas às moléculas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$, como pode ser visto na **Figura 12.2**. Esse receptor se expressa transitoriamente na superfície da célula mas é de fundamental importância para a continuidade do amadurecimento celular que está em processo. A importância desse receptor pode ser avaliada quando observamos que animais com deficiência na expressão de cadeia $\lambda 5$ não formam o receptor da célula pré-B, mesmo após o rearranjo da cadeia μ ter se processado corretamente.

A seleção negativa de linfócitos B imaturos auto-reativos e a “edição” de imunoglobulinas

Cerca de apenas 10% (aproximadamente 5×10^6 células) do total de células B produzidas na medula diariamente ganha a circulação sanguínea, isto é, sai da medula óssea. Os outros 90% morrem na própria medula sem nunca de lá terem saído. Acredita-se que parte dessa perda se deva ao processo de seleção negativa que ocorre para eliminar as células capazes de reconhecer antígenos próprios presentes na medula óssea. Este processo de seleção denomina-se seleção negativa e consiste na morte por apoptose de linfócitos B imaturos que reconhecem, por meio da IgM de membrana, auto-antígenos na medula óssea, evitando, assim, a produção de auto-anticorpos por parte daquelas células.

Um outro fenômeno fantástico que ocorre nessa fase do desenvolvimento dos linfócitos B é aquele chamado “edição do receptor”. A edição vai acontecer em alguns dos linfócitos B imaturos que apresentam imunoglobulinas auto-reativas e parece se constituir em um dos mecanismos evolutivos importantes para contribuir, ao mesmo tempo, com a tolerância a componentes (antígenos) do próprio organismo e com a manutenção de diversidade das imunoglobulinas. Esse fenômeno consiste na troca (por isso é chamado “edição”) da região variável de uma das cadeias leves das imunoglobulinas, fazendo com que a imunoglobulina passe a apresentar outra especificidade (diferente daquela que reconhecia antígenos próprios), e portanto tenha chances de “escapular” da morte por apoptose.

A edição de receptores somente pôde ser confirmada experimentalmente com a utilização de animais transgênicos. No entanto, a edição é um fenômeno que ocorre normalmente durante a ontogenia dos linfócitos B de animais convencionais e em humanos também, como parte do processo natural de formação dos linfócitos B. A edição de imunoglobulinas é mais um dos mecanismos fantásticos que se perpetuaram na evolução do sistema imune de animais superiores. A edição de receptores acontece na fase imatura do linfócito B, e é possível porque, *nessa fase*, os genes RAG podem *ainda* ser reativados, proporcionando novas recombinações na região variável da cadeia leve. Ela ocorre principalmente em cadeias Kappa, mas pode ocorrer também em cadeias Lambda.

Os linfócitos B maduros, a troca (*switching*) de classes e a maturação de afinidade de imunoglobulinas

Seguindo o seu processo de amadurecimento, os linfócitos B imaturos que passam a apresentar, na sua membrana, imunoglobulinas IgD, em co-expressão com a IgM, são chamados linfócitos B maduros. As moléculas de IgM se associam não-covalentemente às moléculas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Esse conjunto recebe o nome de *B cell receptor* (BCR), que significa receptor da célula B, conforme mostrado na **Figura 12.3**. O BCR é um complexo receptor para antígenos na célula B, onde o reconhecimento do antígeno é feito pela molécula de imunoglobulina propriamente dita e a transdução do sinal pelas proteínas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Observe, na figura, que a porção citoplasmática da molécula de imunoglobulina na membrana do linfócito B é quase imperceptível; ao contrário, podemos observar que tanto a $Ig\alpha$ quanto a $Ig\beta$ possuem domínio intracitoplasmático com tamanho condizente com a função de transdução de sinal intracelular.

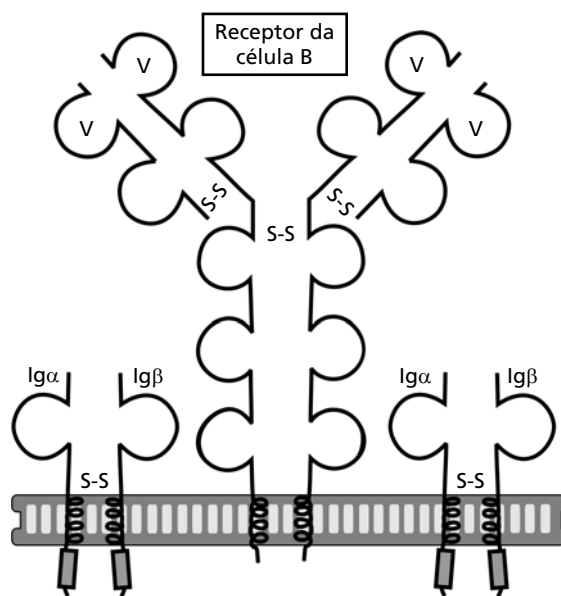


Figura 12.3: Estrutura do BCR, que é o complexo receptor para antígenos na célula B. O reconhecimento do antígeno é feito pela molécula de imunoglobulina e a transdução do sinal para o interior da célula pelas proteínas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Observe os domínios intracitoplasmáticos da $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. As estruturas representadas em retângulo são denominadas ITAMs e estão envolvidas na transdução de sinal, conforme veremos a seguir.

Os linfócitos B maduros deixam a medula e ganham a circulação sanguínea, e podem também co-expressar os outros isotipos de imunoglobulinas (IgA, IgE, IgG) na superfície celular. A expressão dos isotipos: IgG, IgA1, IgA2 e IgE vai ocorrer mediante rearranjo do DNA, mas somente para a parte que codifica para a porção constante da cadeia pesada da imunoglobulina! A esse processo de troca (mudança) de classes chamamos *switching*, palavra inglesa que significa “troca, substituição”. Não se esqueça de que, a partir do estágio da célula pré-B, não ocorrem mais rearranjos na região do DNA que codifica para a porção variável das cadeias pesadas e leves nem na porção constante das cadeias leves (κ e λ) das imunoglobulinas, salvo nos casos de edição do receptor! Mas é válido lembrar também que a edição do receptor somente ocorrerá em alguns linfócitos B imaturos que apresentarem auto-reatividade a antígenos da medula. Por isso dizemos que, em toda a vida do linfócito B, ele apresentará a mesma região variável e os mesmos isotipos de cadeia leves (ou κ ou λ). No entanto, ele poderá variar (mudar de classe isotípica) por causa do *switching* de classes!

Na próxima aula, veremos sobre a ativação dos linfócitos B maduros (também chamados *naive*, como já dissemos), mas já podemos lhe adiantar algumas informações. Os linfócitos B irão povoar órgãos linfóides secundários, e após serem estimulados por antígenos, mais de uma vez, poderão ainda sofrer modificações na região variável do seu DNA! Essas modificações consistem em mutações (trocas de bases de DNA) pontuais que resultarão em aumento da afinidade (força de ligação) entre o novo anticorpo produzido pela mesma célula B (cujo DNA sofreu a mutação) e o antígeno que já era anteriormente reconhecido pelo linfócito B em questão (antes de o mesmo sofrer a mutação no seu DNA). A esse processo de aumento da força de ligação entre antígeno e anticorpo em função das mutações pontuais no DNA dos linfócitos B, que acontece na resposta imune secundária (isto é, na resposta imune de repetição contra o mesmo antígeno), chamamos *maturação de afinidade* do anticorpo. Por causa do fenômeno da maturação de afinidade dos anticorpos, observamos que, na resposta imune de repetição (que acontece quando vacinamos, por exemplo), os anticorpos agora produzidos têm força de ligação muito maior com o antígeno do que quando foram, pela primeira vez, produzidos, isto é, durante a resposta imune primária.

Se você pensa que as transformações “na vida” de um linfócito B param por aí, está enganado. Após o contato com antígenos, os linfócitos B, agora chamados *linfócitos B efetores*, têm ainda dois destinos possíveis:

eles se transformam em células produtoras de anticorpos as quais têm vida curta, isto é, são terminais, e são chamadas *plasmócitos*;

eles se transformam em células B de memória. Essas têm vida mais longa e capacidade de produção de anticorpos mais rápida em resposta a antígenos, quando novamente em contato com os mesmos.

Essas mudanças ocorrem em função dos estímulos recebidos por esses linfócitos, dentre eles, os estímulos proporcionados por citocinas, e também em função do local onde estes se encontram quando são estimulados. Você verá esse assunto em maiores detalhes na próxima aula.

Observe a **Figura 12.4**; ela resume todas as etapas da ontogenia e maturação dos linfócitos B, mostrando os eventos que se passam na medula óssea desde a célula-tronco até o linfócito B maduro expressando IgM e IgD de membrana; observe que o *switch* de classes ocorre na periferia após a célula B madura ter saído da medula óssea.

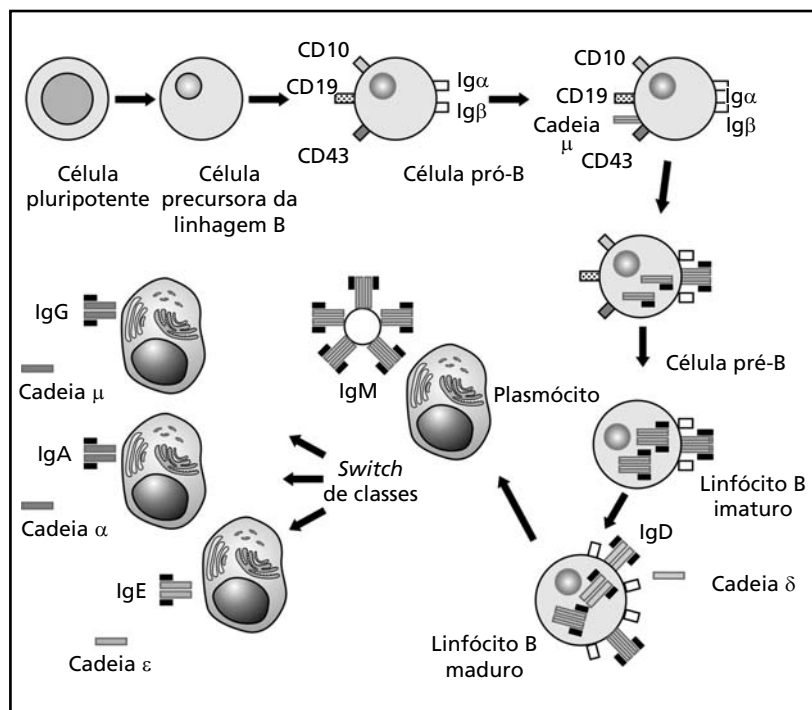


Figura 12.4: Resumo das etapas da ontogenia e maturação dos linfócitos B.

Os linfócitos B-1

Existe uma subpopulação de linfócitos B chamada subpopulação B-1, sobre a qual falaremos um pouco agora. Mas qual seriam as diferenças entre essa subpopulação B-1 e aquela sobre a qual falamos ao longo desta disciplina nesta aula aos quais nos referimos como linfócitos B convencionais? Pois bem, muitos dos linfócitos B-1 expressam a molécula CD5 na sua superfície, sendo um marcador para essa subpopulação. Porém, existem linfócitos B-1 que são CD5 negativos. Esses linfócitos aparecem mais cedo na ontogenia dos organismos que os linfócitos B convencionais. Eles apresentam um repertório mais limitado (menor diversidade de junção na região variável do que os linfócitos B convencionais). Secretam espontaneamente imunoglobulinas IgM que reconhecem alguns auto-antígenos e estruturas de carboidratos de microrganismos. Os linfócitos B-1, em adultos, se auto-renovam. Uma vez que essas células são abundantemente encontradas no peritônio, e espontaneamente produzem anticorpos com ampla cobertura de reconhecimento para moléculas de carboidratos comumente presentes em microrganismos, acredita-se que sejam importantes como componentes da primeira linha de defesa dos indivíduos. No que diz respeito à limitação do tamanho do repertório e ao amplo reconhecimento de antígenos, eles se assemelham às células T com receptor do tipo gama delta, já vistas na Aula 9 e sobre as quais falaremos a seguir.

ATIVIDADES



1. Complete no quadro a seguir os espaços em branco referentes às etapas e eventos importantes durante o processo de desenvolvimento e amadurecimento dos linfócitos B.

Evento	Etapas do desenvolvimento celular	Localização da célula
Início do rearranjo VDJ do DNA que codifica para a cadeia pesada de Ig		
Expressão de IgM citoplasmática		

Expressão de IgM e IgD de membrana		
Expressão da cadeia substituta invariante		
Edição de receptores		
Troca (<i>switching</i>) de classes		
Finalização da recombinação somática		

RESPOSTA COMENTADA

Se na coluna do meio (etapas do desenvolvimento celular) você respondeu na seguinte ordem: célula pró-B, célula pré-B, célula B imatura, célula pré-B, célula B imatura, célula B madura, célula B imatura; e na terceira coluna que todas as células localizam-se na medula óssea com exceção daquela onde está ocorrendo a troca ou o switching de classes, parabéns, acertou. Se você errou, volte ao texto e refaça a atividade. O switching ocorre fora da medula óssea, isto é, após o linfócito B ter sido estimulado pelo antígeno. Durante a apresentação do antígeno pelo linfócito B ao linfócito T, este último secreta citocinas que irão influenciar na troca (switching) de classes das imunoglobulinas. Ao realizar esta atividade, você estará atendendo ao primeiro objetivo desta aula.

2. Um menino nasceu com saúde aparentemente normal, mas aos sete meses, quando deixou de ingerir leite materno, começou a apresentar infecções gastrointestinais recorrentes. O pediatra requisitou exame de sangue venoso para avaliar os percentuais de linfócitos T e B. Foi verificado que os percentuais de linfócitos T eram normais, mas não foram encontrados linfócitos B maduros. No entanto, uma investigação mais minuciosa mostrou que o bebê apresentava células pró-B. Pergunta-se:
- Que tipo de defeito genético pode apresentar o bebê?
 - Por que as infecções começaram a aparecer apenas após os sete meses de vida do bebê?

RESPOSTA COMENTADA

a. O bebê pode apresentar defeito genético em alguma enzima, no processo da recombinação somática ou em algum processo de transdução de sinal importante para o amadurecimento da célula

progenitora do linfócito B (pró-B). Nesse último caso, já foi descrito um defeito genético chamado agamaglobulinemia (ausência da produção de anticorpos) de Bruton cujo defeito consiste na ausência de produção de uma tirosina quinase de Bruton (Btk), que é uma enzima vital para o amadurecimento dos linfócitos B. Para maiores informações sobre este defeito genético você pode consultar o site www.bio.davidson.edu/courses/Immunology/Flash/Bcellmat.swf –

b. Todo bebê até os 6 meses tem anticorpos da mãe que passaram pela placenta, e, por essa razão apresenta certa proteção imunológica “emprestada” da mãe. Após os 6 meses, o nível destes anticorpos cai drasticamente até desaparecer. Nesse caso, o bebê contava também com a proteção de IgAs da mãe pois ainda ingeria seu leite. A partir do momento em que o bebê não mais “pôde contar” com os anticorpos maternos ele começou a apresentar infecções de repetição.

Se você teve dificuldades para resolver esta atividade, procure um dos tutores do seu pólo. Ao realizar esta atividade, você estará atendendo ao segundo objetivo desta aula.

MATURAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE LINFÓCITOS T

Na Aula 11, você viu que as nossas células são dotadas de classes de moléculas que nos conferem identidade histológica, e por isso são chamadas antígenos de histocompatibilidade. Esses antígenos são moléculas, produtos dos complexos gênicos chamados MHC de classe I e de classe II e que, em humanos, são também conhecidos como antígenos de leucócitos humanos ou HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigens*. Por essa razão, em humanos, têm designação HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR, conforme visto na Aula 11. O MHC está envolvido na resposta imune mediada pelos linfócitos T cujos TCRs são do tipo alfa beta (células T $\alpha\beta$), e sobre os quais estaremos falando nesta aula, a menos que, discriminemos quando estivermos falando dos TCRs do tipo gama delta.

Muitos aspectos da maturação, ativação, e diferenciação dos linfócitos T se assemelham ao que acabamos de ver para os linfócitos B. Porém, alguns daqueles aspectos são exclusivos, pelo fato de que células T $\alpha\beta$ apenas reconhecem antígenos processados e complexados à moléculas de MHC, conforme visto na Aula 11.

Conhecendo um pouco mais sobre o complexo receptor antigênico das células T

Você viu até agora no seu curso de Imunologia que os linfócitos T reconhecem antígenos por meio do TCR, o qual pode ser do tipo alfa beta ou gama delta e que a molécula CD3 é expressa em todos os linfócitos T, sejam eles alfa beta ou gama delta. Você viu também que os linfócitos T com TCR do tipo alfa beta reconhecem antígenos processados e apresentados por moléculas de MHC. Os linfócitos T que expressam a molécula CD4 (chamados linfócitos T auxiliares ou helper) reconhecem antígenos processados e apresentados no contexto de moléculas de MHC classe II. Os linfócitos T que expressam a molécula CD8 (chamados linfócitos T citolíticos ou citotóxicos) reconhecem antígenos processados e apresentados no contexto de moléculas de MHC classe I.

No entanto, para que os linfócitos T possam ser ativados e, então, possam responder a fragmentos de peptídeos (conforme visto na Aula 11), é necessário que, além do reconhecimento específico do peptídeo pelo TCR, também haja:

- adesão estável entre a célula apresentadora de antígeno e a célula T;
- transdução de sinais de ativação para a célula T.

Cada um desses dois eventos é mediado por um conjunto distinto de moléculas nas células T. Nesta aula, vamos falar de algumas destas moléculas, que são o **CD3** e as **CADEIAS ζ** (zeta), as quais participam da transdução de sinais de ativação nas células T. Chamamos *complexo receptor do linfócito T* ao conjunto formado pelo TCR, pelo CD3 e pelas cadeias ζ ; essas moléculas se associam entre si de maneira não-covalente. Quando o TCR reconhece antígenos, o CD3 e as cadeias ζ transduzem sinais que são fundamentais para a ativação do linfócito T.

As cadeias α , δ e ϵ do CD3, bem como as cadeias ζ possuem no domínio citoplasmático uma seqüência de aminoácidos que é conservada e denominada **ITAM**, do inglês *Immuno-Receptor Tyrosine-based Activation Motif*. O complexo receptor antigênico da célula T é constituído por uma molécula de TCR, duas moléculas épsilon, uma gama e uma delta, (todas componentes do CD3) e duas cadeias zeta. Observe na **Figura 12.5** o esquema do complexo receptor do linfócito T:

A molécula **CD3** é formada por três proteínas designadas como cadeias γ , δ e ϵ (gama, delta e épsilon). Atenção, estas cadeias são componentes do CD3 e não do TCR! Esteja atento para não confundilas com os heterodímeros alfa beta ou gama delta que compõem o TCR.

As **CADEIAS ζ** são cadeias invariantes que se associam ao TCR, juntamente com a molécula CD3, de maneira não-covalente. Tanto as cadeias ζ quanto o CD3 promovem a transdução do sinal quando o TCR interage com uma célula apresentadora de antígeno.

Os **ITAMs** (*Immuno-receptor Tyrosine-based Activation Motif*) se constituem em seqüências padrão de aminoácidos (por isso a denominação *motif*) que aparecem também como componentes de várias outras proteínas de membrana de linfócitos (por isso a denominação *Immuno-receptor*) que contêm duas cópias da seqüência tirosina-X-X-leucina, onde X pode ser qualquer aminoácido. Esta seqüência é separada por seis a oito resíduos de aminoácidos; nos ITAMs ocorrerão interações com tirosinas-quinases (por isso a denominação *Tyrosine-based*), que mediarão a transdução de sinais intracelulares (por isso a denominação *Activation*). Várias outras proteínas de membrana dos linfócitos T e B, como nas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ que compõem o BCR, possuem também ITAMs (observe novamente a **Figura 12.3**).

A SÍNDROME DE DiGEORGE

é também conhecida como aplasia tímica, hipoplasia tímica ou síndrome do terceiro e quarto arcos branquiais. Caracteriza-se pela falta ou pelo subdesenvolvimento dos arcos branquiais entre a sexta e décima semanas da gestação humana. A síndrome pode se apresentar em diferentes graus e frequentemente está associada a defeitos cardíacos, anomalias dos grandes vasos cardíacos, falhas no desenvolvimento do tubo esofageano, anomalias faciais e hipoparatiroidismo (subdesenvolvimento das glândulas paratireóides). Na maioria dos casos, está associada a defeitos no cromossomo de número 22. Nessa síndrome pode-se observar ausência ou desenvolvimento incompleto do timo e das paratireóides, acompanhada de variados graus de imunodeficiências que podem ocasionar aumento na suscetibilidade a infecções. Se os portadores da forma severa da síndrome de DiGeorge sobrevivem ao período neonatal, podem apresentar suscetibilidade aumentada a infecções como pneumonias, recorrentes diarreias, candidíase oral (infecção por *Candida albicans*) e são propensos à morte súbita. No entanto, a maioria dos pacientes portadores da síndrome de DiGeorge não apresentam a forma severa da síndrome, e com o passar do tempo tornam-se normais ou praticamente normais e são capazes de desenvolver resposta imune que envolve a atuação de células T. Se você quiser saber mais sobre esta síndrome ou mesmo sobre outras síndromes, consulte o site http://www.midf.org/michigan_immunodeficiency_foundation_DiGeorge_Syndrome.htm Vale a pena a consulta!

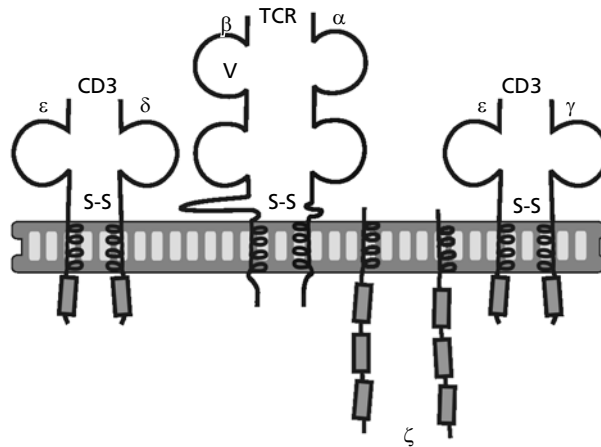


Figura 12.5: Desenho esquemático do complexo receptor antigênico da célula T. Perceba que o complexo TCR é composto pelo TCR, o CD3 (Cadeias epsilon, gamma e delta) mais as cadeias zeta. Observe os ITAMS representados por retângulos na porção citoplasmática da célula.

O papel do timo na maturação dos linfócitos T

As células progenitoras dos linfócitos T iniciam sua migração para o timo entre a sétima e a oitava semana da gestação em seres humanos. A importância do timo no amadurecimento das células T pode ser avaliada em animais e pessoas que não possuem ou possuem defeitos neste órgão, como ocorre na **SÍNDROME DE DiGEORGE**, por exemplo. O timo regride com a idade, tornando-se um órgão vestigial após a puberdade. Algumas células T podem sobreviver até vinte anos como células de memória!

As células precursoras dos linfócitos T saem da medula óssea e migram para o timo já a partir da sétima semana da gestação em humanos. Em camundongos, esta migração ocorre no décimo primeiro dia da gestação, a qual tem vinte e um dias de duração. Não se sabe ao certo se células precursoras de outras linhagens de células migram para o timo e apenas aquelas precursoras de linfócitos T sobrevivem ou se, preferencialmente, as células precursoras dos linfócitos T é que migram para o órgão. Chamamos *timócitos* às células que estão se desenvolvendo em linfócitos T, no timo. A maioria dos timócitos imaturos não expressa

ainda o TCR e os marcadores CD4 e CD8. Os timócitos mais imaturos encontram-se no seio subcapsular da região cortical do timo (veja a **Figura 3.5** da Aula 3). Os timócitos imaturos migram da região subcapsular do timo para a região do córtex. No córtex ocorre a maioria dos eventos de maturação, e os timócitos nesta região já expressam o TCR e se diferenciam em linfócitos T CD4 ou CD8. Os linfócitos T, já maduros, migram para a região medular do timo, de onde saem para a circulação periférica via vasos linfáticos ou sanguíneos.

Muitas células de origem não-linfóide irão influenciar, no timo, o processo de maturação dos timócitos. Observe a **Figura 12.6**; ela ilustra esquematicamente a distribuição dessas células no micro ambiente tímico. Dentre elas estão as epiteliais tímicas presentes no córtex e medula do timo; macrófagos e células dendríticas (ambas derivadas da medula óssea), presentes preferencialmente nas regiões medular e cortico-medular respectivamente. Esta organização estrutural é estratégica no processo de maturação dos linfócitos T. No timo, as citocinas, em especial a IL-7, produzidas pelas células do estroma (principalmente as células epiteliais), bem como as moléculas de MHC classe I e classe II, são fundamentais no processo de amadurecimento dos linfócitos T. Na região cortical do timo, macrófagos, células dendríticas e células epiteliais expressam níveis elevados de moléculas de MHC classe II. Na região medular do timo, as células dendríticas e as epiteliais expressam elevados níveis tanto de moléculas de MHC classe I quanto de classe II. Já os macrófagos desta região expressam elevados níveis de moléculas de MHC classe I. A expressão tão elevada de moléculas de MHC no timo tem uma razão de ser, conforme veremos a seguir.

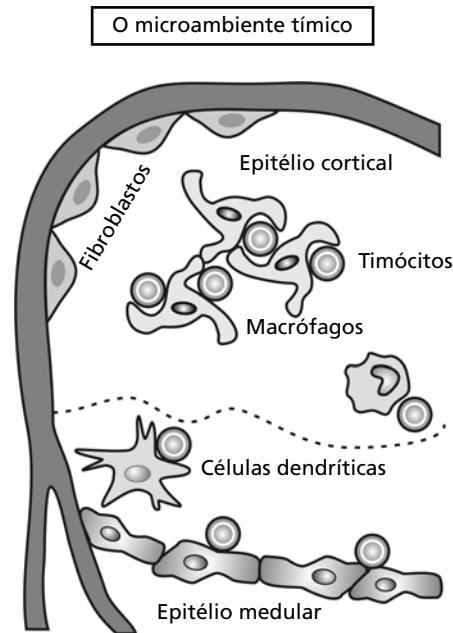


Figura 12.6: Distribuição de timócitos no micro ambiente tímico, mostrando células epiteliais tímicas macrófagos e células dendríticas.

Os estágios de maturação dos linfócitos T

A denominação dos diferentes estágios de desenvolvimento dos timócitos se dá de maneira similar à denominação vista para o desenvolvimento dos linfócitos B. Assim, temos os estágios pró-T (célula progenitora de T) e pré-T (célula precursora de T), só que com a diferença de que, a partir do estágio pró-T, essas células encontram-se no timo. O seu desenvolvimento vai depender da presença de moléculas de MHC no órgão, como veremos a seguir. As células pró-T não expressam TCR, CD3, a cadeia ζ e os marcadores CD4 e CD8 e são chamadas também células duplo-negativas, porque não expressam nem CD4 nem CD8. A maioria dos timócitos duplo-negativos dá origem a linfócitos que expressam TCR do tipo alfa beta e são ou CD4 (linfócito T *helper*), os quais representam cerca de 10% da população total de timócitos, ou CD8 (linfócito T citotóxico), que representam cerca de 5% da população total de timócitos.

O estágio pré-T se caracteriza pela ausência da expressão de CD4 e CD8 e pela baixa expressão da cadeia β do TCR, tendo ocorrido a recombinação somática desta cadeia do TCR (ver **Figura 9.6** da Aula 9)

na superfície da célula em associação com a proteína invariante pré-T α . Nesta fase do desenvolvimento, o CD3 e as proteínas ζ , juntamente com a cadeia beta do TCR associada à cadeia invariante pré-T α , se associam não-covalentemente e, em conjunto, formam o chamado complexo receptor pré-T, que pode ser visualizado na **Figura 12.7**. Não se sabe se o receptor pré-T α reconhece algum ligante, mas a presença deste complexo receptor é fundamental para o prosseguimento da maturação dos linfócitos T.



Esteja atento para as seguintes semelhanças entre os estágios pré-T e pré-B de desenvolvimento dos linfócitos T e B:

- 1) na fase pré-T a proteína invariante alfa se associa à cadeia β do TCR;
- 2) na fase pré-B a cadeia leve substituta (*surrogate chain*) se associa à cadeia pesada das imunoglobulinas.

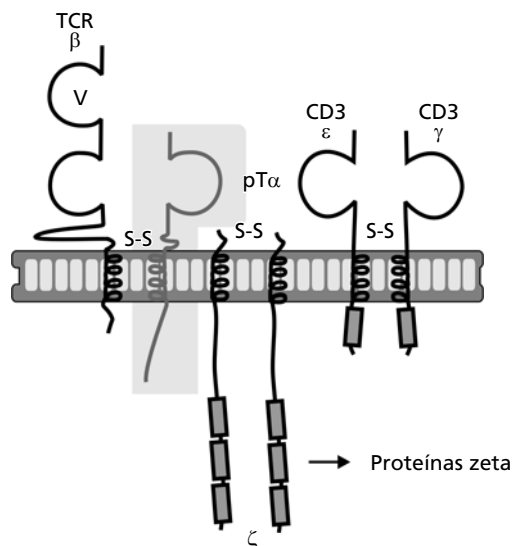


Figura 12.7: Desenho esquemático do complexo receptor pré-T mostrando a expressão da cadeia beta do TCR associada à proteína invariante alfa (destacada em cinza-claro), o CD3 e as proteínas zeta.

A **SELEÇÃO NEGATIVA** e a **SELEÇÃO POSITIVA DE TIMÓCITOS** consiste respectivamente na morte e na sobrevivência de tais células no timo. Os timócitos são selecionados negativamente ou positivamente em função da “força de interação” entre o TCR do timócito que reconhecerá peptídeos apresentados por células apresentadoras de antígeno (APC) no timo no contexto de MHC classe II (CD4) ou classe I (CD8). Quando a força de interação entre o peptídeo apresentado pelas APCs e o TCR do timócito é intensa (de alta afinidade), ocorre a seleção negativa e o timócito morre. Quando a força de interação entre o peptídeo apresentado pelas APCs e o TCR do timócito é fraca (de baixa afinidade), mas, suficiente para desencadear processos de ativação importantes para a sobrevivência da célula, ocorre a seleção positiva do timócito. Veja a **Figura 12.8** para a melhor compreensão das interações moleculares que ocorrem entre as células durante a seleção positiva e negativa de células no timo.

Dando continuidade ao seu desenvolvimento, os timócitos passam a expressar concomitantemente as moléculas CD4 e CD8 e são chamados *timócitos duplo-positivos*. Nessa fase, os genes TCR alfa sofrem recombinação somática (ver **Figura 9.6** da Aula 9), ocorrendo a formação completa do TCR do tipo alfa beta. O TCR alfa beta completo se expressa na superfície celular em conjunto com o CD3 e as proteínas zeta, formando o complexo receptor do linfócito T propriamente dito. Uma vez que os timócitos duplo-positivos expressam o complexo receptor, eles estão aptos a reconhecer antígenos, portanto, sofrerão os processos de seleção negativa e de seleção positiva no timo e passarão a ser ou CD4 ou CD8 positivas, como veremos a seguir.

O processo de seleção e maturação de célula T no timo é restrito ao MHC de classe I ou classe II

O próximo passo no processo de amadurecimento dos timócitos promoverá a fase de células duplo-positivas (que expressam ao mesmo tempo CD4 e CD8) para a fase de células simples-positivas (que expressam CD4 ou CD8). Este processo se dá em função da arquitetura histológica do timo e ocorrerá por meio da **SELEÇÃO NEGATIVA** e da **SELEÇÃO POSITIVA DE TIMÓCITOS**. A **Figura 12.8** ilustra as interações moleculares que ocorrem entre as células durante a seleção positiva e negativa de timócitos. Para melhor compreensão da **Figura 12.8**, leia o boxe de atenção. Os processos de seleção positiva e de seleção negativa asseguram que o repertório dos linfócitos T seja restrito ao MHC próprio e ao mesmo tempo tolerante, isto é, não reativo a auto-antígenos. O processo de seleção positiva de linfócitos é também conhecido como “educação tímica”, conforme comentamos na Aula 3. O termo “educação tímica” foi proposto para nomear o fenômeno que se observou em que células T, no seu processo de amadurecimento, tornavam-se tolerantes ao próprio, porém, ao mesmo tempo apenas reconheciam antígenos apresentados no contexto do MHC do próprio indivíduo. No entanto, pelo fato de que os processos educacionais envolvem “instrução”, o termo “educação *tímica*” não é muito apropriado neste caso. Isto porque as células não são “instruídas” e, portanto, não são “educadas”. Elas são selecionadas.

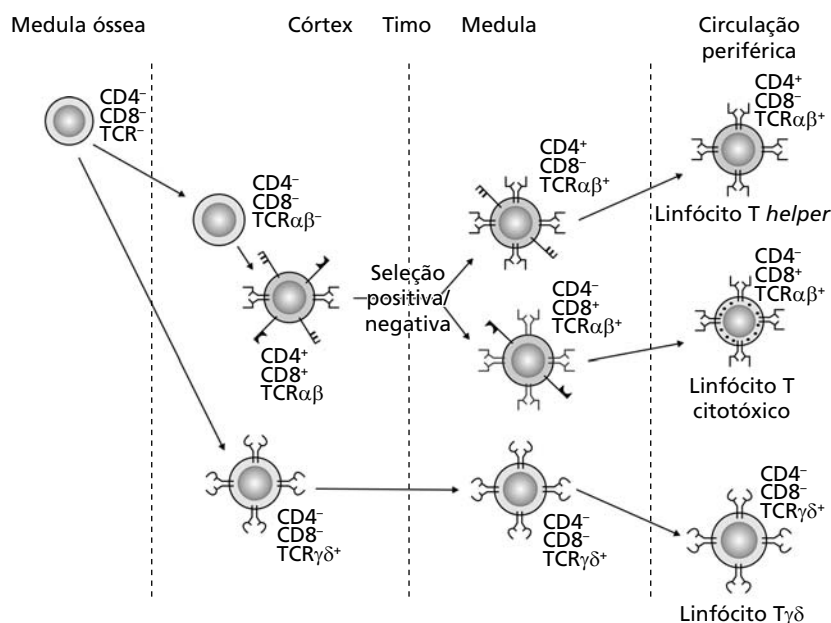


Figura 12.8: Interações moleculares entre as células que participam do processo de seleção positiva e negativa de timócitos.

O desenvolvimento do repertório dos linfócitos T é restrito ao MHC próprio, a partir da seleção positiva no timo

Os timócitos duplo-positivos (imaturos) serão selecionados como simples positivos (CD4 ou CD8) no seu percurso do córtex à medula do timo. Uma vez que moléculas de TCR passam a ser expressas na superfície dos linfócitos duplo-positivos, eles podem sobreviver cerca de três dias sem que haja a estimulação de seus TCRs. Mais de 90% de timócitos duplo-positivos morrem no córtex tímico por apoptose, e provavelmente esta morte é ocasionada porque não são selecionados positivamente. A seqüência de eventos descrita a seguir é concebida como provável para explicar a seleção positiva no timo. Ela foi baseada em uma série de experimento, muitos deles com animais transgênicos. Você poder ler sobre esses experimentos nos livros textos de Imunologia.

No córtex tímico, os timócitos imaturos duplo-positivos são gerados sem estímulos antigênicos e expressam TCR do tipo alfa beta. Esses timócitos imaturos, no córtex, encontram células epiteliais tímicas, expressando uma variedade de autopeptídeos processados e apresentados por MHC classe I e classe II. Se o TCR do timócito imaturo

duplo-positivo reconhece um peptídeo apresentado por MHC classe I (com força de interação fraca) e ao mesmo tempo o seu CD8 interage com as moléculas MHC classe I, então essa célula receberá sinais que proporcionarão a progressão do seu desenvolvimento e, em consequência, prevenirão sua morte por apoptose. Esta célula deixará de apresentar o CD4 e continuará a apresentar o CD8. Assim, um timócito passa a ser simples-positivo (neste caso, CD8 positivo) e restrito ao MHC de classe I próprio. De maneira similar, ocorrerá a seleção de timócitos CD4, simples-positivos restritos ao MHC classe II. Os timócitos que não reconhecerem antígenos apresentados pelas células epiteliais tímicas morrerão. Uma pergunta que surge quando analisamos essa seqüência de eventos é a seguinte: como pode uma seleção balizada em seus próprios antígenos gerar um repertório vasto e específico para antígenos estranhos? A resposta provável é que as interações fracas entre o TCR dos timócitos e os auto-antígenos apresentados pelas células epiteliais tímicas, que conduzem à seleção positiva, levarão ao amadurecimento de células T que reconhecerão antígenos estranhos com alta afinidade. Se os timócitos em desenvolvimento reconhecerem auto-antígenos com alta afinidade, eles serão negativamente selecionados, conforme veremos a seguir.

O desenvolvimento da tolerância central dos linfócitos T, a partir da seleção negativa no timo

Normalmente os antígenos apresentados no timo são ubíquos, isto é, amplamente expressos no corpo do indivíduo. A força de interação com que os timócitos reconhecerão os auto-antígenos apresentados no timo dependerá da avidéz com que o peptídeo é reconhecido pelo TCR e da concentração deste peptídeo que está sendo apresentado. Os timócitos que possuem TCRs que reconhecem auto-antígenos com alta avidéz são aqueles que apresentam força de interação intensa entre o peptídeo apresentado no timo e o TCR do timócito, e serão eliminados pela seleção negativa. Este processo elimina clones de células T que, em potencial, reconheceriam auto-antígenos. A deleção clonal de timócitos auto-reativos ocorrerá quando o TCR de timócitos imaturos duplo-positivos (CD4 e CD8) se ligar fortemente (com alta afinidade) a células apresentadoras de antígeno, apresentando auto-antígenos no órgão.

Evidências experimentais indicam que qualquer célula apresentadora de antígeno no timo (macrófagos derivados da medula óssea, células dendríticas e células epiteliais tímicas) pode induzir à deleção clonal (eliminação do clone pela sua morte), por meio do mecanismo de seleção negativa; ao passo que a seleção positiva parece ser induzida apenas pelas células epiteliais tímicas. A morte das células negativamente selecionadas ocorre por apoptose induzida, isto é por sinais transduzidos pelo complexo receptor antigênico no timócito, negativamente selecionado. A morte das células que não foram positivamente selecionadas se dá por “negligência de estímulo”. Embora ambos os mecanismos, seleção negativa e ausência de seleção positiva, levem à morte de timócitos por apoptose, eles diferem. Na seleção negativa, a morte é induzida, ao passo que na ausência de seleção positiva as células “são deixadas morrer” simplesmente porque são “negligenciadas de estímulo” isto é, não são estimuladas por antígenos.

Devido a esse mecanismo (seleção negativa), o sistema imune não responde a seus próprios antígenos e desenvolve a auto tolerância (do inglês *self-tolerance*). A tolerância que é desenvolvida em órgão linfóide primário, como esta que descrevemos sobre timócitos em amadurecimento no timo, é chamada “tolerância central”. Existe ainda um outro mecanismo de desenvolvimento de tolerância a antígenos estranhos chamado “tolerância periférica”, que se desenvolve já em linfócitos maduros e se passa nos órgãos linfóides secundários e tecidos periféricos, sobre o qual falaremos em outra aula.



ATIVIDADE

3. Complete no quadro abaixo os espaços em branco referentes às etapas e eventos importantes durante o processo de desenvolvimento e amadurecimento dos linfócitos T.

Evento	Etapa do desenvolvimento celular	Localização da célula
Ausência da expressão de CD4, CD8 e CD3		
Expressão da cadeia beta do TCR		
Expressão concomitante de TCR, completo CD3 CD4 e CD8		
Seleção positiva e negativa de timócitos		

RESPOSTA COMENTADA

Se na coluna do meio (etapas do desenvolvimento celular) você respondeu na ordem: célula pró-T, célula pré-T, timócitos duplo-positivos e timócitos simples-positivos e na terceira coluna respondeu que todas as células localizam-se no timo, com exceção da célula pró-T, que se localiza na medula e no timo, parabéns, acertou. Se você errou, volte ao texto e refaça a atividade. Compare a resposta da Atividade 3 com a resposta da Atividade 1 e veja as semelhanças nas fases do desenvolvimento celular de linfócito B e T. Ao realizar a Atividade 3, você estará atendendo ao primeiro objetivo desta aula.

Conhecendo um pouco mais sobre os linfócitos T com TCR do tipo gama delta

Em nosso curso já falamos um pouco sobre as células T com TCR do tipo $\gamma\delta$ (células T $\gamma\delta$). Você agora vai conhecer um pouco mais sobre essas células. No curso do desenvolvimento embrionário de camundongos, as células T $\gamma\delta$ aparecem no décimo quarto dia de gestação (que dura cerca de 21 dias) e atingem sua concentração máxima por volta do décimo sétimo dia. A partir desse dia até o nascimento, observa-se declínio dessa população celular. No animal adulto, as células T $\gamma\delta$ representam cerca de 0,5 a 1% do total de timócitos.

O complexo receptor antigênico das células T $\gamma\delta$ é composto pela molécula CD3 e pelas proteínas ζ , como você viu nas células T $\alpha\beta$. No entanto, a quase totalidade dos linfócitos T $\gamma\delta$ não expressa nem CD4 nem CD8, e são portanto células T duplo-negativas. Estas células não reconhecem antígenos processados e apresentados no contexto de moléculas de MHC. O repertório das células T $\gamma\delta$ é mais limitado do que o das células T $\alpha\beta$, o que sugere que os linfócitos T $\gamma\delta$ possam reconhecer estruturas conservadas em microrganismos. Sob este aspecto, essas células se assemelham aos linfócitos B-1, como você viu nesta aula. De fato, células T $\gamma\delta$ reconhecem lipoglicanas apresentadas pela molécula CD1, que é um análogo de MHC classe I, mas que, no entanto, não é polimórfico. A localização das células T $\gamma\delta$ em diferentes animais (tecido epitelial de camundongos, mucosa intestinal de camundongos e galinhas, canal vaginal e útero em camundongos, epitélio intestinal de humanos), bem como o reconhecimento de estruturas conservadas por parte dessas células, sugere o seu papel importante como componentes da primeira linha de defesa dos organismos. No entanto, camundongos deficientes em células T $\gamma\delta$ apresentam apenas modesta suscetibilidade a infecções por bactérias intracelulares.



ATIVIDADE

4. Imagine que você esteja em um laboratório de pesquisas e receba uma amostra de sangue venoso de uma criança para analisar e responder qual o percentual de células B e T presentes na amostra. Há suspeitas de que a criança não produza nem linfócitos T nem linfócitos B maduros Pergunta-se:

- Que tipo de metodologia você utilizaria para analisar a amostra?
- Quais os marcadores utilizados para distinguir os linfócitos T dos linfócitos B?
- Você constatou que praticamente não há nem linfócitos T nem linfócitos B no sangue periférico da criança. Sendo assim, seria plausível se pensar em um defeito genético na expressão de ITAMs? Por quê?

RESPOSTA COMENTADA

- Citometria de fluxo ou microscopia de fluorescência.
- CD3 para os linfócitos T e CD19 para os linfócitos B.
- Sim, porque tanto no processo de amadurecimento dos linfócitos B quanto dos linfócitos T é necessário que haja a expressão de proteínas que formam os complexos receptores BCR e TCR. Assim, as proteínas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ que fazem parte do BCR, bem como as cadeias zeta e o CD3 que fazem parte do TCR, apresentam ITAMs que transduzem sinais importantes para a continuidade do processo de amadurecimento (maturação) dos linfócitos B e T. Desse modo, um defeito genético na expressão das ITAMs dessas proteínas poderia comprometer o pleno amadurecimento dos linfócitos B e T. Ao realizar esta atividade, você estará atendendo ao segundo objetivo desta aula.

CONCLUSÃO

Chegamos ao final de mais uma aula de nossa disciplina, cujo assunto complementa o que você aprendeu sobre geração de diversidade na Aula 9 e sobre o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e a apresentação de antígenos na Aula 11. Estamos caminhando para o ponto em que você será capaz de compreender, com relativo grau de detalhamento molecular, a resposta imune sistêmica. Isto não é fantástico?

ATIVIDADE FINAL

Imagine que você em uma pequena cidade do interior e é a pessoa no local que mais entende de Imunologia porque é um biólogo formado pelo consórcio CEDERJ para Educação a Distância. O médico do local é um senhor já de idade, que não teve oportunidade de renovar seus conhecimentos em Imunologia, que são ainda da década de 1970. Nestas circunstâncias, você toma conhecimento do estado de saúde de um bebê de oito meses com deformidades faciais e que está com pneumonia pela terceira vez.

Pergunta-se:

- a. O que você responde ao médico quando ele pede sua opinião sobre o sistema imunológico daquela criança, posto que se trata de um bebê HIV negativo?
- b. O que você aconselharia o médico a fazer?

RESPOSTA COMENTADA

a. Como o bebê é HIV negativo, a sua baixa imunidade pode ser ocasionada por um possível quadro severo da síndrome de DiGeorge.

b. Sendo assim, você pode aconselhar o médico a pedir um estudo genético da criança para detectar possíveis anomalias cromossômicas características da síndrome de DiGeorge. Ao realizar esta atividade, você estará atendendo ao segundo objetivo desta aula.

RESUMO

A ontogenia e a maturação dos linfócitos T e B se constituem em processos biológicos, chave para o estabelecimento da geração de diversidade de anticorpos e TCRs e, ao mesmo tempo, para o estabelecimento da tolerância ao próprio (*self-tolerance*). Os conhecimentos nesse campo avançaram muito em função das observações que foram possíveis de serem feitas a partir de animais transgênicos ou de animais e humanos que apresentam deficiências genéticas naturais que repercutem na resposta imune mediada por células T e ou B (resposta imune adaptativa). No entanto, muitas pesquisas nessa área do conhecimento ainda estão por serem feitas e o seu sucesso certamente auxiliará no manejo de doenças que são ocasionadas por defeitos na imunidade adaptativa.

INFORMAÇÕES SOBRE AS PRÓXIMAS AULAS

Nas próximas aulas, estudaremos com maiores detalhes a ativação dos linfócitos B e T. Você verá como são sofisticados os processos que se passam nas células B e T durante a sua ativação na resposta imune. Aguarde!

Ativação de linfócitos T

AULA 13

Meta da aula

Apresentar os mecanismos que compõem as bases moleculares de estimulação de linfócitos T.

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- reconhecer o papel de elementos moleculares importantes no processo de ativação dos linfócitos T;
- descrever os principais eventos de sinalização intracelular, decorrentes da ativação dos linfócitos T por antígenos.

Pré-requisitos

Para melhor acompanhar esta aula, você precisa ter estudado as Aulas 11 e 12 de Imunologia.

INTRODUÇÃO

Como você já viu na Aula 12, a capacidade de reconhecimento de antígenos por parte dos linfócitos T *naive* marca o seu estágio de maturação plena. A partir desse estágio, as células T que reconhecerem antígenos podem se tornar células efetoras (que vão atuar na resposta imune em curso) ou podem se tornar células T de memória. O perfil de atuação das células T vai depender se estas células expressam o TCR do tipo $\gamma\delta$ ou $\alpha\beta$ e nessas últimas se expressam CD4 (T helper) ou CD8 (T citotóxicas). Quando antígenos ganham o interior do organismo, eles podem ser transportados para órgãos linfóides, onde são processados pelas APCs que os expressam na sua membrana celular no contexto de moléculas de MHC classe I ou classe II. No linfonodo, o encontro dessas APCs (expressando os antígenos em questão) com as células T capazes de reconhecê-los leva à proliferação de clones de células T. Você já sabe que esse processo é denominado expansão clonal. A partir da expansão clonal vai haver a geração de células T efetoras ou de memória. As células T efetoras ganham a circulação sanguínea, localizam os antígenos, reconhecem-nos novamente e realizam suas funções. Por exemplo, as células T CD4 secretam citocinas que vão ativar outras células, como os macrófagos, a exercerem suas funções microbidas, e as células T CD8 a exercerem suas funções citolíticas. Antes de iniciarmos o estudo dos mecanismos que compõem as bases moleculares de estimulação de linfócitos T propriamente dita, chamamos a sua atenção para o fato de que podemos comparar os processos de ativação de linfócitos com os processos de comunicação de uma maneira genérica. Ao compará-los temos a expectativa de proporcionar sua melhor compreensão.

A ATIVAÇÃO/ESTIMULAÇÃO DE LINFÓCITOS NA PERSPECTIVA DOS PROCESSOS GLOBAIS DE COMUNICAÇÃO

Vamos falar da importância da comunicação nos processos de “ativação”, isto é, “estimulação”. Assim, por exemplo, se você quiser “ativar” (no sentido de estimular) uma pessoa ou várias pessoas a fazerem alguma coisa, e estas pessoas nem estão pensando sobre o assunto, o que você faz? Tenta convencê-las, certo? Como? Através da comunicação. Então, você pode ir até essas pessoas e falar com elas, ou pode telefonar, pode enviar um bilhete ou um e-mail, colocar uma faixa na porta da casa delas, pedir à rádio da sua cidade para enviar o recado. Enfim, são tantas as possibilidades, não é mesmo? Para que sua comunicação seja eficiente, é fundamental que o tempo disponível e a clareza e adequação

da mensagem sejam suficientes para seu entendimento. Assim, algumas mensagens são universalmente entendidas, por jovens, por adultos, por pessoas mais simples ou sofisticadas, mas outras não, são exclusivas para determinados públicos. Por exemplo, se sua mensagem é para convencer as pessoas a aplicarem seu dinheiro na Bolsa de Valores, ela certamente não interessará a todo mundo nem será compreendida por todos. Por outro lado, se você disser: “O Papai Noel está agora na praça principal da cidade esperando por você, vá até ele e ganhe seu presente”, todas as pessoas vão compreender, mesmo se não souberem onde fica a praça principal, e se quiserem ir descobrirão onde ela fica.

O princípio básico das relações entre as células do nosso corpo é o da comunicação. Isso é muito claro, quando pensamos no sistema nervoso, pois é por meio de nossas sensações que nos informamos e, em última instância, nos comunicamos. Mas a comunicação não é tão clara quando falamos de outros sistemas. Por exemplo, quando você se alimenta, não sabe (não tem consciência) do nível de detalhamento dos processos digestivos. A mesma coisa se passa com o sistema imune. Você não tem consciência (não sente nem vê) das relações celulares que se passam durante a resposta imune. No entanto, o funcionamento de qualquer sistema biológico pressupõe comunicação entre seus componentes.

O estudo dos componentes que atuam no processo de comunicação entre os elementos do sistema imune é muito importante. Por quê, você pode estar se perguntando. Isso ocorre porque a partir do conhecimento dos processos de comunicação entre as células e componentes do sistema imune poderemos, no futuro, proporcionar intervenção no sistema a nosso favor e de forma racional (planejada), quando for preciso. Um exemplo deste tipo de situação pode ser ilustrado com o esquema de tratamento de pessoas que sofrem transplantes de órgãos. Para que não haja rejeição, é necessário atuar com medicação sobre elementos do sistema no sentido de bloquear a seguinte comunicação entre seus elementos: “Existe um corpo estranho ao sistema que deve ser eliminado.” O sistema “não sabe” que, naquele caso, o “corpo estranho” é bom e vai salvar o organismo, não é mesmo? Mas o sistema “sabe” que “deve” reagir ao que é estranho a si próprio para manter a autopreservação, como você já viu na Aula 2.

Então, naturalmente, ele reage tentando eliminar o transplante. Cabe aos cientistas investigar os processos biológicos para tentar interferir nos mesmos, visando ao bem e à sobrevivência da humanidade.

Vamos, então, conhecer alguns elementos importantes no processo de ativação dos linfócitos T e B, lembrando que eles não são nada mais nada menos do que integrantes de processos de comunicação entre células. São componentes que atuam fora e dentro da célula e que vão “passar mensagens” para esses linfócitos, os quais, por sua vez “compreenderão totalmente, parcialmente, ou não compreenderão”. Lembre-se, esse é um processo de comunicação!

ASPECTOS GERAIS DOS PROCESSOS DE ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T E B

Na Aula 12, você viu que, no percurso de amadurecimento dos linfócitos T e B, essas células tornam-se competentes para responderem aos estímulos antigênicos. A ativação dessas células envolve o **AGRUPAMENTO OU CLUSTERING** dos elementos que compõem os chamados complexos receptores das células T, os já conhecidos complexos TCRs.

O AGRUPAMENTO

OU CLUSTERING

(do inglês que significa “agrupamento” e é amplamente utilizada em Imunologia) é o processo de aproximação física de proteínas (que podem ou não ser receptores, sendo que algumas dessas proteínas são enzimas), presentes na membrana celular durante eventos biológicos de ativação e regulação na célula. O *clustering* é a etapa inicial que tanto pode levar à ativação quanto à regulação da ativação celular. Ele pode ser visualizado através de microscopia de fluorescência como um ponto ou pontos de fluorescência na superfície da célula quando se usa anticorpos fluoresceinados para revelar os componentes protéicos do *clustering*.



Não se esqueça de que o complexo TCR é constituído pelo TCR propriamente dito (formado pelas cadeias $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$), pela molécula CD3 e pelas cadeias ζ ; e o complexo BCR é formado pela molécula de imunoglobulina na superfície da célula e pelas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Lembramos também que nem o TCR $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$ nem a molécula de imunoglobulina são dotados de segmentos intracitoplasmáticos capazes de transduzir sinais. A transdução de sinais resultante do reconhecimento antigênico pelo TCR na membrana da célula T é feita pelo CD3 e cadeias ζ , e a transdução de sinais resultantes do reconhecimento antigênico pela molécula de anticorpo na membrana do linfócito B é feita pelas $Ig\alpha$ e $Ig\beta$.

O *clustering* do complexo TCR irá aproximar proteínas anteriormente distantes fisicamente. Da interação entre essas proteínas, agora fisicamente próximas, vão se iniciar os processos de ativação ou regulação da ativação das células. Esses processos levam à ativação de reações em cadeia chamadas “cascatas”. Os elementos que compõem essas cascatas são intensamente investigados. Muitos deles já foram desvendados e compõem o que chamamos “vias (em inglês *pathways*) de transdução de sinais”. À transdução de sinais segue-se a transcrição de

genes. Os genes transcritos irão marcar a resposta da célula ao processo de ativação. Essa resposta pode ser a secreção de uma dada citocina pelo linfócito T, ou a produção de anticorpos pelo linfócito B. Você saberá mais detalhes sobre esses processos nesta aula e na próxima.

O *clustering* de proteínas, na membrana celular, pode ser comparado ao ato inicial da comunicação, no processo de comunicação entre pessoas (exemplo: as palavras proferidas, ou um gesto a ser visto). A transdução de sinais pode ser comparada à compreensão da informação (ouvida ou vista) e a transcrição gênica (produção de citocinas ou anticorpos) pode ser comparada à resposta informação, por exemplo “sair correndo” caso a mensagem seja “Incêndio! Deixem esse recinto agora!”.

Tanto na ativação dos linfócitos T quanto na ativação dos linfócitos B, observamos que são necessários dois tipos de sinais. O primeiro sinal é dado por reconhecimento dos antígenos pelos receptores antigênicos (TCR ou BCR), e o segundo sinal é dado por moléculas presentes na superfície dos linfócitos, que aumentam a intensidade da ativação dos linfócitos T ou B, que estudaremos a seguir de maneira detalhada.

Dois tipos de enzimas que adicionam e removem grupos fosfatos de resíduos de aminoácidos estarão atuando, para que ocorra a sinalização intracelular. Isto porque a sinalização ocorre mediante a dinâmica de fosforilação e desfosforilação de resíduos de aminoácidos de proteínas na membrana e no citoplasma da célula. Os dois tipos de enzimas são: as quinases (que adicionam grupos fosfatos em resíduos de tirosina, ou serina e treonina e são abreviadas como PTKs) e as fosfatases (que removem grupos fosfatos de resíduos fosforilados de aminoácidos, e são abreviadas como PTPs).

Observe a **Figura 13.1**; ela mostra o esquema bastante simplificado da ativação celular proporcionado pelo primeiro sinal (antígeno) e pelo segundo sinal tanto em linfócitos T (parte A da figura) quanto em linfócitos B (parte B da figura). Observe que os ITAMs (retângulos) de componentes dos TCRs e BCRs, bem como os ITAMs de moléculas que medeiam o segundo sinal, contêm resíduos fosfatados (P). Tanto o primeiro quanto o segundo sinal convergirão para a ativação das células.

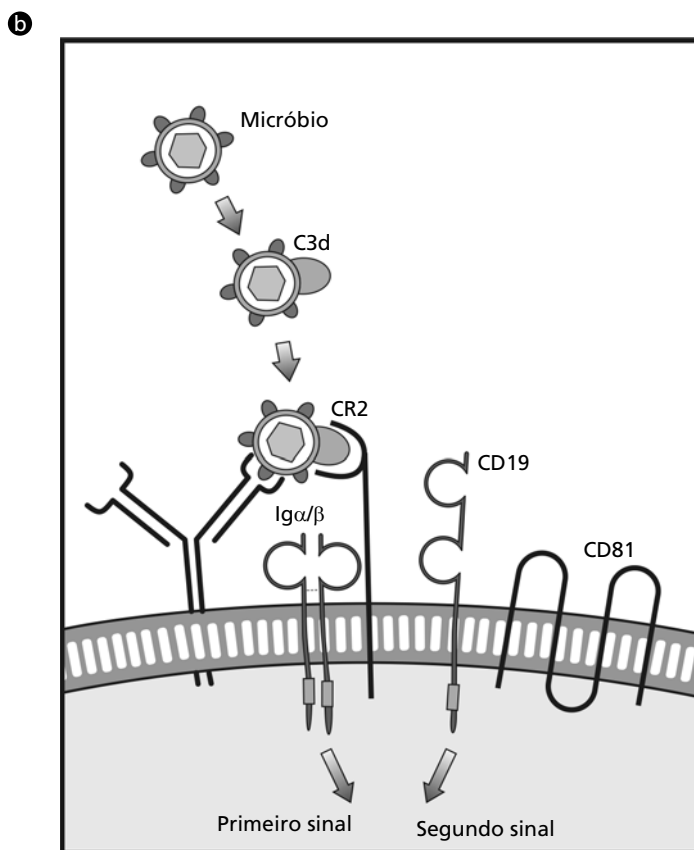
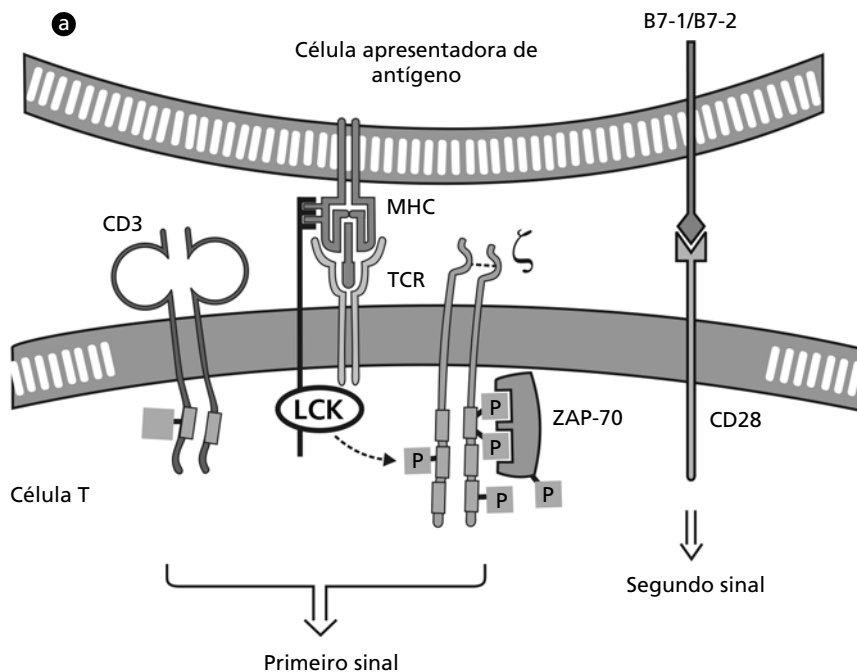


Figura 13.1: Convergência para a ativação de linfócitos T (parte A) e B (parte B) por meio do primeiro e do segundo sinal.

AS BASES MOLECULARES DA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Os elementos fundamentais para a geração de linfócitos T efetores e de memória são:

- 1- as proteínas do complexo TCR (CD3, cadeias ζ e o TCR $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$), envolvidas no primeiro sinal de ativação;
- 2- outras moléculas envolvidas no segundo sinal de ativação, dentre elas as moléculas **CO-ESTIMULADORAS**, como você verá a seguir.

Na ausência do co-estímulo, as células T, cujos TCRs reconhecem antígenos apresentados por APCs, falharão em responder ao estímulo antigênico. Essas células T, se privadas do co-estímulo, ou morrem por apoptose, ou entram em estado de anergia. Neste último caso, as células não responderão mais aos antígenos para os quais seus TCRs são específicos, quando novamente em contato com APCs. A anergia explica em parte o estado de tolerância (ausência de resposta) que pode ser desenvolvido contra antígenos em determinadas situações.

Observemos o **Quadro 13.1**. Ele nos mostra que, além do complexo TCR, existem outras moléculas que estão na superfície dos linfócitos T e são importantes no processo de ativação e na regulação da ativação dos mesmos. Dentre essas moléculas estão as co-estimuladoras.

As **MOLÉCULAS CO-ESTIMULADORAS** proporcionam o segundo sinal que é necessário para a ativação dos linfócitos T. Essas moléculas estão expressas na superfície das células apresentadoras de antígenos (APCs) e interagem com seus contra-receptores na superfície dos linfócitos T. Essa interação, em conjunto com aquela resultante do primeiro sinal, leva ao estímulo do linfócito T.

Quadro 13.1: Algumas das principais moléculas envolvidas nos processos de ativação e regulação da ativação dos linfócitos T

Molécula na superfície do linfócito T	Função	Características	Contraligante na superfície da APC
CD40L (ligante de CD40 ou (CD154)	Regula (aumentando) a expressão de B7-1 e B7-2	Proteína heterodimérica de 32 kD pertencente à família dos receptores de TNF-alfa	CD40
CD4	Sinalização intracelular e adesão entre APC e linfócito T	Proteína heterodimérica composta por duas cadeias alfa 55kD da superfamília das imunoglobulinas	Região não-polimórfica do MHC classe II
CD8	Sinalização intracelular e adesão entre APC e linfócito T	Proteína que pode se expressar na forma homodimérica (duas cadeias alfa de 34kD) ou heterodimérica (uma cadeia alfa e uma beta também de 34kD)	Região não-polimórfica do MHC classe I

CD28	Sinalização intracelular para ativação	Proteína homodimérica de 44 kD pertencente à família das imunoglobulinas	B7-1 (CD80) B7-2(CD86)
CD2	Sinalização intracelular e adesão entre APC e linfócito T	Proteína de 50 kD pertencente à família das imunoglobulinas	LFA-3
CTLA-4 (<i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4</i>) (CD152)	Sinalização intracelular para inibição da ativação ocasionada por CD28-B7-1 ou CD28-B7-2	Proteína da superfamília das imunoglobulinas (33 e 50 kD)	B7-1 (CD80) B7-2(CD86)

Obs.: • veremos sobre esta família de receptores T NF - alfa na aula de Citocinas (Aula 15).

- a proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico (CD8), apesar desse nome, está presente em linfócito T helper (CD4) também.

!

A interação entre moléculas co-estimuladoras na superfície das APCs e na superfície dos linfócitos T vai depender da expressão dessas moléculas em ambos os tipos celulares. Algumas dessas moléculas são constitutivas e outras são indutíveis, esteja atento(a) a isso. Por exemplo, CD28 é constitutivo em células T *naive*, já a molécula ICOS (do inglês *inducible costimulator*) também envolvida na co-estimulação, como o próprio nome diz, será expressa na superfície de linfócitos T efetores após estímulo antigênico. As moléculas B7 serão expressas em APCs após estímulo antigênico, isto é, elas não são expressas de forma constitutiva nas APCs.

A afinidade de ligação dos peptídeos apresentados pelo MHC ao TCR é baixa (da ordem de 10^{-5} a 10^{-6}). Estima-se que a interação entre uma molécula de TCR com um peptídeo na molécula de MHC dure cerca de apenas dez segundos. Em geral, uma APC exhibe entre 1.000 e 10.000 moléculas de MHC portando peptídeos. Assim, uma APC pode interagir com o mesmo número de TCRs na membrana da célula T. Sabemos que o tempo é decisivo no processo de comunicação. Portanto, para que um linfócito T possa ser ativado, esse tempo mínimo (chamado limiar) deve ser alcançado. Não se sabe com precisão qual o tempo limiar para que a interação entre APC e linfócito T possa gerar a plena ativação. Entretanto, sabe-se que a incompleta sinalização pode gerar nenhuma ativação, ativação parcial, ou ainda inativação funcional.

A interação da célula T *naive* com o antígeno apresentado pela APC estimula a célula a entrar no ciclo de divisão celular (G0 a G1), culminando com a expressão do receptor da citocina IL-2 de alta afinidade (Como você verá na Aula 15) e na secreção de IL-2. A IL-2

ativa a célula a completar seu ciclo de proliferação e a se diferenciar em célula efetora ou de memória. Muitos genes são ativados sequencialmente seguindo o processo de interação da célula T com a APC. Eles podem ser agrupados em três categorias, de acordo com o tempo em que aparecem após o reconhecimento antigênico pelo TRC:

1. A primeira é a dos genes de *ativação imediata*, que se expressam cerca de 30 minutos após o reconhecimento antigênico e incluem os proto-oncogenes (falamos sobre oncogenes na Aula 12) chamados c-Fos, C-Myc e C-Jun, bem como os fatores de transcrição NF-AT (do inglês *Nuclear Factor AT*) e NF-k-B (do inglês *Nuclear Factor Kappa B*);

2. A segunda é a dos genes de expressão precoce, que são expressos cerca de 1 a 2 horas após o reconhecimento antigênico e incluem os genes que codificam para as citocinas (como, por exemplo, IL-2, IL-3, IL-6, IL-4, IFN-g, entre outras) e alguns receptores de citocinas;

3. A terceira categoria é a dos genes de expressão tardia, que são expressos mais de dois dias após o reconhecimento antigênico e codificam para várias moléculas de adesão como as VLAs (*Very Late activation Antigens*, sobre as quais falamos na Aula 5) VLA-4, VLA-1, VLA-3, VLA-2, VLA-5 bem como para CD2 e moléculas de MHC classe II.



Chamamos a sua atenção, em outra aula, para o fato de que denominamos *sinapse imunológica* a região física de contato entre APC e a célula T. Essa região é também chamada "cluster supramolecular de ativação", abreviada como SMAC, porque em inglês denomina-se "*supramolecular activation cluster*". O agrupamento molecular ou *clustering* que acontece na superfície do linfócito T e sobre o qual falamos há pouco acontece na região do SMAC. Podemos destacar nessa região uma zona central (cSMAC) e uma zona periférica (pSMAC). Na zona central (cSMAC) localizam-se o TCR, o CD3, as cadeias ζ , o CD4 ou CD8, as moléculas co-estimuladoras. Na zona periférica (pSMAC) localizam-se as integrinas (Aula 5), que estabilizam a ligação da célula T com a APC. Veja a **Figura 13.2**; ela ilustra a localização do cSMAC e pSMAC destacando seus componentes. A composição lipídica na região sináptica é diferente da composição do restante da célula, sendo rica em glicolípídeos e denominada "microdomínios enriquecidos por glicolípídeos". O reconhecimento antigênico é que leva à formação da sinapse, a qual envolve a mobilização de proteínas do citoesqueleto, permitindo a aproximação de moléculas anteriormente fisicamente distantes, na superfície das células. Observe com atenção a **Figura 13.2**, que ilustra esta dinâmica.

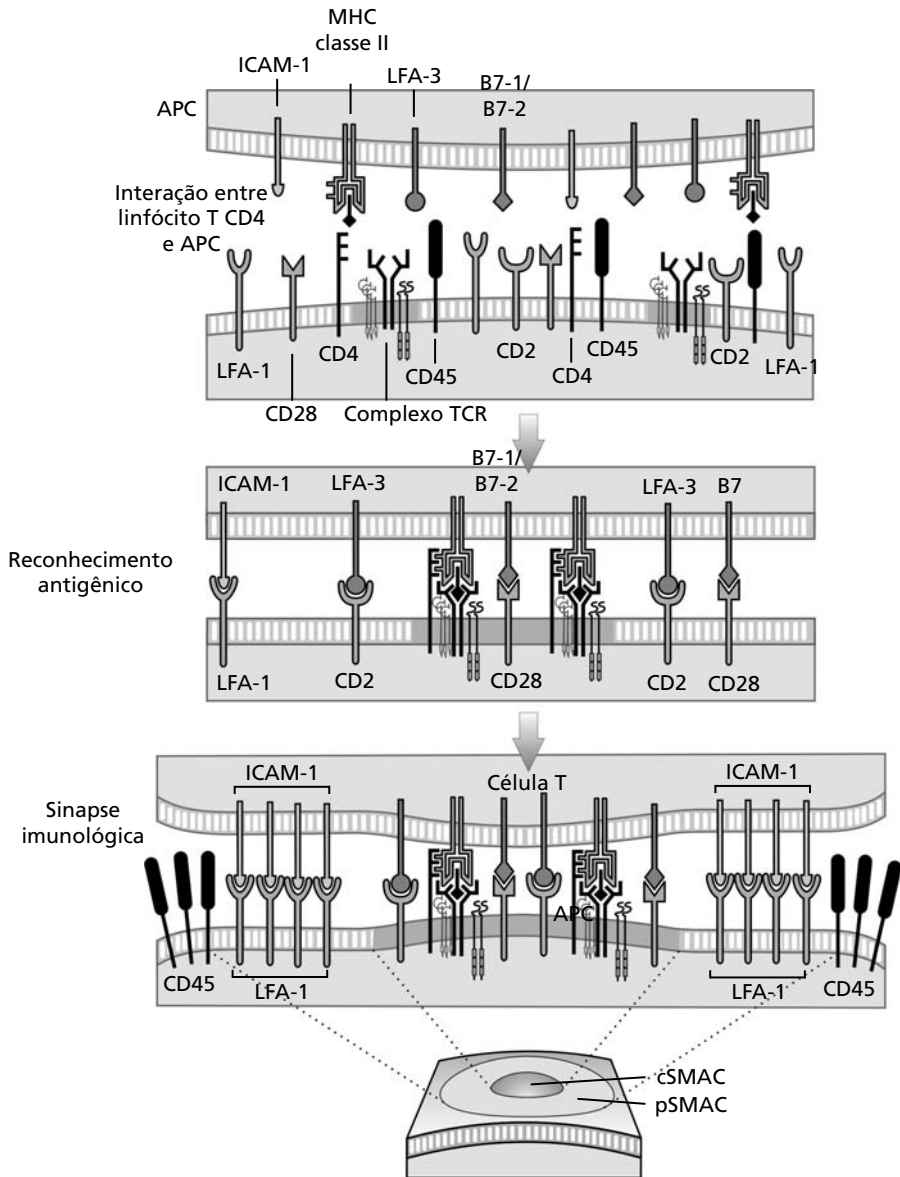


Figura 13.2: A formação de sinapse imunológica.

ATIVIDADE



1. Suponha que você esteja trabalhando em um posto avançado de pesquisas em Biologia Celular e Molecular do CEDERJ no interior do estado do Rio de Janeiro, e que tenha sido consultado por um colega médico para investigar, no laboratório, um defeito imunológico de uma criança que apresenta sinais de comprometimento das funções imunológicas (infecções pulmonares recorrentes por pneumococos) mas que não está infectado pelo HIV. O médico, que também é bem formado em Imunologia, já havia solicitado os percentuais de células T CD4 e CD8, constatando que

os mesmos estão em níveis normais. O laboratório onde você trabalha é sofisticado, possui citômetro de fluxo (Aula 4) seqüenciador de DNA; enfim, é um laboratório muito bem-equipado. Considerando o que você conhece até o momento sobre a ativação de linfócitos T, quais marcadores celulares você investigaria e em quais células, para tentar ajudar seu colega médico a descobrir a causa da imunodeficiência da criança? Ao resolver esta atividade, você estará cumprindo o primeiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Sabendo que os níveis de CD4 e CD8 estão normais, você poderia iniciar sua investigação olhando os marcadores de co-estímulo em células T (CD28, por exemplo, veja o boxe de atenção sobre moléculas co-estimuladoras). Se esse marcador estiver normal, você poderá investigar, nas APCs, os níveis de B7-1 (CD80) ou B7-2 (CD81). Mas atenção! Quando você for investigar receptores na superfície das células, lembre-se de que alguns devem ser induzidos para se expressarem. Assim, para investigar o B7-1 e B7-2, você deveria cultivar as células in vitro, estimular com antígenos de pneumococos e ver se eles se expressariam ou não. Se não se expressarem em resposta ao estímulo antigênico, então, provavelmente, existe um defeito na expressão de B7 em APCs que pode explicar o quadro de imunocomprometimento. Neste caso, você pode continuar sua investigação em nível genético para ver se descobre alguma mutação nos genes que codificam a molécula.

A TRANSDUÇÃO DE SINAIS PELO COMPLEXO RECEPTOR DA CÉLULA T: O PRIMEIRO SINAL

Comentamos que a estimulação de linfócitos requer dois tipos de sinais. A estimulação do linfócito pelo reconhecimento de antígenos apresentados por APCs se constitui no primeiro sinal. O TCR não possui atividade enzimática intrínseca e a transdução de sinais decorrente de sua interação com o antígeno vai depender da atuação de proteínas quinases associadas ao CD3 e às cadeias ζ . As proteínas quinases são enzimas que vão catalisar a fosforilação de resíduos de tirosina em diversos substratos. Quando o TCR se liga ao peptídeo no MHC da célula apresentadora de antígenos, as moléculas de CD4 (nos linfócitos T helper) ou CD8

(nos linfócitos T citotóxicos) se ligam, ao mesmo tempo, nas regiões não-polimórficas do MHC de classe II ou classe I respectivamente. Essa aproximação física, dos co-receptores CD4 ou CD8 ao complexo TCR (incluindo o CD3 e as cadeias ζ), se constitui no *clustering* que já mencionamos. O *clustering* proporcionará a aproximação da tirosina-quinase (**LCK**) presente na porção citoplasmática dos co-receptores (CD4 ou CD8), induzirá a fosforilação de resíduos de tirosina em ITAMs (como visto na Aula 12) do CD3 e cadeias ζ , levando à ativação de várias moléculas sinalizadoras que transduzirão os sinais de ativação. Uma outra tirosina quinase associada ao TCR é a **FYN** presente na porção citoplasmática do CD3 e que tem papel similar à Lck, sendo que ambas pertencem à **FAMÍLIA DAS TIROSINA-QUINASES SRC**. Veja, o **Quadro 13.2**, que mostra regiões de tirosina-quinases da família Src e as funções associadas à cada região. A **Figura 13.3** mostra o desenho esquemático da proteína Src.

A FAMÍLIA DE TIROSINA-QUINASES

Src agrupa nove proteínas tirosina-quinases: Yes, Fgr, Yrk, Fyn, Lyn, Hck, Lck e Blk incluindo a própria Src, que foi a primeira proteína produto de um proto-oncogene descrita. Essas proteínas atuam adicionando grupos fosfatos a resíduos de tirosina de proteínas (por isso são chamadas proteínas tirosina-quinases) e têm importante papel na transdução de sinais necessários para o desenvolvimento ou ativação de vários tipos celulares. Atuam ocasionando mudança conformacional na proteína onde adicionam grupos fosfatos aos resíduos de tirosina.

Quadro 13.2: Regiões de moléculas de tirosina-quinases da família Src e suas respectivas funções

Região	Função
Seqüência N-terminal (domínio SH4)	Ancora as proteínas à membrana celular
Domínio exclusivo	Função desconhecida
Domínio 3 de homologia com Src (SH3)	Liga-se a estruturas ricas em prolina
Domínio 2 de homologia com Src (SH2)	Liga-se a seqüências contendo resíduos de tirosina fosforilados
Domínio catalítico (CD)	Possui atividade enzimática dividida em dois lobos
Ligante CD-SH2	Liga-se intramolecularmente a SH3 associado com o CD
Alça de ativação	Participa na regulação e situa-se entre os dois lobos do CD
Porção C-terminal	Quando fosforilada, liga-se ao domínio SH2

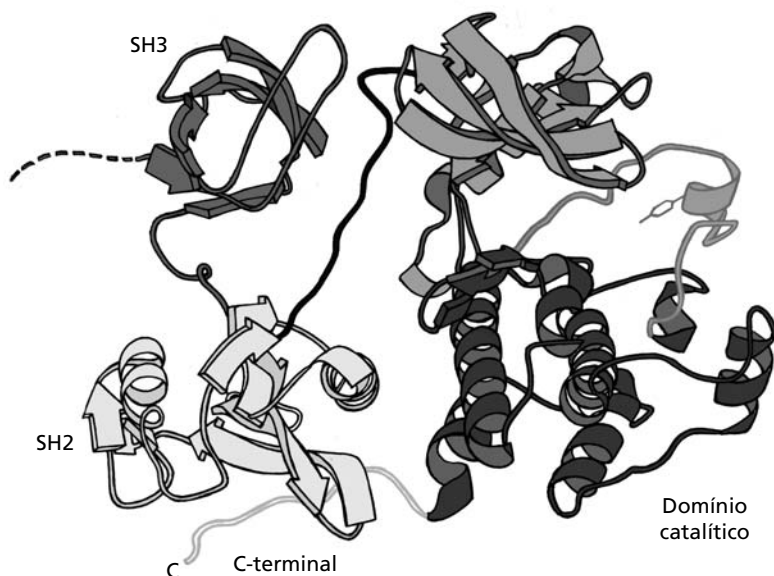


Figura 13.3: Desenho esquemático da proteína Src mostrando as regiões destacadas no Quadro 13.2.



Observe que as moléculas de tirosina-quinases da família Src possuem domínios catalíticos, abreviados aqui como CD, para facilitar sua indicação na **Figura 13.2**. Esteja atento(a), pois esta denominação não tem nada a ver com os *clusters of differentiation* (CDs) que temos visto ao logo deste curso.

Cada ITAM das cadeias ζ possui dois resíduos de tirosina que, ao se tornarem fosforilados, servem como “**DOCAS**” (do inglês *docking sites*) para uma outra tirosina-quinase denominada ZAP-70, a qual pertence à **FAMÍLIA SYK DE TIROSINA-QUINASES**.

A ZAP-70 ativada se autofosforila e exerce papel crítico na sustentação da cascata de sinalização resultante do reconhecimento de antígenos pelo TCR, que estamos descrevendo. A ZAP-70 ativada fosforila diversas proteínas que são chamadas adaptadoras (do inglês *adapter proteins*) para a ligação de moléculas de sinalização. Duas dessas proteínas adaptadoras são a LAT (abreviatura de *Linker of Activation of T cells*), que é uma proteína de membrana, e a SLP-76 (abreviatura de *SH2 domain-containing Leukocyte Protein of 76 kD*). Uma vez ativadas, essas proteínas adaptadoras servem de “docas” para muitas outras proteínas que estão envolvidas nas vias de sinalização, como você verá a seguir.

A palavra “**DOCA**” significa armazéns marítimos, o local, em portos, nos quais navios se abastecem. Ela é utilizada para ilustrar o fato de que moléculas se ligam a esses sítios da proteína, chamados “docas” e tornam-se fosforiladas. Comparativamente aos armazéns marítimos, elas são ali “abastecidas” de fosfato e “seguem seu caminho” logo após.

As tirosina-quinases membros da **FAMÍLIA SYK** contêm dois domínios de homologia SH2 (conforme descrito para as tirosina-quinases membros da família Src. Ver Quadro 13.2) que são adjacentes e multiplicam os sítios de autofosforilação. Essas tirosina-quinases são ativadas quando seus domínios SH2 se ligam a ITAMs fosforilados. Uma vez ativadas, regulam importantes vias nos processos de ativação dos linfócitos.

As proteínas adaptadoras recrutam as seguintes proteínas:

- *Ras* e *Rag*, ambas proteínas com atividade GTP (guanosina trifosfato) intrínseca, envolvidas em diferentes tipos de respostas de ativação celular, e que estão frouxamente ligadas à membrana plasmática através de lipídios.
- *Isoforma $\gamma 1$ da enzima fosfolipase C (PLC $\gamma 1$)*, que é uma enzima do citoplasma.

O recrutamento de Ras se faz por meio da proteína adaptadora denominada Grb-2, que recruta a proteína Sos, a qual vai catalisar a troca GDP por GTP na proteína Ras, originando a proteína Ras.GTP (que é a forma de Ras ligada à GTP). A proteína Vav é recrutada por adaptadores e vai catalisar a troca de GDP por GTP na proteína Rag gerando Rac.GTP. Ambas, Ras.GTP e Rac.GTP, ativarão respectivamente as quinases ERK e JNK componentes da via de sinalização MAP-quinases (*Mitogen-Activated Protein*). As MAP-quinases fosforiladas irão ativar o fator de transcrição AP-1 (*Activation Protein-1*).

O recrutamento de PLC $\gamma 1$ à membrana plasmática se faz pela ação de proteínas adaptadoras como a LAT. A enzima PLC $\gamma 1$ é fosforilada por ZAP-70, torna-se ativa e catalisa a hidrólise dos fosfolipídios de membrana fosfatidilinositol 4,5 difosfato (PIP₂), gerando inositol fosfato 1,4,5- trifosfato (IP₃) e Diacil glicerol. O IP₃ difunde-se através do citoplasma e do retículo endoplasmático, onde estimula a liberação de Ca²⁺, que estava estocado nas membranas do retículo endoplasmático. Com a elevação no nível de Ca²⁺ livre intracitoplasmático, proveniente do estoque intracelular e também da entrada de Ca²⁺ (que se dá em função do canal de cálcio que se abre), este se liga a uma proteína calciodependente chamada calmodulina. O complexo cálcio-calmodulina estimula diversas proteínas, dentre elas a calcineurina, que é importante para a ativação de fatores de transcrição. O DAG é hidrofóbico e permanece na membrana. Os níveis elevados de Ca²⁺ no citoplasma e a elevação do DAG causam a translocação de proteína quinase C (PKC) inativa do citosol para a membrana, onde é ativada por DAG. A PKC fosforila resíduos de serina e treonina em proteínas das células e está envolvida em diversos processos de transdução de sinais intracelulares.

Resumindo, as vias de transdução de sinal iniciam-se pela ligação de antígeno ao TCR estimulando quatro tipos de enzimas que estimulam vias de transdução de sinais, que são:

- 1- Ras, levando à ativação de ERK (uma MAP-quinase).
- 2- Rac, levando à ativação de JNK (uma MAP-quinase).
- 3- $PLC\gamma$ -1- Ca^{2+} levando à ativação de calcineurina (uma fosfatase do tipo serina-treonina).
- 4- $PLC\gamma$ -DAG levando à ativação de PKC (uma quinase do tipo serina-treonina).

Veja a **Figura 13.4**; ela mostra os componentes da transdução de sinais que ocorrem quando um linfócito T reconhece antígenos processados e apresentados pela APC. A zona de contato entre as membranas do linfócito T e da APC é chamada *sinapse imunológica*, em alusão à sinapse de neurônios, que é o local entre as membranas de dois neurônios onde um se conecta ao outro, sendo por onde passam os estímulos ou informações de um neurônio a outro.

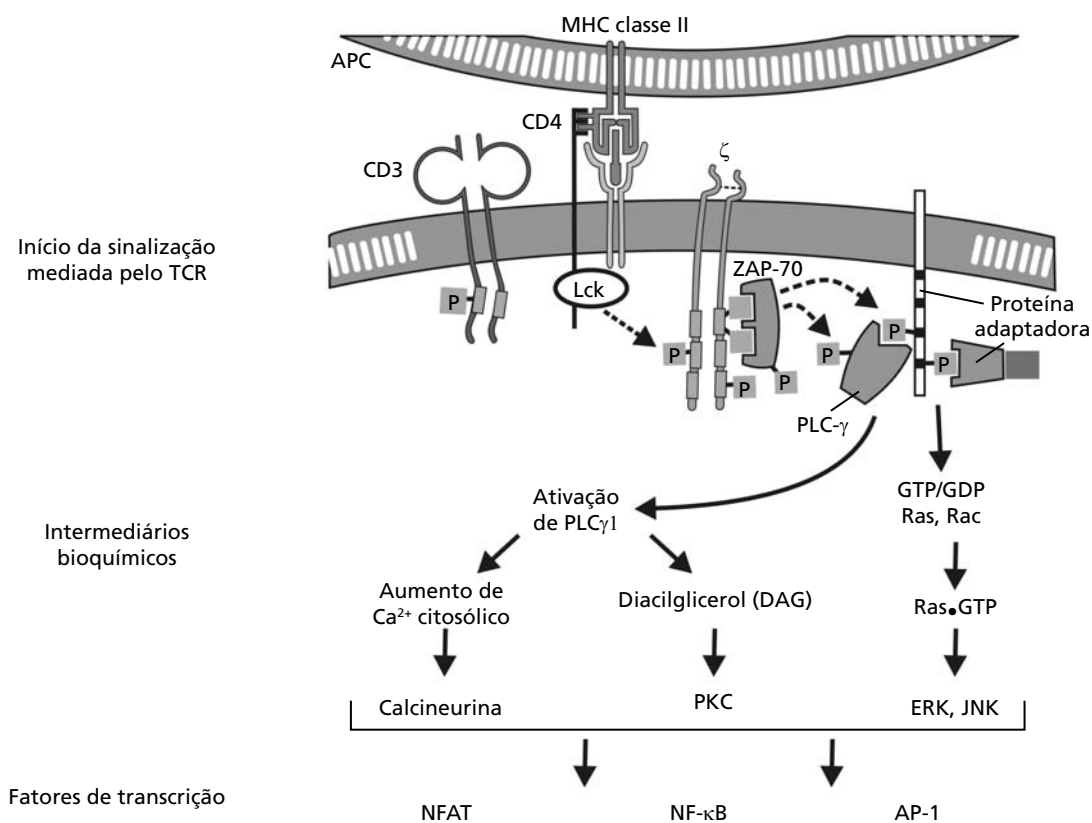


Figura 13.4: Transdução de sinais em linfócitos T.



A ZAP-70 é assim denominada porque é uma proteína de 70 kD que se associa às cadeias ζ . Tem papel central na ativação dos linfócitos T pois está envolvida em passos fundamentais do processo de ativação daqueles linfócitos. Existem relatos médicos de mutação no gene que codifica a proteína ZAP-70, que resultam em graves prejuízos à imunidade dos pacientes com a capacidade bastante reduzida de produzir IL-2 (interleucina-2) e interferon gama (IFN- γ) e também apresentam alteradas as proporções nos percentuais normais de linfócitos T CD4 e CD8. Alguns pacientes portadores dessa mutação apresentam percentual mais elevado de células T CD8 do que de células T CD4 (Aula 3), sendo esta a causa de sua imunodeficiência.



ATIVIDADE

2. Complete o texto a seguir, preenchendo os espaços em branco com palavras e/ou expressões que denominam os componentes envolvidos na transdução de sinais de ativação de células T, estimuladas com antígenos. Se você quiser, utilize a **Figura 13.4** para completar os espaços ou volte ao texto para memorizar a seqüência de eventos importantes. Ao realizar esta atividade, você estará cumprindo o segundo objetivo desta aula.

O TCR não possui atividade enzimática intrínseca, e a transdução de sinais decorrente de sua interação com o antígeno vai depender da atuação de proteínas quinases associadas ao _____ e às _____. Quando o TCR se liga ao peptídeo no MHC da célula apresentadora de antígenos, as moléculas de CD4 ou CD8 se ligam ao mesmo tempo no _____. O *clustering* proporcionará a aproximação da tirosina quinase (Lck) presente na porção citoplasmática dos co-receptores (CD4 ou CD8) e induzirá à fosforilação de _____ em _____ do CD3 e cadeias ζ , levando à ativação de várias moléculas sinalizadoras que transduzirão os sinais de ativação. Cada _____ das cadeias ζ possui dois resíduos de tirosina que ao se tornarem fosforilados funcionam como _____ para uma outra tirosina-quinase denominada _____, que ativada se autofosforila e também a diversas proteínas que são chamadas de adaptadoras que quando ativadas servem de _____ para muitas outras proteínas que estão envolvidas nas vias de sinalização. As proteínas adaptadoras recrutam as proteínas _____, que possuem atividade GTP (guanosina trifosfato) intrínseca e a _____, que é uma enzima do citoplasma. As proteínas _____ ativarão respectivamente as quinases ERK e JNK componentes da via de sinalização _____ que, quando fosforiladas, irão ativar o fator de transcrição _____. A fosfolipase _____ é fosforilada por ZAP-70, torna-se ativa e catalisa a hidrólise dos fosfolipídios de membrana, gerando _____ e _____. O _____ estimula a liberação de Ca^{2+} estocado nas membranas do retículo endoplasmático, e este se liga a uma proteína cálcio-dependente chamada _____. O complexo _____ estimula diversas proteínas, dentre elas a calcineurina, que

é importante para a ativação de fatores de transcrição. Os níveis elevados de Ca^{2+} no citoplasma causam a translocação de proteína quinase C (PKC) inativa do citosol para a membrana onde é ativada por _____.

A PKC fosforila resíduos de serina e treonina em proteínas das células e está envolvida em diversos processos de transdução de sinais intracelulares.

RESPOSTA COMENTADA

Se a seqüência das palavras ou expressões for a seguinte, você acertou. Caso contrário, volte ao texto e à figura para tentar responder corretamente.

1) CD3; 2) cadeias ζ ; 3) MHC de classe II ou classe I; 4) resíduos de tirosina; 5) ITAMs; 6) ITAM; 7) docas; 8) ZAP- 70; 9) docas; 10) Ras e Rac; 11) Isoforma $\gamma 1$ da enzima fosfolipase C (PLC $\gamma 1$); 12) Ras.GTP e Rac.GTP; 13) MAP quinases; 14) AP-1; 15) C $\gamma 1$; 16) IP 3 e DAG; 17) DAG; 18) IP 3; 19) cálcio-calmodulina; 20) DAG.

A ATIVAÇÃO DE FATORES DE TRANSCRIÇÃO QUE REGULAM A EXPRESSÃO GÊNICA EM LINFÓCITOS T

Pelo menos três fatores de transcrição são ativados nas células T após a mesma reconhecer antígenos. São eles, NFAT (*Nuclear Factor of Activated T cells*), AP-1 (*Activator Protein-1*) e NF- κ B (*Nuclear factor kB*). Os fatores de transcrição são proteínas ou complexos moleculares compostos por mais de uma proteína, que se ligam a regiões reguladoras de genes afetando a iniciação da transcrição, sendo assim importantes em controlar ou auxiliar a expressão gênica.

O NFAT é um dos fatores requeridos para a expressão de IL-2, IL-4 e outras citocinas. A denominação NFAT é genérica e agrupa diferentes fatores como, por exemplo, o NFATp e o NFATc, que são encontrados em células T. A ativação do NFAT acontece no citoplasma (onde ele se encontra de forma inativa) e depende da atuação da fosfatase calcineurina que irá desfosforilar o NFAT, e com isso o mesmo será translocado (se moverá) ao núcleo. No núcleo, o NFAT se liga a seqüências de ligação *consensu* na região reguladora dos genes de IL-2 e IL-4, por exemplo, regulando a transcrição dessas citocinas.



Os estudos na área de regulação da transcrição de genes envolvidos na resposta imune avançaram pela necessidade de se produzir drogas capazes de bloquear a atividade dos linfócitos em pessoas transplantadas, visando à não-rejeição do transplante. A diminuição da produção de citocinas é uma das estratégias para se controlar a atividade dos linfócitos.

A estrutura denominada **ZÍPER DE LEUCINA** aparece em alguns fatores de transcrição que se apresentam na forma de dímeros (ex.: AP-1, CREB, Gcn4). São formadas por duas alfa-hélices, uma de cada monômero, que se mantêm juntas por causa das interações hidrofóbicas entre resíduos de leucinas, localizados um de cada lado das hélices.

O AP-1 é, na realidade, o nome de uma família de fatores de transcrição composta por dímeros que se ligam através de um domínio idêntico denominado **ZÍPER DE LEUCINA**. A AP-1 melhor caracterizada é aquela composta pelas proteínas *fos* e *jun* (ambas são produtos de proto-oncogenes). Veja a **Figura 13.5**; ela traz o desenho esquemático e detalhado do zíper de leucina de uma AP-1.

A formação de AP-1 depende de nova transcrição do gene *fos* e da fosforilação de *c-jun* (já existente). A transcrição de *fos* pode ser aumentada pela via ERK (MAP-quinase) e pela ação de PKC. A fosforilação de *c-jun* ocorre pela atuação de JNK (MAP-quinase). O AP-1 se associa a NFAT no núcleo seguindo o curso da ativação da transcrição de genes.

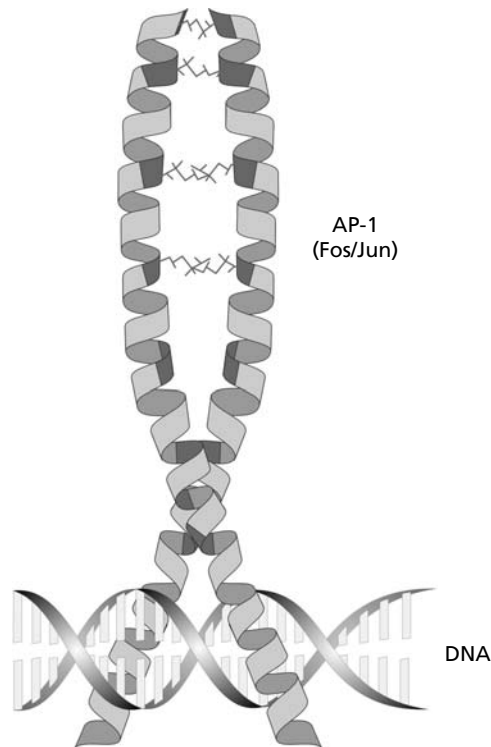


Figura 13.5: Desenho esquemático do fator de transcrição AP-1 (formado por cadeias das proteínas *fos* e *jun*), ressaltando a estrutura denominada *zíper de leucina*. Os resíduos de leucina estão destacados em cinza-escuro, dando o aspecto de zíper à estrutura.

O NF- κ B é um fator de transcrição presente em muitos tipos celulares, na célula T estimulada por antígenos. A atuação de NF- κ B é essencial para a síntese de citocinas. Ele se encontra na forma inativa no citoplasma associado a outras proteínas chamadas inibidoras de κ B (I- κ B). No processo de sinalização intracelular, decorrente do reconhecimento de antígenos pelo TCR, a I- κ B sofrerá fosforilação em resíduos de serina mediado por I- κ B quinases. Em seguida, múltiplas cópias da proteína chamada **UBIQUITINA** são adicionadas à I- κ B. Esse processo chamado *ubiquinização* de I- κ B faz com que o proteossoma (complexo multienzimático do citoplasma) degrade I- κ B. A degradação de I- κ B libera o NF- κ B que transloca para o núcleo onde atuará na transcrição de muitos genes.

Descrevemos quatro vias de sinalização intracelular, decorrentes da ativação do complexo TCR por antígenos apresentados pela APC. No entanto, essas vias parecem não ser independentes, pois sob estimulação por agentes farmacológicos uma via parece influenciar outras. O estudo das vias de sinalização é bastante dificultoso, pois muitas vezes a tentativa de produção de animais *gene knockout* para um elemento das vias de sinalização pode gerar letalidade. A **Figura 13.6** resume as vias de sinalização ressaltando a atuação dos fatores de transcrição:

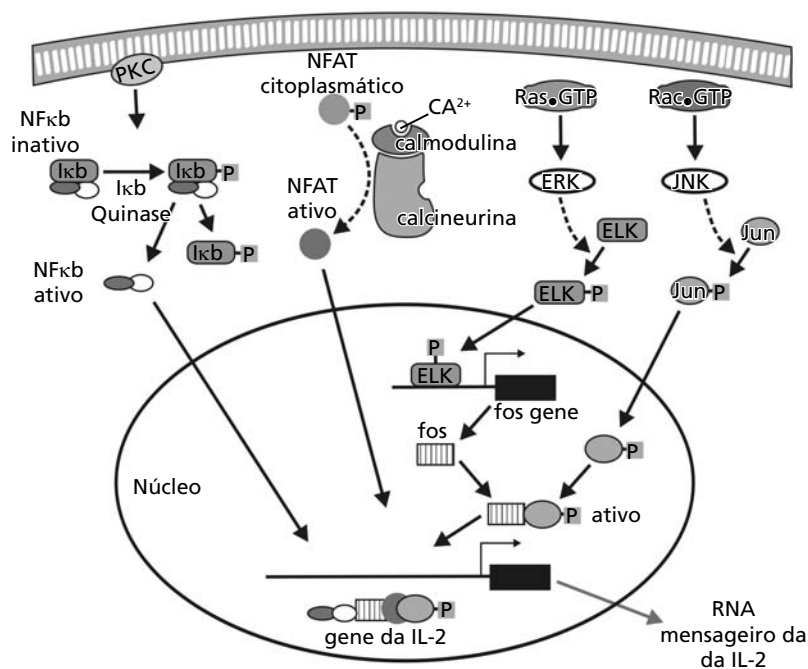


Figura 13.6: As vias de sinalização intracelular do linfócito T mostrando a atuação dos fatores de transcrição.

UBIQUITINA
 Proteína pequena de 76 aminoácidos cuja estrutura é altamente conservada entre eucariotos. Os procaríotos não a possuem. Existem apenas três aminoácidos diferentes entre a nossa ubiquitina e a de uma levedura!

COMO SERIA A TRANSDUÇÃO DE SINAIS DECORRENTES DA CO-ESTIMULAÇÃO DE LINFÓCITOS T?

Você deve estar se perguntando como seria a via de sinalização decorrente do segundo sinal, isto é, decorrente da interação entre CD28 na célula T e B7-1 ou B7-2 na APC. Puxa, será que vamos introduzir mais nomes de fatores, de quinases, de fosfatases etc.? Não! Acredita-se que as moléculas co-estimuladoras aumentam os níveis dos mesmos sinais de transcrição que acabamos de descrever. Ufa, não é mesmo? Mas nada exclui que ocorram vias distintas entre o primeiro e o segundo sinal de ativação mas que ainda não foram descritas.

O PAPEL DO CTLA-4 NO CONTROLE DA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Você se lembra de que no **Quadro 13.1** descrevemos uma molécula chamada CTLA-4? Pois bem, esta molécula se liga à B7-1 e à B7-2 e, portanto, compete com CD28 (que é co-estimuladora). No entanto, CTLA-4 inibe a ativação de linfócitos T, participando, provavelmente do controle de finalização da resposta. Mas como ficaria então? B7-1 ou B7-2 se ligariam em CD28 ou CTLA-4? Isso sugere que a cinética de aparecimento de ambas, CD28 e CTLA-4, é determinante para a ativação ou inibição do linfócito T. De fato, é o que parece ocorrer. Veja que interessante: em células naive a expressão de CD28 permite que ocorra a resposta primária ao antígeno. As células ativadas começam a expressar o CTLA-4 e, ao se ligarem a moléculas B7, podem desativar a resposta do linfócito T. Sabemos que o controle da resposta imune se faz necessário para evitar que se estabeleçam reações que coloquem em risco (de auto-reconhecimento) o próprio organismo, não é mesmo?

UM POUCO MAIS SOBRE A REGULAÇÃO DA ATIVAÇÃO DE LINFÓCITOS T

Comentamos, no início desta aula, que o processo de reconhecimento de antígenos por parte de linfócitos, apresentados por APCs, podia gerar ativação total ou parcial ou nenhuma ativação. Se mais uma vez comparamos o processo de ativação de linfócitos com o processo de comunicação em geral, o novo conceito que queremos introduzir ficará mais fácil.

Você se lembra da brincadeira do telefone sem fio? Você dizia uma coisa para o primeiro da fila e depois, no final dela, ia checar se o que você disse foi preservado ou foi alterado. Acreditamos que, em 99,9% das vezes em que fizemos essa brincadeira, a mensagem chegava diferente no último da fila, com variados graus de modificações, sendo que, algumas vezes, chegavam mensagens muito engraçadas de tão diferentes e sem sentido. Ao ser modificada, a mensagem ia perdendo aos poucos o sentido até ficar, muitas vezes, completamente sem sentido!

Podemos estabelecer um paralelo como este para falar da função dos peptídeos apresentados por APCs a um dado clone de linfócito T. Lembramos que os peptídeos reconhecidos pelas células T (tanto CD4 quanto CD8) são pequenos. Vamos simular que estamos fazendo um experimento controlando todas as condições que favoravelmente levarão à estimulação de linfócitos T *in vitro* (isto é, fora do organismo). Se estimularmos novamente, pela segunda vez, um linfócito T com uma APC apresentando o peptídeo nativo, isto é, o original que selecionou aquele linfócito T, teremos então a expansão daquele clone por proliferação em resposta ao estímulo antigênico, certo? Considere uma situação hipotética na qual, intencionalmente, modificamos a composição do peptídeo, passo a passo (trocando seus aminoácidos), de modo a produzir peptídeos cada vez mais diferentes do original até peptídeos completamente diferentes do original. O que poderá acontecer quando tentarmos estimular o mesmo clone de linfócito T com os peptídeos que modificamos? Acontecerá algo similar à brincadeira do telefone sem fio, isto é, os peptídeos serão capazes de estimular cada vez menos a proliferação do linfócito na medida em que se apresentarem mais modificados. Perguntamos: esta é uma situação totalmente fictícia? Respondemos: não. E ela pode existir de maneira fisiológica, patológica ou terapêutica (produzida). Chamamos APLs os peptídeos que apresentam alterados os resíduos de aminoácidos que fariam contato com o TCR (veja a Aula 11 se você tiver dúvidas sobre a ligação do antígeno ao TCR). A denominação vem da expressão em inglês *Altered Peptide Ligands* (APL). Fisiologicamente, a produção de APLs pelo próprio organismo pode ser uma das maneiras de o sistema imune controlar a resposta dos linfócitos T no curso de uma infecção cujo agente infeccioso já foi eliminado, por exemplo. Patologicamente, alguns patógenos, como vírus, podem produzir APLs e “enganar” o sistema imune escapando de

sua ação. De fato, parece que alguns isolados de HIV produzem APLs que inibem a atuação de linfócitos T citotóxicos. Finalmente, a produção de APLs pode ser com fins terapêuticos em favor da regulação da resposta imune de modo favorável ao paciente.

CONCLUSÃO

Chegamos ao final de mais uma aula de nossa disciplina cujo assunto é o que mais avança em termos da produção de novos conhecimentos em Imunologia. Procuramos destacar os pontos mais importantes para sua compreensão global do tema. Você verá, em livros textos e em *sites* atualizados de Imunologia, que as informações acerca deste assunto são bem mais detalhadas. Mas agora temos a certeza de que você será capaz de compreendê-las. Consulte o *site* <http://www.cellsignal.com/index.asp?cookie%5Ftest=1>, que pode ser também acessado pela página <http://www.antibodyresource.com/>, procurando em “*Cell signaling*” Technologies, e você terá uma visão de quão avançadas estão as pesquisas nessa área, não deixe de navegar por lá!

ATIVIDADE FINAL

Suponha a mesma situação da Atividade 1, isto é, você é consultado para investigar uma situação de imunodeficiência grave na qual o bebê apresenta HIV negativo mas com o percentual de células T CD8 muito acima do percentual de células T CD4. Mas, desta vez, o médico que lhe consulta não é bem formado em Imunologia e insiste que o teste de HIV deve ser repetido. Você explica para o médico que o teste de HIV com certeza é negativo, pois os pais do bebê são também HIV negativos. Você terá de dar ao médico uma explicação das possibilidades de investigação. O que você diria a ele? Ao resolver esta atividade, você estará cumprindo o primeiro e o segundo objetivos desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Você pode explicar a ele que muitos quadros clínicos de imunodeficiência em bebês podem ocorrer por causa de síndromes ou de mutações em genes envolvidos na resposta imune. Nesse caso,

considerando que o bebê apresenta a relação CD4 CD8 alterada, você investigará se o bebê apresenta deficiência na produção das citocinas IL-2 e IFN- γ . Caso presente, você irá investigar se o bebê apresenta mutação genética para a codificação de ZAP-70. Mostre a ele um quadro de sinalização celular em um bom site de Imunologia para que possa atualizar seus conhecimentos!

RESUMO

A estimulação dos linfócitos T é um dos eventos-chave para que a resposta imune adaptativa se estabeleça. As relações celulares que se passam durante este processo se pautam no princípio geral da comunicação. Conhecer os mecanismos bioquímicos que regem a estimulação das células T é estratégico para que estabeleçam condutas terapêuticas racionais. O conhecimento desses mecanismos moleculares evoluiu bastante nos últimos dez anos, sendo já possível colher alguns benefícios terapêuticos, como por exemplo, na área dos transplantes.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

A próxima aula será dedicada ao estudo da ativação dos linfócitos B. Você verá que existem grandes semelhanças nas bases moleculares de ativação de ambos: linfócitos T e B. No entanto, as peculiaridades da ativação dos linfócitos B são bastante interessantes. Aguarde.

SITES RECOMENDADOS

CELL Signaling Technology. Disponível em: <<http://www.cellsignal.com/index.asp?cookie%5Ftest=1>>. Acesso em: 16 set. 2005.

THE ANTIBODY Resource Page. Disponível em: <<http://www.antibodyresource.com/>>. Acesso em: 16 set. 2005.

Ativação de linfócitos B

Metas da aula

Apresentar os mecanismos que compõem as bases moleculares de estimulação de linfócitos B e destacar os locais onde se passam essas interações.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- listar as proteínas envolvidas no primeiro e no segundo sinal de ativação de linfócitos B e compará-las com aquelas envolvidas no processo de ativação dos linfócitos T;
- reconhecer a importância das células foliculares dendríticas na produção de anticorpos;
- descrever e aplicar o conceito de antígenos T dependentes e T independentes.

Pré-requisitos

Para melhor acompanhar esta aula, você precisa ter estudado as Aulas 3, 11, 12 e 13 de Imunologia.

INTRODUÇÃO

Você tem adquirido ao longo desta disciplina uma série de informações sobre os linfócitos B e os anticorpos. Nesta aula, você terá a oportunidade de ver os aspectos moleculares e os eventos celulares que são importantes na formação dos anticorpos e na proliferação dos linfócitos B em sítios específicos dos tecidos linfóides. Assim, acreditamos que, com esta aula, você terá a visão global de todos os processos celulares e moleculares que temos visto desde as nossas primeiras aulas e que, de certa forma, devem estar fragmentados no seu pensamento. Nesta aula teremos a oportunidade de juntar esse “quebra-cabeça”. Vamos lá!

A ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS B E A PRODUÇÃO DE ANTICORPOS: ASPECTOS GERAIS

A ativação de linfócitos B, que levará à produção de anticorpos, guarda algumas semelhanças com a ativação de linfócitos T. Vamos iniciar fazendo um resumo dos aspectos gerais da ativação dos linfócitos B, ressaltando algumas peculiaridades.

O reconhecimento de antígenos pelos linfócitos B não depende da apresentação dos mesmos à molécula de anticorpo na superfície do linfócito B por uma APC. Como você viu na Aula 6, os anticorpos reconhecem os antígenos na sua conformação nativa. Um aspecto peculiar ao reconhecimento de antígenos por parte de anticorpos diz respeito à natureza do antígeno. Se os antígenos são protéicos em geral, o seu reconhecimento na forma nativa acontecerá, porém haverá a necessidade da presença de células T helper (CD4). Esse tipo de antígeno é classificado como T dependente, como veremos em detalhes adiante. Se os antígenos não são protéicos (polissacarídeos e lipídeos, por exemplo), não haverá a necessidade da presença de células T para a estimulação dos linfócitos B e, portanto, esses antígenos são classificados como T independentes (antígenos TI). A resposta de linfócitos B a antígenos TI produz anticorpos da classe IgM e algumas subclasses de IgG, e em geral, são de mais baixa afinidade quando comparados com anticorpos produzidos por antígenos T dependentes.

A ativação de linfócitos B por antígenos levando à produção de anticorpos pode ser dividida nas seguintes fases:

1- Na fase de reconhecimento, quando ocorre a interação do antígeno com moléculas de IgM e IgD na superfície do linfócito B. Isso acontece nos

órgãos linfóides secundários. A partir deste reconhecimento os linfócitos são ativados.

2- Na fase de ativação, quando a célula B passa por processos semelhantes àqueles descritos para os linfócitos T e são levados a proliferarem.

3- Na fase de proliferação, quando ocorre a expansão dos clones de linfócitos B estimulados pelo antígeno. É nessa fase que os linfócitos iniciam sua diferenciação.

4- Na fase de diferenciação, quando os linfócitos B se diferenciam em células produtoras de anticorpos (plasmócitos) ou células B de memória.

A **Figura 14.1** ilustra o resumo dessas etapas sobre as quais falaremos em detalhes mais adiante:

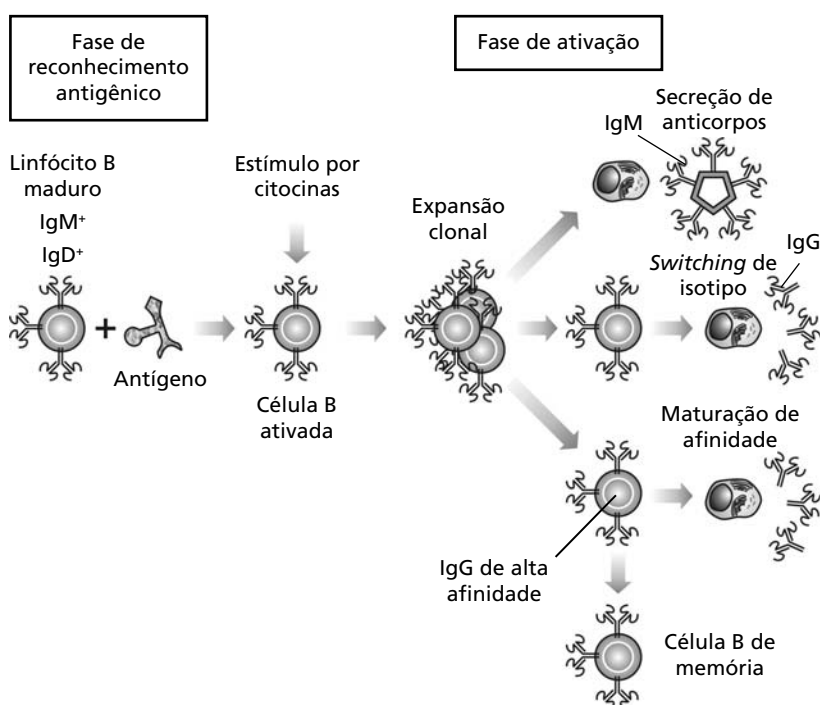


Figura 14.1: As fases da resposta imune humoral.

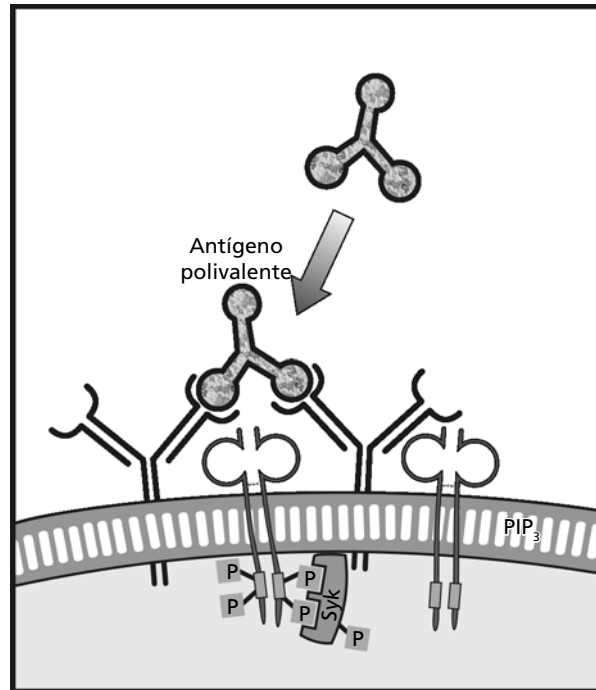


Figura 14.2: Figura esquemática demonstrando o *cross-linking* de Igs na superfície do linfócito B.

A ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS B PELO RECONHECIMENTO ANTIGÊNICO

Assim como ocorre nos linfócitos T, o *clustering* é fundamental para o início da ativação dos linfócitos B, e ele se inicia quando duas ou mais moléculas de Ig na superfície do linfócito B são trazidas juntas. O *clustering* na superfície do linfócito B acontece a partir do fenômeno que chamamos *cross-linking*, que se verifica quando duas ou mais moléculas de Ig anteriormente distantes fisicamente são aproximadas entre si na superfície do linfócito B, por exemplo, pelo reconhecimento de uma molécula de antígeno por duas ou mais Igs. Observe a **Figura 14.2** para visualizar o *cross-linking*. O termo *cross-linking*, que significa “ligação cruzada”, é amplamente utilizado sem tradução em Imunologia. O sinal será transduzido pelas moléculas de $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ que, juntamente com a molécula de imunoglobulina, formam o complexo receptor BCR. As ITAMs que compõem a porção citoplasmática da $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ são fosforiladas minutos após ocorrer o *cross-linking* de imunoglobulinas

na membrana. A fosforilação acontece provavelmente por ação de tirosina-quinases na família Src (Lyn, Blk e Fyn). A **TIROSINA-QUINASE Syk** (que equivale ao ZAP-70 nos linfócitos T) se liga, via seu domínio SH2 a resíduos fosfotirosina de Ig α e Ig β . Syk e, provavelmente, outras proteínas com atividade tirosina-quinases ativam muitas moléculas sinalizadoras, dentre elas o PLC γ -1, que atuará sobre os fosfolipídeos de membrana (PIP2) gerando IP3 e DAG. IP3 mobilizará Ca²⁺ de estoques intracelulares. A elevação de Ca²⁺ induzirá algumas isoformas de PKC a se translocarem para a membrana celular onde são ativadas por GAC PKC. A proteína Ras é também ativada e leva à ativação de MAP. Essa cascata de sinalização ativa fatores de transcrição (NF-kB) Fos, Myc, JunB, que induzem à expressão de genes cujos produtos são requeridos para ativação funcional de linfócitos B. Essa via de sinalização parece ser a mesma, independentemente de se a célula é naive (expressando IgM e IgD) ou se já sofreu o *switching* e expressa outro isotipo na superfície do linfócito B (por exemplo, IgG, IgA ou IgE). Essa via de sinalização descreve a ativação do “primeiro sinal”, isto é, o de reconhecimento do antígeno pela molécula de Ig na superfície do linfócito.



A tirosina-quinase Syk, assim como outras tirosinas-quinases, ativa muitas vias de sinalização que levarão à ativação dos linfócitos B. Essas quinases são reguladas por proteínas adaptadoras. A Syk é estratégica para a ativação dos linfócitos B e interage com a proteína adaptadora chamada SLP-65 (que tem 65 kD e cuja abreviatura se deve ao termo inglês *SH-2-binding leukocyte phosphoprotein*). A SLP-65 é também conhecida como BLNK (do inglês *B cell linker protein*). A SLP-65 (BLNK) serve como uma espécie de “andaime” para outras proteínas adaptadoras, como as que trocam nucleotídeos de guanina, e outras enzimas como a fosfolipase C, bem como algumas tirosina-quinases. O termo “andaime” é a tradução para o termo inglês *scaffold*, que é muito utilizado nos textos que descrevem a sinalização intracelular de linfócitos.

O SEGUNDO SINAL NA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS B

No processo de estimulação de linfócitos B ocorre também o “segundo sinal” de ativação que é mediado por proteínas receptoras de complemento. O CR2 é o receptor para C3d o qual é gerado pela proteólise de C3 (veja a Aula 7 sobre Complemento, se for preciso). O complexo CR2 é composto por três proteínas: o CR2 propriamente dito, o CD19 e o TAPA-1 (CD81). Esse complexo é chamado de co-receptor do linfócito B. Os processos de transdução de sinais são semelhantes àqueles vistos para a ativação via BCR (do reconhecimento antigênico propriamente dito). A participação do complemento na produção de anticorpos é muito importante, tanto que animais *knockout* para C3 (do Complemento) ou CD19, apresentam graves problemas na produção de anticorpos. Veja a **Figura 14.3**; ela resume as etapas da estimulação de linfócitos B.

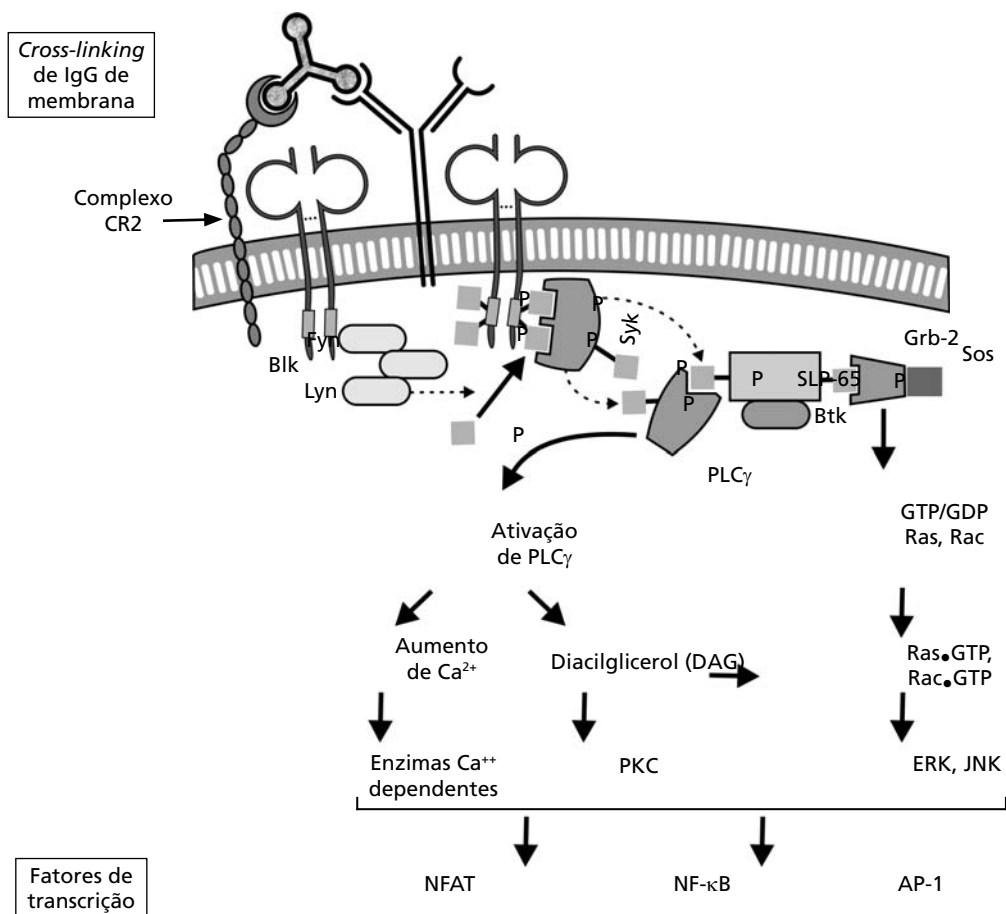


Figura 14.3: Etapas da estimulação de linfócitos B.



ATIVIDADE

1. Compare e correlacione:
 - a. Nos complexos receptores TCR (Aula 13) e BCR, as moléculas envolvidas no “primeiro sinal”.
 - b. Nos co-receptores, as moléculas envolvidas no “segundo sinal”.

RESPOSTA COMENTADA

a. No TCR são as moléculas de CD3 e cadeias ζ que transduzem o primeiro sinal e no BCR são as cadeias $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ que o fazem, quando as células T e B são estimuladas por antígenos.

b. Nos linfócitos T, são as moléculas de CD28 que, ao se ligarem a B7-1 ou B7-2 na APC, aumentarão a capacidade de resposta ao antígeno. Nos linfócitos B, é o complexo co-receptor CR2 (composto pelo CR2 propriamente dito, o CD19 e o CD81). O CR2, ao se ligar em C3d do complemento, dispara o segundo sinal de ativação do linfócito B quando este é estimulado por antígenos. Observe que, no caso do linfócito B, no segundo sinal, o antígeno participa “indiretamente” do processo (veja a **Figura 14.3** para entender melhor). O CR2 se liga ao C3d que está acoplado ao antígeno. Assim, o antígeno é uma espécie de “ponte” para estimular o CR2, isto é, o antígeno proporciona a interação entre C3d e o CR2, ele faz a “ponte” dessa interação. Ao realizar esta atividade, você estará atingindo o primeiro objetivo desta aula.

A COOPERAÇÃO ENTRE LINFÓCITOS T E B PARA A PRODUÇÃO DE ANTICORPOS

A importância da cooperação entre linfócitos B e T para a produção de anticorpos era conhecida pelos imunologistas já na década de 1960. Os linfócitos T helper ou auxiliares ($CD4^+$ MHC classe II restritos) participam da ativação dos linfócitos B no processo que leva à produção de anticorpos, por meio de estímulos provenientes da interação de moléculas (receptores e contra-receptores) na superfície de ambas as células, bem como à produção de citocinas pelas células T.

A probabilidade de encontrarmos um linfócito (B ou T) com uma imunoglobulina ou com um TCR de mesma especificidade, com outro linfócito B ou T respectivamente, é de cerca de um em cada dez mil

ou um milhão de linfócitos B ou T. Essa rara freqüência inviabilizaria a eficiência do sistema imune se os linfócitos não fossem capazes de circular por onde circulam. A dinâmica de circulação de linfócitos e a anatomia dos órgãos linfóides secundários, como você viu na Aula 3, proporcionam o encontro de antígenos e linfócitos.

No curso da resposta imune, cerca de 24 a 48 horas após a entrada do antígeno no organismo, observa-se que os linfócitos T naive reconhecem antígenos apresentados pelas APCs profissionais em zonas dos órgãos linfóides ricas em linfócitos T. Os linfócitos B reconhecem os antígenos nos folículos (se você tiver dúvidas, reveja a Aula 3) e, ativados, migram em direção a zonas ricas em linfócitos T. As interações T B ocorrem na região de interface entre os folículos e nas regiões ricas em linfócitos T.

Os linfócitos B reconhecem os antígenos na forma nativa, os internalizam, processam em vesículas endossomiais e os apresentam como peptídeos em moléculas de MHC classe II. Assim, os linfócitos B passam a apresentar antígenos às células T. Ao apresentar os antígenos processados ao linfócito T, os linfócitos B aumentam a expressão de B7-1 e B7-2 e ambos se ligam ao CD28 do linfócito T. Assim, os linfócitos T são ativados pelo primeiro sinal (reconhecimento antigênico) e pelo segundo sinal (interação entre moléculas co-estimuladoras CD28-B7-1-B7-2). Os linfócitos T helper que são estimulados pelo primeiro e segundo sinais passam, então, a expressar o ligante de CD40 (CD40L). Reveja o **Quadro 13.1**. O CD40L do linfócito T se liga ao CD40 do linfócito B (que o expressa constitutivamente), e esses linfócitos proliferam e se diferenciam. O CD40 é um membro da família de proteínas agrupadas como “receptores de TNF” (*Tumor Necrosis Factor*), que é uma citocina. Durante a interação célula T com célula B, a porção citoplasmática do CD40 se liga a uma proteína do citoplasma chamada TRAF (*TNF Receptor Associated Factor*). As TRAFs iniciam a cascata de sinalização intracelular que levarão à ativação dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1, e também ao aumento da expressão de mais moléculas B7 na superfície do linfócito B, proporcionando mais ativação. Veja a **Figura 14.4**, ela mostra os detalhes moleculares da cooperação entre a célula T e a célula B promovendo a produção de anticorpos.

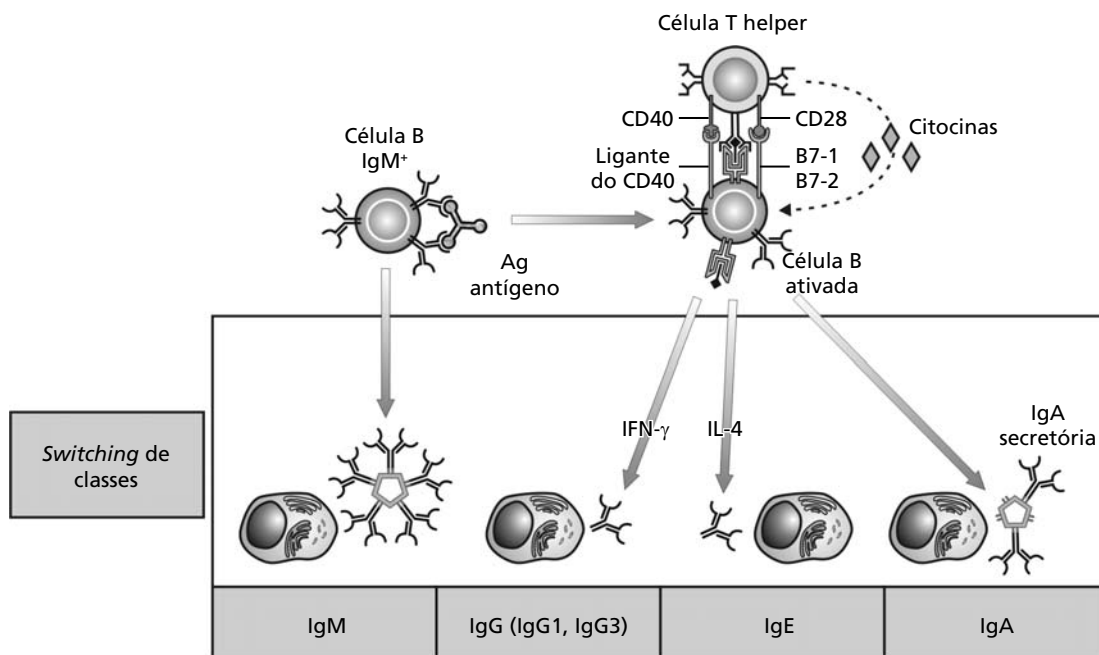


Figura 14.4: Detalhes moleculares da cooperação entre linfócitos T e B para a produção de anticorpos.



O vírus Epstein-Barr (EBV), que é um vírus de DNA, infecta linfócitos B causando a sua proliferação. A infecção de linfócitos B por EBV é associada ao desenvolvimento de linfomas. O vírus EBV produz uma proteína que se associa a TRAFs do citoplasma da célula B e, aparentemente, causa a proliferação dos linfócitos B (como acontece com a sinalização fisiológica do CD40).

A produção de citocinas por parte dos linfócitos T, durante a interação com os linfócitos B, é outro fator importante para proporcionar a estimulação dos linfócitos B que são expostos a elevadas concentrações de citocinas pelo seu contato direto com os linfócitos T. As citocinas são importantes para aumentar a capacidade de proliferação de linfócitos B que, ao serem estimulados, passam a expressar mais receptores para citocinas e também para induzir o *switching* de diferentes isotipos de cadeia pesadas, como você pôde ver na Aula 12. Observa-se que, em células B, estimuladas por determinadas citocinas, as regiões do DNA que codificam para as cadeias pesadas de Ig se rearranjam para produzir determinados isotipos de Ig. A **Figura 14.5** mostra a relação entre as citocinas que estimulam os linfócitos B e a produção de isotipos em resposta a esses estímulos:

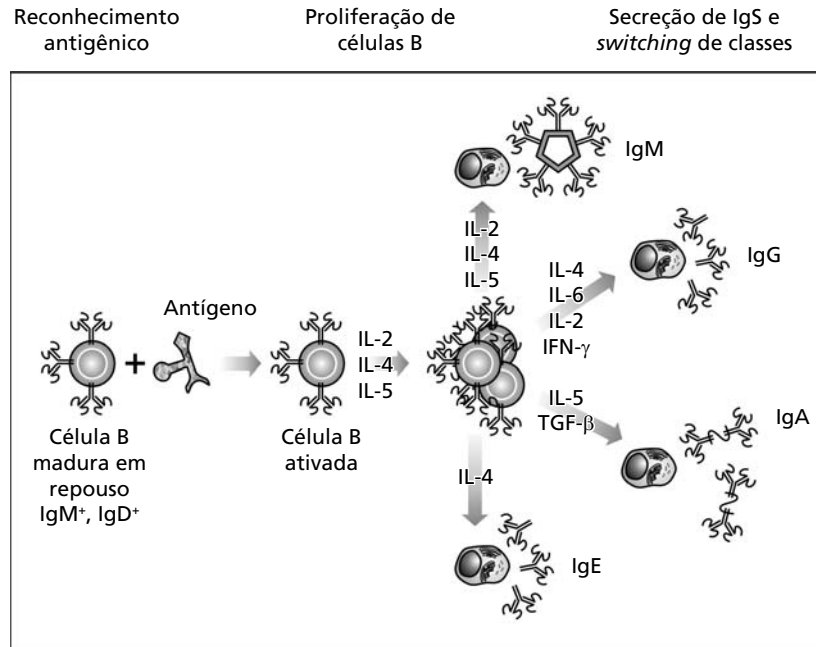


Figura 14.5: Produção de isotipos em função do estímulo por diferentes citocinas.

A DIFERENCIAÇÃO DE LINFÓCITOS B EM CÉLULAS PRODUTORAS DE ANTICORPOS E DE MEMÓRIA

A diferenciação dos linfócitos B, que reconhecem e apresentam antígenos em células que irão secretar grandes quantidades de anticorpos, depende da troca na maneira como se expressam as moléculas de imunoglobulinas, isto é, nos linfócitos B, as Igs se expressam na membrana e, por isso, possuem uma seqüência (transmembrana) de aminoácidos hidrofóbicos logo após o último domínio globulínico. Nas células secretoras de anticorpos, não há a seqüência transmembrana de aminoácidos hidrofóbicos logo após o último domínio globulínico. Essa troca na maneira como são expressas as imunoglobulinas de membrana para que possam ser secretadas reflete a eliminação da seqüência de nucleotídeos, no DNA da célula B que codifica para a seqüência transmembrana. Não se conhecem os sinais bioquímicos que regulam o *splicing* alternativo do RNA que elimina essa seqüência transmembrana. A secreção de imunoglobulinas é influenciada pela ação de citocinas, dentre elas a IL-2, a IL-4 e a IL-6.

Nos órgãos linfóides, as células secretoras de anticorpos são encontradas nos sítios extrafoliculares (nos sítios foliculares encontram-se os linfócitos B). Assim, essas células se localizam na polpa vermelha do baço e na região da medula dos linfonodos. Após cerca de duas a três semanas de estabelecida a resposta imune, a medula óssea passa a ser o principal local de residência das células produtoras de anticorpos. As células secretoras de anticorpos são morfológicamente distintas dos linfócitos B. Os plasmócitos são maiores e secretam abundantes quantidades de anticorpos. Embora os anticorpos circulem, as células secretoras de anticorpos raramente o fazem e têm vida curta.

Algumas das células B ativadas que não se desenvolvem em células secretoras de anticorpos se desenvolvem em células B de memória, que adquirem a capacidade de sobreviver por longos períodos de tempo, aparentemente sem a necessidade de estimulação antigênica. Permanecem quiescentes até que sejam novamente estimuladas pelo antígeno. A partir daí, proliferam rapidamente, caracterizando a maior rapidez da produção de anticorpos na resposta secundária. As células B de memória possuem anticorpos de isotipos diferentes (já sofreram *switching*) e com alta afinidade ao antígeno (já sofreram maturação de afinidade, conforme visto na Aula 12), em comparação com as células B naíve. Observa-se que as células B de memória podem recircular ou ficar nos órgãos linfóide secundários.

UM POUCO MAIS SOBRE A PRODUÇÃO DE ANTICORPOS DEPENDENTES DAS CÉLULAS T

Tanto a afinidade de maturação de anticorpos sobre a qual falamos na Aula 12 quanto a geração de células de memória se passam em localidades anatômicas chamadas *centros germinativos* dos folículos linfóides. Os centros germinativos se formam entre o quarto e o sétimo dia após a exposição dos linfócitos B aos antígenos no folículo. Alguns linfócitos B ativados migram para as regiões mais profundas do folículo e proliferam de maneira extraordinária, de modo que, em cinco dias, uma única célula B pode dar origem a uma progênie de 5.000 clones. Cada centro germinativo se origina a partir de um único ou de poucos linfócitos B com especificidade ao antígeno. O tamanho dos linfócitos nos centros germinativos é menor. A formação dos folículos linfóides depende

da presença de *células foliculares dendríticas* (como mencionamos na Aula 3). Não se sabe ao certo sobre a origem dessas células, que são encontradas apenas em folículos linfóides. Elas não expressam MHC classe II, mas expressam:

- receptores para componentes do complemento (CR1, CR2 e CR3);
- receptores para Fc de imunoglobulinas;
- CD40L.

Os longos prolongamentos citoplasmáticos dessas células formam uma rede em torno da qual se estabelecem os centros germinativos. A formação dos centros germinativos depende da presença de linfócitos T helper e da interação entre CD40 e CD40L, e, portanto, apenas antígenos T dependentes (protéicos) podem estimular a formação desses folículos. O papel das células foliculares dendríticas parece ser o de “munir” o folículo linfóide das maiores e melhores chances de “seqüestrar” antígenos para que os mesmos possam estar disponíveis para os linfócitos B, serem ativados. Por isso essas células possuem receptores para Fc de imunoglobulinas. A maturação de afinidade dos anticorpos acontece nos centros germinativos. Uma taxa alta de apoptose é observada nos centros germinativos pela seguinte razão: para que os linfócitos B que estão proliferando possam ser ativados, é necessário que eles sofram a estimulação do primeiro sinal, que é dado pelo reconhecimento do antígeno pela molécula de imunoglobulina. À medida que a resposta imune progride, os antígenos vão sendo naturalmente eliminados. A escassez de antígenos (porque estão sendo eliminados) faz com que “falem” antígenos nos centros germinativos. Essa falta irá favorecer a morte daqueles que não forem estimulados. Eles morrem por apoptose, por “negligência” de estímulo. Além disso, outro fato muito interessante, que é a maturação de afinidade, tem a propensão de ocorrer nesse ambiente de escassez de antígenos. A maturação de afinidade, na verdade, propicia que aqueles clones portando anticorpos com alta afinidade para antígenos sejam selecionados, pois, na vigência de escassez de antígeno, “ganham” aqueles anticorpos que têm maior capacidade de se ligarem aos antígenos. Esse fato explica parcialmente por que observamos a formação de anticorpos de maior afinidade à medida que a resposta imune progride! Isso não é fantástico? Veja a **Figura 14.6**, ela mostra o desenho esquemático do centro germinativo, destacando a

interação entre os linfócitos T e B para a geração de células produtoras de anticorpos. Chamamos zona escura o local onde se acumulam os linfócitos B que proliferaram, e zona clara o local onde se encontram os linfócitos pequenos.

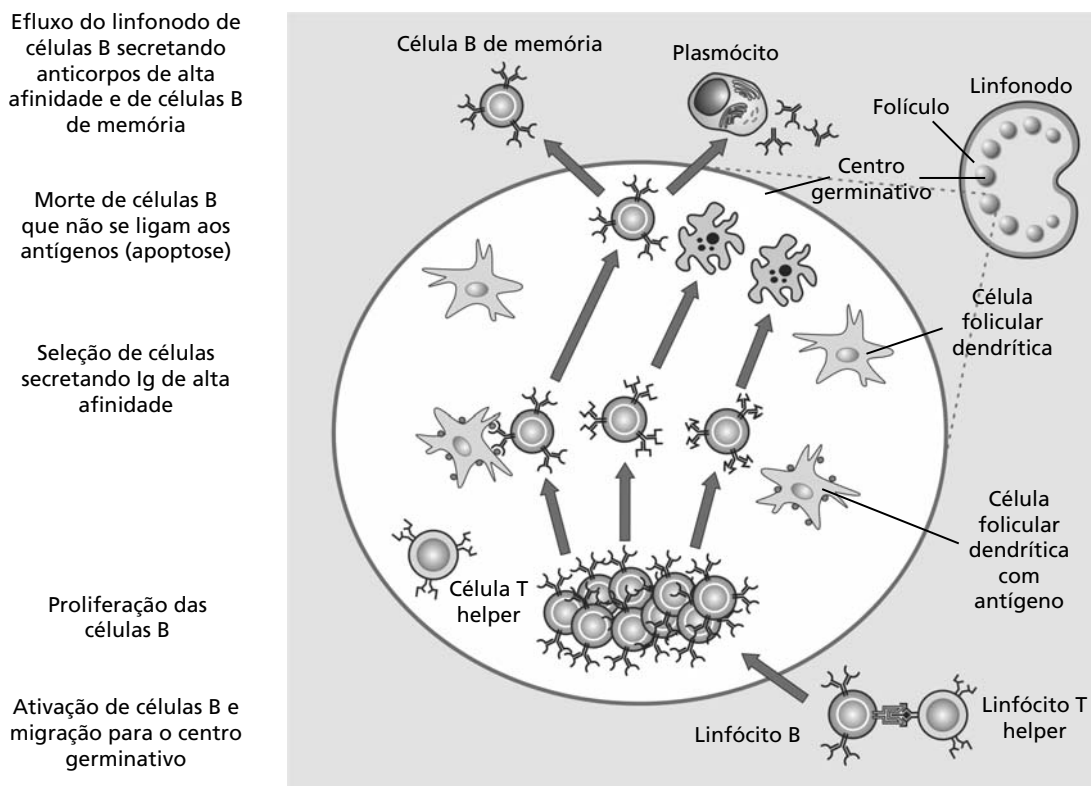


Figura 14.6: Desenho esquemático das relações celulares no centro germinativo de um folículo linfóide.

ATIVIDADE

2. Liste pelo menos três atividades das células foliculares dendríticas que sejam importantes na produção de anticorpos.

RESPOSTA COMENTADA

1. Participam ativamente da formação dos folículos linfóides (onde os linfócitos B proliferam vigorosamente como parte do seu processo de diferenciação para células produtoras de anticorpos).



2. Participam da formação dos centros germinativos que dependem da presença de linfócitos T helper e da interação entre CD40 e CD40L (que é fundamental para a produção de anticorpos).

3. Proporcionam ao folículo linfóide chances mais ampliadas de se “seqüestrar” antígenos, para que os mesmos possam estar disponíveis para os linfócitos B serem ativados.

Sugerimos que você faça um desenho esquemático ressaltando as relações celulares que envolvem a participação das células foliculares dendríticas na formação de anticorpos. Mostre seu desenho a outros colegas e ao tutor de seu pólo. Organizar desenhos esquemáticos é uma estratégia valiosa no aprendizado de Imunologia. Não deixe de fazê-los sempre. Ao realizar esta atividade, você estará cumprindo o segundo objetivo desta aula.

ANTÍGENOS T INDEPENDENTES ESTIMULAM A PRODUÇÃO DE ANTICORPOS SEM A COOPERAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Você viu que o *cross-linking* é o processo-chave para ativação dos linfócitos B tanto para o primeiro sinal (via estimulação BCR pelo reconhecimento do antígeno propriamente dito) quanto para o segundo sinal, o qual é ocasionado pela estimulação do complexo CR2 (complexo co-receptor). Como seria o *cross-linking* para antígenos T dependentes e para antígenos T independentes? Essa questão é muito importante para entendermos por que os antígenos T independentes geram respostas com produção de anticorpos de mais baixa afinidade e com menor diversidade isotópica que os antígenos T dependentes.

Os antígenos T independentes são, em geral, polivalentes com múltiplos epitopos idênticos (polissacarídeos e glicolipídios), sendo muitas vezes provenientes de microrganismos. Os múltiplos epitopos idênticos proporcionam eficiente *cross-linking* de diversas moléculas de Ig na superfície do linfócito B, fazendo com que o primeiro sinal ocorra naquele linfócito. Sabemos, também, que muitos microrganismos estimulam a via alternativa do complemento, podendo assim gerar C3d, que se liga aos antígenos provendo o segundo sinal de ativação do linfócito. Esses estímulos são suficientes para gerar resposta (com produção de anticorpos) por parte dos linfócitos B, independente

da estimulação por citocinas provenientes dos linfócitos T. Assim, a diversidade isotípica e a maturação de afinidade tenderão a não ocorrer para os anticorpos que reconhecem antígenos T independentes. Além disso, não se observa a produção de células de memória em linfócitos B estimulados com antígenos TI. A produção de anticorpos em resposta a antígenos TI pode ocorrer em sítios anatômicos específicos dos órgãos linfóides. Quando antígenos TI são injetados por via intravenosa, os macrófagos da zona marginal de folículos linfóides do baço são eficientes em capturá-los. Esses antígenos podem ser reconhecidos por linfócitos B nesta localidade, ou podem ser transferidos para os folículos adjacentes. A ausência de contato físico entre as células B, secretando Igs T independentes, e as células T faz com que a estimulação por citocinas, produzidas por células T, seja quase nula.

O CONTROLE DA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS POR RECEPTORES FC PARA IMUNOGLOBULINAS

O controle da resposta imune humoral (de produção de anticorpos) é necessário para o equilíbrio do sistema. Esse controle se faz em vários níveis. Um deles pela própria estrutura do sistema, que permite a sobrevivência nos centros germinativos apenas das células estimuladas pelos antígenos. Um outro nível de controle é aquele que chamamos controle do tipo *feedback* e se faz mediante a ligação da porção Fc de anticorpos na própria célula B, que apresenta receptor para Fc de IgG chamado FC γ RIIB (ou CD32). Esse é um controle fisiológico para regular a produção de anticorpos, e é feito pela transdução de sinais que bloqueiam vias ativadoras da sua produção. O domínio citoplasmático do CD32 apresenta uma seqüência de seis aminoácidos: isoleucina-X-tirosina-X-X-leucina, a qual é compartilhada com outros receptores do sistema imune e que mediam sinais de desativação (negativos). Por analogia aos ITAMs, essa seqüência é denominada ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif*). O ITIM é um ITAM “ao contrário”. Veja por quê: o resíduo de tirosina é fosforilado (como em ITAM) e se torna uma doca (como também pode ocorrer em ITAMs) só que ITIM se torna uma doca para uma tirosina fosfatase, e não para uma tirosina-quinase, certo? Assim, os eventos de sinalização intracelular desencadeados pela ação de ITIM irão bloquear as vias de ativação

desencadeada por ITAM (presentes nas Ig α e Ig β do BCR). Para que ITIM seja ativado, é necessário que, simultaneamente, haja a interação do complexo antígeno-anticorpo na célula, isto é, do antígeno com o BCR e do anticorpo com o receptor de Fc (CD32). Este fato provavelmente não ocorre na resposta imune no seu início, porque anticorpos IgM são formados e ocorre a formação de C3d pela fixação de complemento naquele período da resposta imune.

Chegamos ao final de mais uma aula de nossa disciplina. Acreditamos que a Aula 13 e esta lhe possibilitaram compreender, de forma mais global, porém com maiores detalhes, a resposta imune. Faça uma retrospectiva de suas aulas anteriores, pense na primeira aula. Não é fantástico o progresso que vem sendo feito em decorrência das pesquisas em Imunologia?

ATIVIDADE FINAL

Vamos simular uma situação. Imagine que lhe foi colocado o seguinte desafio: você deverá desenvolver uma vacina contra antígenos da cápsula de pneumococos para proteger indivíduos, e essa vacina deve, com toda certeza, ter longa duração. Qual estratégia você utilizaria para desenvolver a vacina, considerando que você deve produzir uma vacina de longa duração? (Dica: você poderá usar técnicas de engenharia genética.)

RESPOSTA COMENTADA

Considerando que os antígenos da cápsula de pneumococos sejam antígenos do tipo TI, a tendência é que eles não induzam respostas com a produção de células de memória. Se pudermos utilizar técnicas de engenharia genética, então podemos fazer uma proteína recombinante composta por estruturas da cápsula de pneumococos e por uma proteína da bactéria que induza resposta T dependente. Esta estratégia irá garantir a participação dos linfócitos T e aumentar as chances de a vacina produzir células B de memória, e, portanto, ser duradoura.

Se você não acertou e sentiu dificuldades em entender a resposta, procure seu (sua) tutor(a) no pólo. Ao realizar esta atividade, você estará cumprindo o terceiro objetivo desta aula.

RESUMO

A estimulação dos linfócitos T e B são os eventos-chave para que a resposta imune adaptativa se estabeleça. As relações celulares que se passam durante esse processo se pautam no princípio geral da comunicação. Conhecer os mecanismos bioquímicos que regem a estimulação das células T e B é estratégico para que estabeleçam condutas terapêuticas racionais em situações nas quais o controle da resposta imune (de supressão ou estimulação) se faz necessário. O conhecimento desses mecanismos moleculares evoluiu bastante nos últimos dez anos, sendo já possível colher alguns benefícios terapêuticos, como, por exemplo, na área dos transplantes.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

A próxima aula será dedicada ao estudo das citocinas. Você verá que a concepção vigente sobre a resposta imune mudou a partir de novos conhecimentos sobre as citocinas que foram adquiridos a partir de meados dos anos 1980.

SITES RECOMENDADOS

BIOCARTA: Charting pathways of life. Disponível em: <<http://www.biocarta.com>>. Acesso em: 16 set. 2005.

CELL Signaling Technology. Disponível em: <<http://www.cellsignal.com/index.asp?cookie%5Ftest=1>>. Acesso em: 16 set. 2005.

THE ANTIBODY Resource Page <http://www.antibodyresource.com/>

Metas da aula

- Apresentar a diversidade estrutural das citocinas e seus receptores.
- Apresentar a diversidade biológica das citocinas na mediação e na regulação da imunidade inata e adaptativa e na hematopoiese.

objetivos

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- descrever as características gerais das citocinas;
- descrever sobre o papel das citocinas na diferenciação de linfócitos T helper 1 e 2;
- avaliar a importância dos receptores de citocinas na imunidade e na hematopoiese;
- avaliar a importância de terapias gênicas no tratamento de defeitos genéticos, envolvendo a ação de citocinas e seus receptores.

Pré-requisitos

Para acompanhar esta aula, você precisa ter estudado as Aulas 2, 3,4 (Classes de linfócitos), 12, 13 e 14 (Sinalização intracelular) desta disciplina.

INTRODUÇÃO

Já na terceira aula do nosso curso falamos um pouco sobre as citocinas e vimos falando, desde então, sobre elas em diversas aulas. Essas moléculas, que são proteínas, são de importância fundamental na imunidade inata, na imunidade adaptativa e na hematopoiese. Portanto, atribuímos às citocinas papel central na imunidade. Elas podem ser secretadas tanto por células que fazem parte do sistema imune, quanto por outras células como as do endotélio de vasos, por exemplo.

Mas, até o princípio da década de 1980, os imunologistas não faziam idéia do real papel das citocinas na imunidade dos organismos. Até aquela época poucas citocinas (em comparação com os dias atuais) haviam sido identificadas. Com o advento do projeto genoma, a partir dos anos de 1990, houve um aumento significativo na identificação de novas citocinas. No entanto, o marco histórico que dimensionou o papel das citocinas na resposta imune aconteceu em meados da década de 1980.

O termo citocinas é utilizado para, genericamente, agrupar proteínas que, ao longo da história de sua descoberta e caracterização, receberam e ainda conservam diversos nomes. Esses nomes foram baseados ou na fonte celular (por exemplo, monócitos, ou linfócitos), ou na sua função biológica (por exemplo, fator de necrose para tumores ou fator hematopoiético etc.). O termo genérico citocina não está restrito à fonte celular e nem à atividade biológica da proteína (citocina) em questão, a qual, tem a propriedade de atuar na resposta imune, ou estimulando ou atenuando determinadas funções celulares, como você já viu ao longo de nosso curso e verá em maiores detalhes nesta aula.

Alguns nomes de citocinas refletem a fonte celular no contexto em que foram primeiramente descritas. Assim, foram chamadas monocinas aquelas derivadas de monócitos, ou linfocinas aquelas derivadas de linfócitos. O termo interleucina (IL) foi também proposto, já na década de 1970, em um *workshop* na Suíça, pois muitas citocinas são derivadas de leucócitos (de monócitos ou de linfócitos, por exemplo) e agem sobre outros leucócitos, justificando assim o prefixo “inter”. Esse termo, embora tenha sido consagrado e mantido para nomear sistematicamente novas citocinas descobertas, não reflete o fato de que essas novas moléculas sejam produzidas apenas por leucócitos e ajam apenas sobre eles. Recentemente, a sistematização da nomenclatura interleucina (IL) para novas citocinas descobertas já levou ao “batismo” diversas citocinas. A mais recente da lista até o momento é a IL-29, isto é, a interleucina 29. No entanto, existem mais de 30 citocinas com a denominação

de interleucina. Isto porque algumas como a IL-1 e a IL-28, por exemplo, têm a subclassificação IL-1 alfa e IL-1 beta, e IL-28 A e IL-28 B respectivamente. Outros nomes de citocinas refletem a função biológica no contexto em que foram primeiramente descritas. Por exemplo, o nome interferon foi proposto para substâncias com propriedades antivirais descobertas ao final da década de 1950. Naquela época, nem se imaginava que os interferons viriam a ser classificados como citocinas. De forma similar, aconteceu com os fatores de necrose tumoral (TNFs), descritos pela primeira vez no início da década de 1970. Na época de suas descobertas, não se tinha idéia de que essas proteínas viriam mais tarde a ser classificadas como citocinas. No entanto, seus nomes foram consagrados na literatura e não mudaram até o momento atual. Em nosso curso, utilizaremos a denominação citocinas para designar de maneira genérica essas proteínas.

PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS CITOCINAS

As citocinas atuam sobre a resposta imune (inata e adaptativa) e sobre a hematopiese, proporcionando a comunicação entre as células. Possuem estrutura tridimensional diversa (embora sejam proteínas/polipeptídeos) e compartilham propriedades gerais que podem ser didaticamente agrupadas. O **Quadro 15.1** resume essas propriedades e características.

Quadro 15.1: Propriedades e características gerais das citocinas

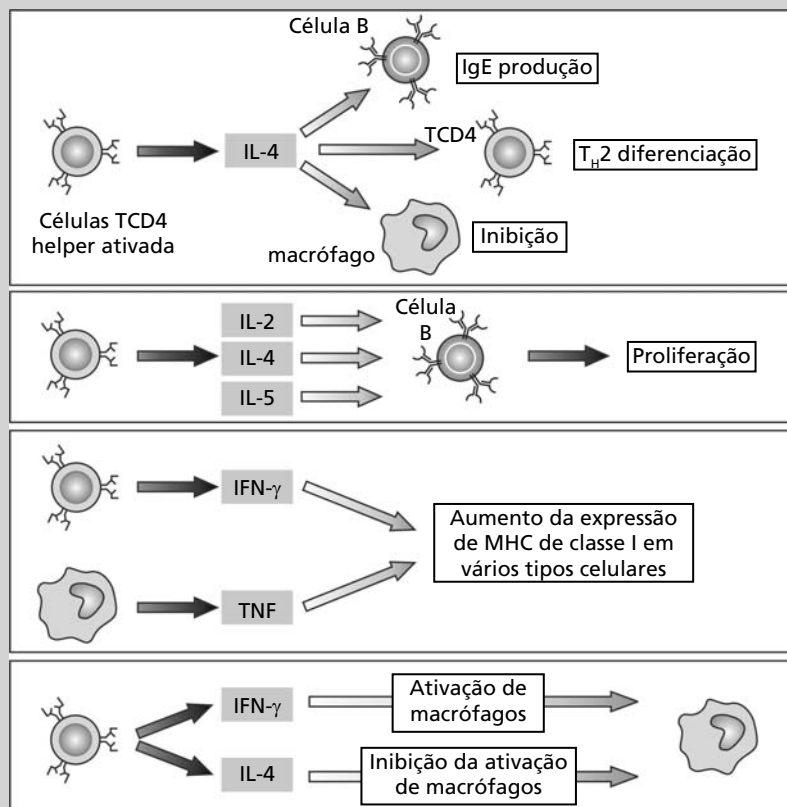
Propriedade/característica	Descrição
A secreção de citocinas é um fenômeno biológico de breve ocorrência	Diferentemente de outros mediadores celulares que atuam na resposta imune, as citocinas não são normalmente estocadas na célula como moléculas pré-formadas. Ao contrário, essas moléculas são, na grande maioria das vezes, sintetizadas a partir de transcrição gênica transiente, produzindo RNA mensageiros de vida curta. Uma vez sintetizadas, as citocinas são rapidamente secretadas. Assim, sua secreção é caracterizada como um evento biológico autolimitado e de breve ocorrência.

<p>A alta afinidade de ligação com seus receptores</p>	<p>As citocinas se ligam aos seus receptores por meio de interações de alta afinidade, o que pode ser avaliado pelos valores das constantes de dissociação (Kd) que variam de 10^{-10} a 10^{-12} M. A maioria das células expressa de 100 a 1000 receptores de citocinas na sua membrana. Porém, mesmo sendo considerado baixo o nível de expressão, ele é suficiente para causar a indução desses receptores.</p>
<p>A expressão de novos genes</p>	<p>Em geral, as citocinas provocam mudanças na expressão de genes nas células onde atuam causando proliferação e diferenciação nessas células. Exceção digna de nota é feita à atuação das quimiocinas que causam rápida mudança na migração celular sem influenciar a expressão gênica. Exceção também é feita para a citocina TNF-α que pode causar, em alguns casos, apoptose em determinadas circunstâncias. A apoptose induzida por TNF-α não depende de transcrição de novos genes ou da síntese de proteínas.</p>
<p>O pleiotropismo</p>	<p>Uma única citocina pode agir sobre diferentes tipos celulares, na dependência apenas da presença do receptor para a citocina no tipo celular. Esse fenômeno é chamado pleiotropismo. Os efeitos podem ser semelhantes ou diferentes na dependência das características da célula em questão. Por exemplo, o interferon gama (IFN-γ) pode atuar sobre fibroblastos, inibindo a síntese de RNA mensageiro para pró-colágeno, mas também pode atuar sobre macrófagos, aumentando sua capacidade microbicida. Por outro lado, a interleucina 2 (IL-2) pode atuar sobre células NK, células T e B, causando proliferação naquelas células.</p>
<p>A redundância</p>	<p>A redundância diz respeito ao fato de que diferentes citocinas podem apresentar o mesmo efeito sobre as células. Por exemplo, IL-2, IL-4 e IL-5 atuam sobre linfócitos B causando sua proliferação. A redundância de algumas citocinas é um fenômeno imunologicamente importante do ponto de vista evolutivo, pois a ausência de uma delas pode ser suprida funcionalmente por outra.</p>
<p>O sinergismo</p>	<p>O sinergismo diz respeito ao fato de que diferentes citocinas podem atuar sobre as células produzindo o mesmo efeito. Por exemplo, o IFN-γ e o TNF-α podem atuar sobre muitos tipos celulares e causar o aumento da expressão de moléculas de MHC classe I.</p>
<p>O antagonismo</p>	<p>Diferentes citocinas podem atuar sobre um mesmo tipo celular produzindo efeitos antagônicos. Por exemplo, a IL-10 atua sobre macrófagos inibindo sua ativação. O IFN-γ atua sobre este mesmo tipo celular promovendo sua ativação.</p>
<p>O efeito "cascata"</p>	<p>As citocinas podem atuar promovendo a secreção de outras citocinas com efeitos sinérgicos ou antagônicos, em escala ampliada.</p>
<p>O efeito local e sistêmico</p>	<p>As citocinas podem atuar sobre as próprias células que a estão produzindo (efeito chamado autócrino), sobre as células nas suas proximidades (efeito parácrino) ou ainda a distância (efeito sistêmico, também chamado efeito endócrino), em semelhança aos hormônios.</p>



ATIVIDADE

1. Observe a figura a seguir. Os quatro quadros ilustram algumas características de ações das citocinas que são classificadas como sinergismo, redundância, pleiotropismo e antagonismo. Liste essas quatro características na ordem correta em que aparecem na figura. Essa atividade atende ao primeiro objetivo dessa aula.



RESPOSTA COMENTADA

Se você listou na seguinte ordem: pleiotropismo, redundância, sinergismo e antagonismo, você acertou. Se você teve dificuldades, recorra ao **Quadro 15.1** que você certamente conseguirá executar essa atividade.

OS RECEPTORES DE CITOCINAS E A SINALIZAÇÃO INTRACELULAR

Os receptores de citocinas são constituídos por uma ou mais cadeias de polipeptídicas. A porção extracelular é a de ligação com a citocina e a intracelular é responsável pela iniciação da sinalização intracelular. As vias de sinalização intracelular se assemelham àquelas da ativação de linfócitos T e B, como você viu nas Aulas 13 e 14. Assim, observa-se o *clustering* a partir da interação da citocina com seu receptor aproximando porções citoplasmáticas do receptor anteriormente distante, como você verá a seguir.

Dentre as possibilidades de classificação dos receptores de citocinas, destaca-se aquela baseada na homologia de estrutura, que os divide em cinco famílias, como pode ser visto no **Quadro 15.2**. Os receptores podem ser também agrupados de acordo com a via de sinalização que eles ativam nas células. A **Figura 15.1** ilustra as respectivas famílias.

Quadro 15.2: Famílias de receptores de citocinas de acordo com a homologia estrutural

Família	Características
Receptores de citocinas do Tipo I	Esses receptores apresentam, pelo menos, um domínio com dois resíduos do aminoácido cisteína conservados, e uma seqüência proximal à membrana composta por triptofano-serina X triptofano-serina, representado pelas letras WS X WS, em que X pode ser qualquer aminoácido, W o aminoácido triptofano e S o aminoácido serina. Esses receptores apresentam apenas uma cadeia ligante extracelular, mas algumas citocinas dessa família podem compartilhar uma ou mais cadeias envolvidas na transdução de sinais (veja a parte B da Figura 15.1). Exemplo de citocinas que se ligam a esses receptores: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, G-CSF , GM-CSF , prolactina e hormônio do crescimento.
Receptores de citocinas do Tipo II	Os receptores do Tipo II se assemelham aos do Tipo I por possuírem dois domínios conservados contendo cisteínas. Porém eles não possuem a seqüência WS X WS. Exemplo de citocinas que se ligam a esses receptores: IL-10, interferon alfa (IFN- α) e interferon beta (IFN- β) e o já conhecido interferon gama (IFN- γ). Esses receptores apresentam apenas uma cadeia ligante extracelular e uma intracelular para transdução de sinal.
Receptores da superfamília das imunoglobulinas	Algumas citocinas apresentam receptores com domínios globulínicos e, por isso, esses receptores são classificados como pertencendo à superfamília das imunoglobulinas. Exemplo de citocinas que se ligam a esses receptores: IL-1, M-CSF , ligante de c-kit.

<p>Receptores TNF</p>	<p>Os receptores dessa família possuem domínios extracelulares conservados, ricos em cisteína. Alguns membros dessa família não são receptores de citocinas (Ex.: CD40 visto na Aula 13). Esses receptores podem ativar proteínas intracelulares que induzem apoptose ou que estimulam expressão gênica, ou ainda ambas (apoptose e expressão gênica). Exemplo de citocinas que se ligam a esses receptores: TNF (Fator de Necrose Tumoral) LT (linfotóxina).</p>
<p>Receptores com sete domínios alfa-hélices transmembrana</p>	<p>As quimiocinas se ligam a esses receptores constituídos por estrutura do tipo alfa-hélices que se inserem na membrana plasmática sete vezes. A porção intracitoplasmática desses receptores está associada a proteínas G, dependendo dessas para mediar a sinalização intracelular que será desencadeada pela ligação quimiocina-receptor.</p>

G-CSF, GM-CSF e M-CSF são citocinas cujos nomes foram originados pelas suas funções hematopoiéticas. O conjunto de letras CSF deriva do termo inglês (*Colony Stimulating Factor*) que significa fator estimulador de colônia. A letra G deriva de granulócito e a letra M de monócito. G-CSF é o fator estimulador de colônia de granulócitos, o GM-CSF é o fator estimulador de colônia de granulócitos e monócitos e o M-CSF é o fator estimulador de colônia de monócitos. Essas citocinas, no entanto, são produzidas não só pelas células do estroma da medula óssea mas também por linfócitos T ativados, monócitos e células endoteliais. Elas atuam sobre precursores de leucócitos aumentando sua produção pela medula óssea.

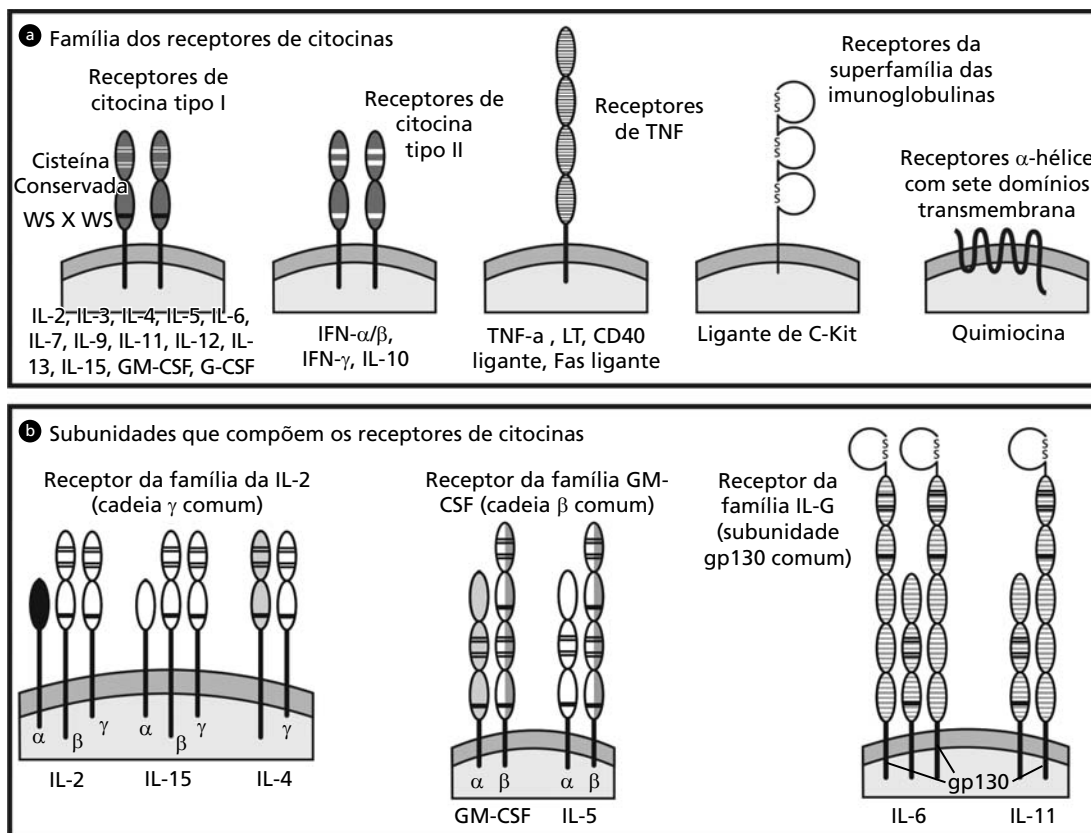


Figura 15.1: Famílias de receptores de citocinas de acordo com a homologia estrutural (parte A) e detalhes das subunidades de composição de alguns receptores de citocinas (parte B).

Para exemplificar a sinalização intracelular (transdução de sinais) decorrente da ligação de citocinas e seus receptores, vamos descrever a via de sinalização dos receptores de citocinas do Tipo I e do Tipo II. A sinalização, mediada por esses receptores, envolve a participação de tirosinas quinases (Aula 13) denominadas **Janus quinases** (JAKs, do inglês *Janus Kinases*) e de fatores de transcrição denominados STATs (do inglês *Signal Transducers and Activators of Transcriptions*). Chamamos essas vias sinalização, envolvendo a participação de JAKs e STATs de vias de sinalização JAK/STAT. As Janus quinases foram assim denominadas por causa da presença de dois domínios quinases, em alusão ao deus romano **JANUS**. A seqüência de eventos envolvidos nas vias de sinalização JAK/STAT pode ser visualizada na **Figura 15.2**.

JANUS é o deus romano da paz, representado por duas faces, uma olhando para a esquerda e a outra para a direita. As duas faces opostas, passado e futuro, interior e exterior, ser ou não ser, em um mesmo deus que era o identificado com a honestidade, abundância e paz. O nome do primeiro mês do ano, Janeiro, tem a origem inspirada no deus Janus com uma das faces olhando para o passado (fim do ano) e outra para o futuro (ano novo).

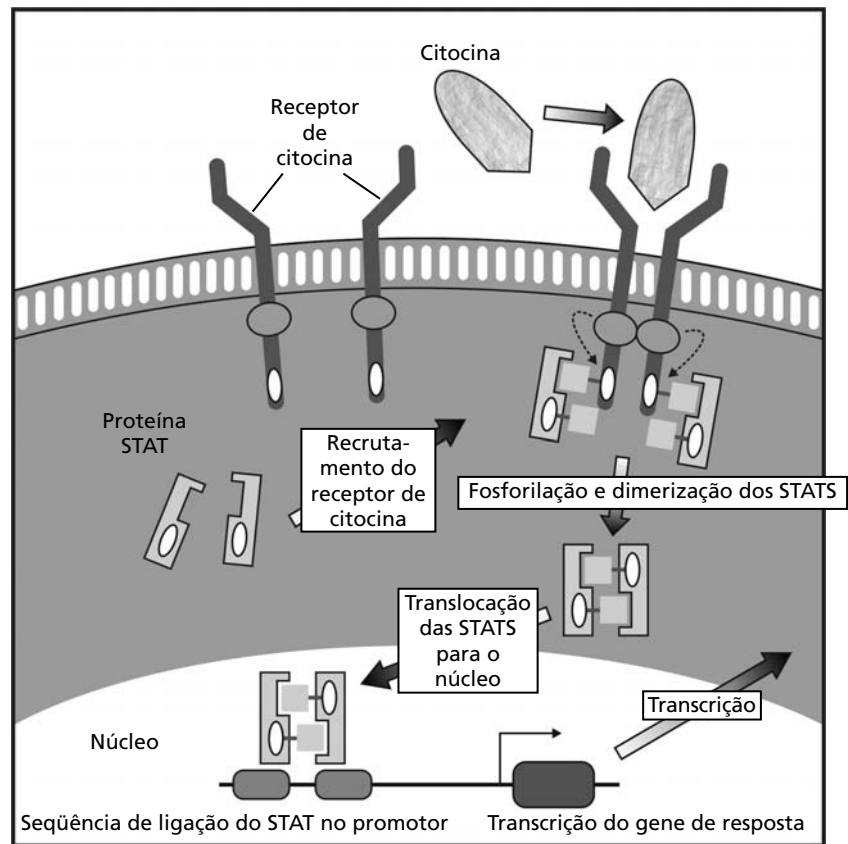


Figura 15.2: Esquema da sinalização por receptores de citocinas pelas vias JAK/STAT.

Observe que a sinalização pela via JAK/STAT guarda semelhança com as vias de sinalização que levam à ativação de linfócitos T e B que você viu respectivamente nas Aulas 13 e 14. Enzimas JAK estão frouxamente acopladas aos domínios citoplasmáticos de receptores do tipo I e do tipo II de citocinas. Quando as citocinas se ligam ao receptor, ocorre o *clustering* (em semelhança ao que você viu na Aula 13) dos receptores na superfície da célula. O processo de sinalização se inicia a partir do momento em que duas ou mais moléculas de receptores trazidas para próximo uma das outras proporciona o fenômeno da transforforilação (uma molécula de receptor fosforila a outra e vice-versa). Os resíduos de tirosina fosforilados são reconhecidos por domínios SH2 (Aula 13) de STATs no citoplasma. Os STATs são fosforilados, se dimerizam, pela ligação de resíduos de tirosina fosforilada do domínio SH2 de um dos STATs à outra molécula de STAT. Observe na **Figura 15.2**. Após a dimerização, os STATs se dissociam do receptor da citocina. O dímero migra para o núcleo e lá se liga a regiões promotoras do DNA de genes que respondem à ativação pelos STATs. Diferentes STATs e JAKs, numerados (ex: STAT1, STAT2, STAT3, etc. JAK1, JAK2, JAK3, etc) já foram descritos e estão envolvidos com a sinalização de diferentes citocinas. Outras vias de sinalização envolvendo MAP quinases estão também presentes na ativação de genes que respondem à estimulação por citocinas.

Mecanismos de regulação negativa das vias JAK/STAT têm sido descritos como fundamentais para o controle da resposta imune e conseqüente homeostase do sistema imunológico. Esses mecanismos envolvem a participação de inibidores de STATs, como as proteínas da família SOCS, (do inglês *Suppressors of Cytokine Signaling*) que são supressores da sinalização por citocinas. Camundongos *knockout* para proteínas SOCS, sucumbem (morrem) pela excessiva ação de IFN- γ , por exemplo. Outros inibidores como as SHP-1 (tirosina fosfatase) atuam no controle negativo, desfosforilando e desativando JAKs. Membros da família PIAS (do inglês *Protein Inhibitors of Activated STAT*) atuam sobre STATs, impedindo sua ligação com o DNA.

UM CLOSE NA IL-2

A IL-2 é uma citocina chave na resposta imune e está envolvida na proliferação e expansão clonal de linfócitos T após o reconhecimento antigênico. É uma glicoproteína de 14 a 17 kD, contendo quatro alfa-hélices e se liga a receptores de citocina do tipo I. É produzida por linfócitos T CD4 e, em menor quantidade, por linfócitos T CD8. O pico de secreção de IL-2 ocorre entre oito e doze horas após a ativação celular. A IL-2 atua como um fator autócrino (ver **Quadro 15.1**) e foi originalmente denominada fator de crescimento de células T, pela sua ação de proliferação sobre essas células.

O receptor da IL-2 (IL-2R) é composto por três proteínas (α , β e γ), associadas de maneira não covalente. Veja a **Figura 15.3**. As cadeias beta e gama são membros da família de receptores de citocinas do tipo I. As cadeias alfa e beta se ligam à citocina e as cadeias beta e gama estão envolvidas com a transdução de sinais. A cadeia alfa do receptor de IL-2 (IL-2R α) é uma proteína de 55kD originalmente chamada Tac (do inglês *T activation*). A cadeia gama é também componente de outros receptores de citocinas como a IL-4 IL-7 e IL-15. Em células T não ativadas e em células NK observa-se que o receptor da IL-2 é composto pelas cadeias beta e gama. Observe a **Figura 15.3**. Ela mostra que, em células T ativadas por antígenos, ocorre a expressão do receptor completo com as 3 cadeias (alfa, beta e gama). A expressão do receptor completo ocasiona a diminuição da quantidade de IL-2, necessária para estimular a proliferação em células T ativadas. A estimulação crônica de linfócitos T pode levar à liberação da cadeia alfa do receptor de IL-2 para o plasma sanguíneo. Isso também acontece em casos de rejeição aguda de transplante de órgãos em que se observa a intensa ativação de células T. A via de sinalização de IL-2 envolve a participação de JAK1, JAK 3 e STAT 5, bem como a da via Ras-MAP quinase de sinalização (Aula 13).

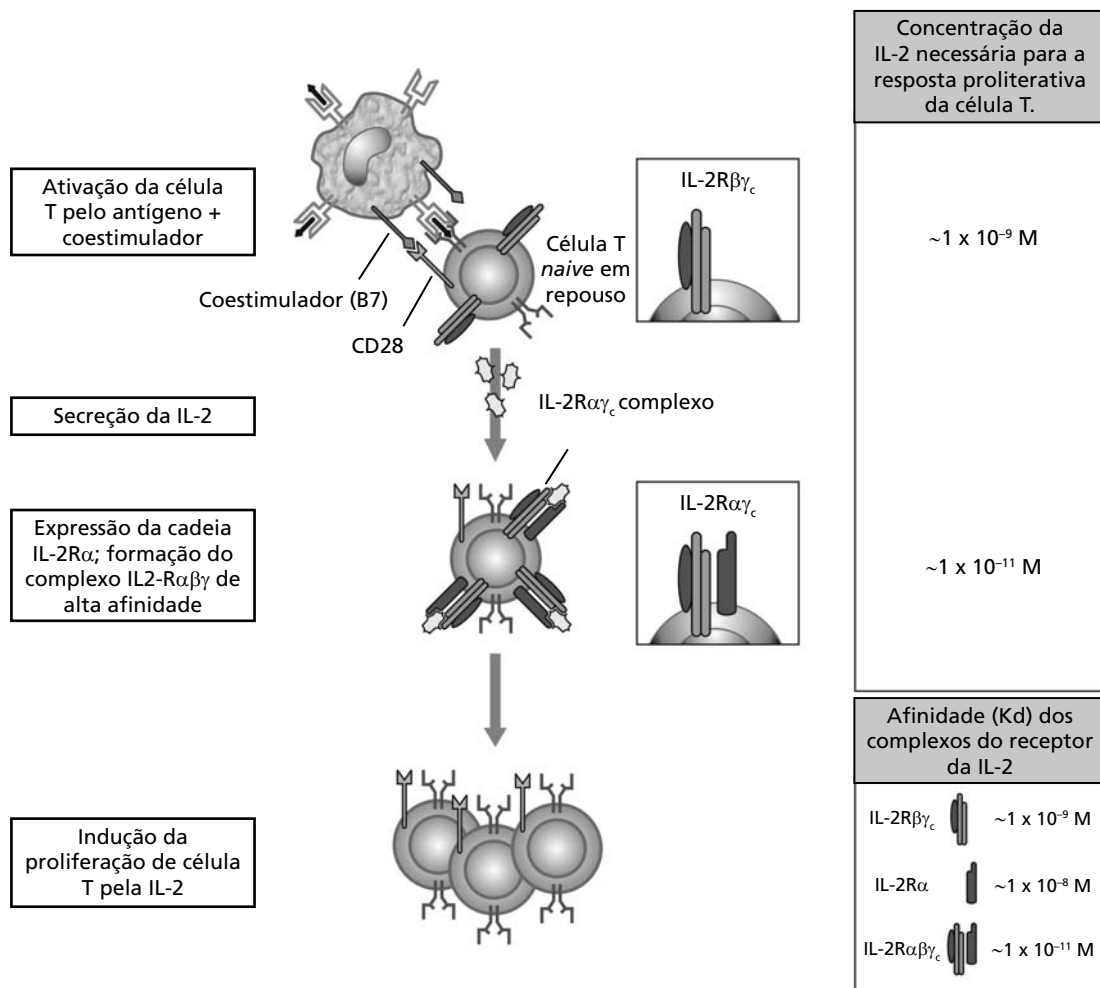


Figura 15.3: Detalhes do receptor de IL-2.

UM CLOSE NAS QUIMIOCINAS

Você já viu um pouco sobre as quimiocinas na Aula 5. Essas moléculas pertencem a uma extensa família de citocinas que apresenta homologia na sua estrutura e que estimula a movimentação e migração de leucócitos do sangue para os tecidos. Na Aula 5, você viu que, durante a inflamação, as quimiocinas são produzidas no local da inflamação. Por meio da ação de mediadores da inflamação, elas recrutam, nessas circunstâncias, primeiramente os neutrófilos e monócitos. No entanto, as quimiocinas são também recrutadas para tecidos em ausência de inflamação, e nesse caso, principalmente os linfócitos são recrutados.

As quimiocinas são polipeptídeos com peso molecular de 8 a 12 kD. Cerca de 50 quimiocinas já foram identificadas. Elas são agrupadas em famílias, de acordo com o número e a localização dos resíduos N terminais de cisteínas (C) e a sua nomeação foi recentemente modificada, isto é, sistematizada, para facilitar a identificação na literatura científica que descreve sobre elas. A nova nomeação reflete a família a que pertence a quimiocina, como você verá a seguir. Observe o **Quadro 15.3** para você conhecer como são agrupadas as famílias de quimiocinas.

Os receptores de quimiocinas são do tipo sete alfa-hélices transmembrana (**Quadro 15.2 e Figura 1**). Eles são agrupados de acordo com as famílias de quimiocinas às quais se ligam. No entanto, parece haver número menor de receptores de quimiocinas em relação ao número de quimiocinas. Como? Você pode estar se perguntando. Isso ocorre porque diferentes citocinas podem se ligar a um mesmo receptor. Os receptores da família CC de quimiocina são enumerados e sua notação reflete aquela sistematizada para nomear as quimiocinas da família CC. Assim, esses receptores são enumerados de CCR1 a CCRn sendo n o número de quantos vierem a ser descritos. Até o momento, 11 receptores para esta família já foram descritos. Veja um exemplo. O receptor CCR1 se liga às quimiocinas **CCL5, CCL3 e CCL7** que respectivamente correspondem, na nomenclatura antiga, às quimiocinas: **RANTES, MIP-1 α , MCP-3**. Por outro lado o receptor CCR5 também se liga às quimiocinas RANTES e MIP-1 α , bem como à MIP-1 β (CCL4). Seis receptores de quimiocinas para a família CXC foram descritos e são nomeados como CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6. Uma publicação recente propõe a existência do sétimo receptor para esta família, o CXCR7. Você pode ler esse artigo científico acessando o endereço eletrônico a seguir.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16107333.

As quimiocinas **CCL3, CCL5** e **CCL7** que respectivamente correspondem a **RANTES** (sigla para a expressão do idioma inglês: Regulated on Activation, Normal T Expressed and Secreted), **MIP-1 α** (sigla para a expressão do idioma inglês macrophage inflammatory protein-1 alpha), **MCP-3** (sigla para a expressão do idioma inglês monocyte chemoattractant protein-3), se ligam ao receptor CCR1 causando a migração de diferentes tipos de leucócitos, dentre eles monócitos e linfócitos.



O receptor CCR5 é também um co-receptor para o vírus HIV! Isto é, o vírus HIV utiliza o receptor CCR5 para ganhar o interior da célula que o expressa. Foi descrito na literatura médica que uma mutação no gene que codifica para CCR5 (causada pela deleção do par de base de número 32, chamada $\Delta 32$, lê-se delta 32) confere proteção natural à infecção pelo vírus HIV em indivíduos portadores do alelo mutante. Essa mutação se faz presente na Europa com muito maior frequência do que em outros locais. No entanto, outras mutações em co-receptores para o vírus HIV têm sido encontradas em populações fora da Europa e também têm sido relacionadas à resistência natural ao HIV. O receptor CXCR4 também é um co-receptor para o vírus HIV. Os co-receptores para HIV (ex; CCR5 e CXCR4), juntamente com a molécula CD4, interagem com a gp 120 do vírus HIV-1. A gp 120 é uma proteína muito imunogênica presente no envelope viral e envolvida no processo de penetração do vírus nas células. O conhecimento desses mecanismos de penetração do vírus tem sido importante na proposição de novas terapias para a infecção por HIV.

Quadro 15.3: Família de quimiocinas de acordo com o número e a localização dos resíduos N terminais de cisteínas (C)

Família	Posicionamento dos resíduos de cisteína na porção N terminal	Ocorrência
CC	Os dois resíduos de cisteína são adjacentes	Muitas quimiocinas pertencem a esta família
CXC	Os dois resíduos de cisteína são separados por um aminoácido	Muitas quimiocinas pertencem a esta família
CX ₃ C	Os dois resíduos de cisteína são separados por três aminoácidos	Poucas quimiocinas compõem esta família
C	Nesta família ocorre apenas um resíduo do aminoácido cisteína na porção N terminal	Poucas quimiocinas compõem esta família

UM POUCO MAIS SOBRE TH-1 E TH-2

Você viu na Aula 3 (no sub-tópico “classes de linfócitos”) um pouco sobre a história da descoberta de Th-1 e Th-2. Se você não está se lembrando bem, recomendamos uma rápida releitura daquele tópico antes de continuar a ler a história que segue.

Em meados dos anos de 1980, após ter sido proposta a existência de dois subtipos de linfócitos T helper por Robert L. Coffman e Tim Mosmann, iniciou-se intensa investigação para desvendar o “mistério” de como estas células se diferenciavam a partir de um precursor comum. Este precursor comum foi identificado como Th-0 (Th-zero), pois produzia

citocinas tanto de Th-1 quanto de Th-2. As células Th-1 produzem principalmente IFN- γ , Linfotóxina TNF- α , mas também outras citocinas. As células Th-2 produzem principalmente IL-4, IL-10, IL-5 mas também outras citocinas. Foi demonstrado que o ambiente onde se encontravam os linfócitos T helper (nos primórdios da sua diferenciação em Th-1 ou Th-2), era fundamental e decisivo no seu destino. Assim, se o precursor estava em um ambiente rico em interferon gama (IFN- γ), a diferenciação se daria na direção de Th-1 e, se no ambiente havia escassez de IFN- γ e presença de IL-4 (interleucina 4), então a diferenciação se daria na direção de Th-2. Mais tarde, na década de 1990 ficou estabelecido que as citocinas IL-12 e IL-4 eram respectivamente as responsáveis pela diferenciação em Th-1 e Th-2. A presença de IFN- γ que havia sido descrita anteriormente não estava errada. A citocina IL-12 (não conhecida na época) estimula a secreção de IFN- γ que passa a ser produzida em consequência da presença de IL-12. Observe a **Figura 15.4**. Ela ilustra este fato mostrando que, nos primórdios da diferenciação dos linfócitos em Th-1 e Th-2, durante o estabelecimento da resposta imune adaptativa, as APCs (células apresentadoras de antígeno), produzindo IL-12 ou IL-4, irão proporcionar, respectivamente, a diferenciação em Th-1 ou Th-2. Na diferenciação de Th-2 não necessariamente a IL-4 deve ser produzida pela APC. Ela pode vir de outra fonte celular, inclusive pelos próprios linfócitos T. A IL-4 deve estar presente no ambiente celular em que está ocorrendo a apresentação de antígenos às células T *naive* que se diferenciarão em Th-2. As vias de sinalização envolvendo STAT-4 e STAT-6, respectivamente, estão presentes na diferenciação de Th-1 e Th-2.

O que levaria uma APC a produzir IL-12 ou não? Você pode estar se perguntando. Esta é uma boa pergunta. Tem-se observado que alguns patógenos ativam macrófagos e células dendríticas a produzirem IL-12. Em geral, são patógenos intracelulares como algumas bactérias e vírus. Estes últimos podem estimular células NK a produzir IFN- γ o qual, ao agir sobre macrófagos, induzem à produção de IL-12. A produção de IL-4 parece depender da “não-produção” de IL-12 pelas APCs. Assim, acredita-se que uma produção baixa de IL-4 exista por parte dos linfócitos T e que, gradualmente, aumenta (em ausência de IL-12) durante a diferenciação de Th-2. Os helmintos e alérgenos induzem à diferenciação de linfócitos T helper em Th-2.

Um subtipo de linfócitos T helper denominado Th-3 foi também descrito. A principal citocina produzida por Th-3 é o TGF- β (do inglês *T Cell Growth Factor Beta*). Th-3 tem sido descrito em situações de tolerância oral a antígenos e se classifica atualmente junto com outros tipos celulares (também helper, isto é, células expressando os marcadores CD3 e CD4), identificadas como células T reguladoras (Treg). As Treg atuam diminuindo a proliferação de células T efetoras convencionais. O protótipo deste tipo de célula é a Treg que expressa CD25 e exerce sua função reguladora baseada em mecanismo dependente de contato celular ainda não esclarecido.

Por analogia, as células T citotóxicas são também classificadas como Tc-1 e Tc-2 de acordo com as citocinas que produzem. Ou seja, Tc-1 produz as mesmas citocinas produzidas por Th-1, e Tc-2 produz as mesmas citocinas produzidas por Th-2.

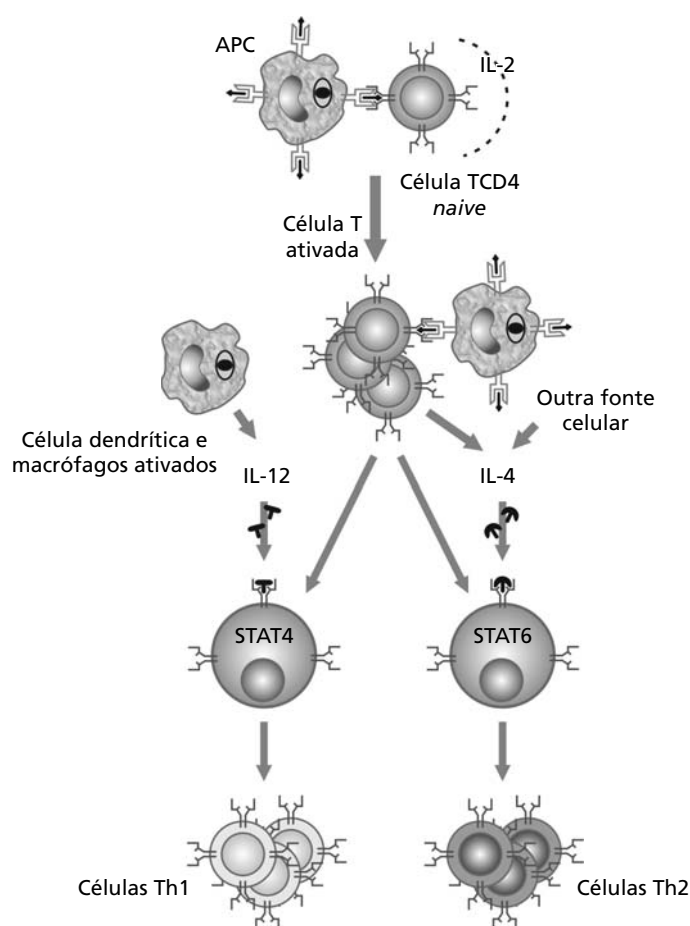


Figura 15.4: Diferenciação de linfócitos T helper em Th-1 e Th-2.



ATIVIDADE

2. Um pesquisador estava investigando o papel das citocinas na diferenciação de linfócitos T helper 1 e 2 e bolou o seguinte experimento: construir animais (camundongos) transgênicos (a partir de um animal com *background* genético capaz de curar naturalmente a infecção por parasitas do gênero *Leishmania*). Esses animais seriam transgênicos para um determinado TCR que reconheceria antígeno do parasita do gênero *Leishmania*. (Isto é, todos os linfócitos T desses animais reconheceriam a mesma seqüência de antígenos de *Leishmania* apresentados por APCs). Os camundongos seriam então infectados com o parasita ao mesmo tempo em que receberiam duas citocinas diferentes entre si. Ele então fez o seguinte: infectou os animais transgênicos com parasitas do gênero *Leishmania* e ao mesmo tempo, em um grupo, injetou IL-4 (grupo 1) e em outro grupo de animais, injetou IL-12 (grupo 2). Os grupos controles foram dois: um não recebeu injeção de citocinas mas apenas o parasita (grupo 3), e o outro grupo não recebeu nem parasitas e nem citocinas (grupo 4). O grupo 3 conseguiu superar a infecção e os animais sobreviveram. O grupo 4 permaneceu saudável, naturalmente pois não foi infectado. O que você acha que aconteceu com os grupos 1 e 2? Dica: *Leishmania* é parasita intracelular obrigatório de macrófagos.

RESPOSTA COMENTADA

Os animais do grupo 1 morreram e os animais do grupo 2 sobreviveram. A sobrevivência do grupo 2 aconteceu porque para curar a leishmaniose, é necessário que o animal desenvolva resposta do tipo Th-1 (parasita intracelular obrigatório de macrófagos). A presença de IL-12 garantiu essa condição. Os animais do grupo 1 morreram pois seus macrófagos não foram ativados (veja que as células Th-2 produzem citocinas que não ativam macrófagos, ao contrário!). Os animais do grupo 3 sobreviveram porque eles, naturalmente, no curso da infecção desenvolvem resposta do tipo Th-1. Existem linhagens de animais com determinado background genético com pré-disposição para desenvolver resposta do tipo Th-2, que morrem quando infectados por *Leishmania*.

CITOCINAS NA MEDIAÇÃO E REGULAÇÃO DA IMUNIDADE INATA

Conforme você já viu na Aula 2 e verá nas próximas aulas, as citocinas são importantes moléculas na imunidade inata e atuam estimulando células a exercerem suas funções microbicidas. Apresentamos o **Quadro 15.4** com o resumo das principais citocinas envolvidas na imunidade inata.

Quadro 15.4: Citocinas envolvidas na imunidade inata

Citocina e (principal fonte celular)	Efeitos biológicos e células-alvo
Interferons do Tipo I: IFN- α (macrófagos), IFN- β (fibroblastos)	Atuam sobre todos os tipos celulares aumentando a expressão de moléculas de MHC classe I e promovendo o estado antiviral. Sobre células NK atuam aumentando suas atividades antimicrobianas
Quimiocinas (macrófagos, células endoteliais, Células T, plaquetas e fibroblastos)	Atuam sobre leucócitos promovendo sua migração aos tecidos
TNF-alfa (macrófagos e células T)	O TNF causa ativação em neutrófilos e células endoteliais, nesses últimos promove inflamação e síntese de moléculas envolvidas na coagulação. No fígado, causa a síntese de proteínas de fase aguda; no hipotálamo, febre; no músculo e em adipócitos, o catabolismo. Em muitos tipos celulares causa apoptose.
Interleucina-1 (macrófagos células epiteliais e endoteliais)	Em células endoteliais, causa ativação, promovendo inflamação e síntese de moléculas envolvidas na coagulação. No fígado, causa a síntese de proteínas de fase aguda; e no hipotálamo, febre.
IL-6 (macrófagos células endoteliais e células T)	No fígado, promove a síntese de proteínas de fase aguda; em linfócitos B, promove a proliferação e produção de anticorpos.
IL-12 (macrófagos e células dendríticas)	Atua sobre células NK e células T promovendo sua função citolítica e a síntese de IFN- γ . Atua sobre células T helper, promovendo a diferenciação em Th-1.
IL-15 (macrófagos e outros tipos celulares)	Atua sobre NK e T (CD8) promovendo sua proliferação e diferenciação em células T CD8 de memória.
IL-18 (macrófagos)	Atua sobre NK e células T, promovendo a síntese de IFN- γ .
IL-10 (macrófagos e células T, principalmente Th-2)	Diminui a capacidade de apresentação de antígeno de macrófagos e células dendríticas, diminuindo a produção de IL-12, expressão de moléculas co-estimuladoras e de MHC classe II.

CITOCINAS NA MEDIAÇÃO E REGULAÇÃO DA IMUNIDADE ADAPTATIVA

As citocinas envolvidas na mediação e regulação da resposta imune adaptativa, promovem a proliferação e diferenciação de linfócitos após a fase inicial (de reconhecimento antigênico), bem como atuam promovendo e ativando os linfócitos. O **Quadro 15.5** resume as principais citocinas envolvidas na imunidade adaptativa.

Quadro 15.5: Citocinas envolvidas na imunidade adaptativa

Citocina e (principal fonte celular)	Efeitos biológicos e células-alvo
Interleucina-2 (IL-2) (células T)	Em células T, causa a proliferação e aumento da síntese de citocinas, mas também potencia a apoptose mediada por Fas. Em células NK, causa a proliferação e ativação. Em linfócitos B causa a proliferação.
Interferon gama (IFN- γ) (células T heper-1 células T CD8, e células NK)	Aumentam a capacidade de apresentação de antígenos em APCs, e em muitos tipos celulares, aumentam a expressão de MHC classe I e II. Ativa macrófagos e aumenta sua atividade microbicida. Em células B, promove o switching para anticorpos que fixam complemento e causam a opsonização; em células T helper, promove a diferenciação para Th-1
Linfotoxina (LT) (células T)	Recruta e ativa neutrófilos.
TGF- β (<i>Transforming growth factor beta</i>) (células T, macrófagos e outros tipos celulares)	Inibe a proliferação e as funções efetoras de linfócitos T e macrófagos. Inibe a proliferação de células B, mas aumenta a produção de IgA. Inibe a ativação de macrófagos.
Interleucina-4 (IL-4) (células T helper 2 e mastócitos)	Em células B, causa o <i>switching</i> para IgE; em células T helper, a diferenciação para Th-2. Causa inibição da ativação de macrófagos mediada pelo IFN- γ .
Interleucina-5 (IL-5) (células T helper 2)	Ativa eosinófilos e aumenta a sua produção. Em linfócitos B, aumenta a produção de IgA.
Interleucina-13 (IL-13) (células T helper2)	Em linfócitos B, causa o <i>switching</i> para IgE. Causa a inibição de macrófagos. Em células epiteliais causa o aumento da produção de muco.

UM DESTAQUE PARA O TNF-ALFA

O Fator de Necrose Tumoral alfa, (TNF- α) ou simplesmente TNF, é a principal citocina envolvida na resposta inflamatória aguda contra infecções bacterianas, em particular naquelas causadas por bactérias gram-negativas. O TNF em monócitos é sintetizado como uma proteína de membrana de 17kD que forma um homo-trímero. Esta forma é clivada liberando polipeptídeos de 17kD. Esses polipeptídeos polimerizam para formar uma proteína de 51kD. Essa proteína forma uma pirâmide, sendo que cada subunidade de 17kD forma um lado da pirâmide. A base da pirâmide, se liga simultaneamente a três receptores de TNF.

O TNF estimula o recrutamento de neutrófilos e monócitos (Aula 5) em condições fisiológicas. No entanto, se o TNF é produzido em grandes quantidades, poderão ocorrer efeitos sistêmicos graves e patológicos. O choque séptico causado em situações de infecção por bactérias gram-negativas pode levar à morte do organismo. O TNF é o principal mediador dos efeitos do choque séptico, isto é, a causa dos efeitos do choque é a alta produção de TNF e não a bactéria ou o LPS (Aula 2). Em altas concentrações no organismo, o TNF pode causar contratilidade do músculo cardíaco e ausência de tônus da musculatura vascular lisa, o que leva à queda da pressão sanguínea e ao choque. O TNF pode causar a coagulação intravascular pois, em altas concentrações, inibe as propriedades anticoagulantes do endotélio. A prolongada secreção de TNF (porém não alta o suficiente para produzir choque) causa um efeito chamado caquexia decorrente da inibição da síntese de lipase (enzima), necessária para a liberação de ácidos graxos (gorduras), de lipoproteínas circulantes. A caquexia pode ser observada em alguns pacientes infectados pelo HIV e é responsável pela aparência caquética (extremamente magra) do paciente.

CITOCINAS NA HEMATOPOIESE

As citocinas são fundamentais na hematopoiese, como você viu na Aula 3. As células-tronco pluripotentes são estimuladas a se diferenciarem em tipos celulares diversos pela ação de Fatores Estimuladores de Colônias, do Inglês *Colony Stimulating Factors* (CSFs). Os M-CSF, e G-CSF atuam sobre os progenitores comprometidos e o GM-CSF, sobre os progenitores imaturos e sobre macrófagos maduros. A IL-3 e o ligante de

C-kit atuam sobre todos os tipos celulares em diferenciação na medula; a IL-7 atua na diferenciação de linfócitos T e B. O seu receptor apresenta-se composto por duas cadeias, a alfa e a gama. Esta última é a mesma presente no receptor da IL-2. A IL-9 atua na diferenciação de alguns tipos de células T, e a IL-11 estimula a hematopoiese de megacariócitos e tem sido utilizada para tratar pacientes com deficiências plaquetárias decorrente de quimioterapia para o câncer, por exemplo. A **Figura 15.5** ilustra o papel das citocinas na hematopoiese. Se necessário, reveja a hematopoiese no capítulo 3.

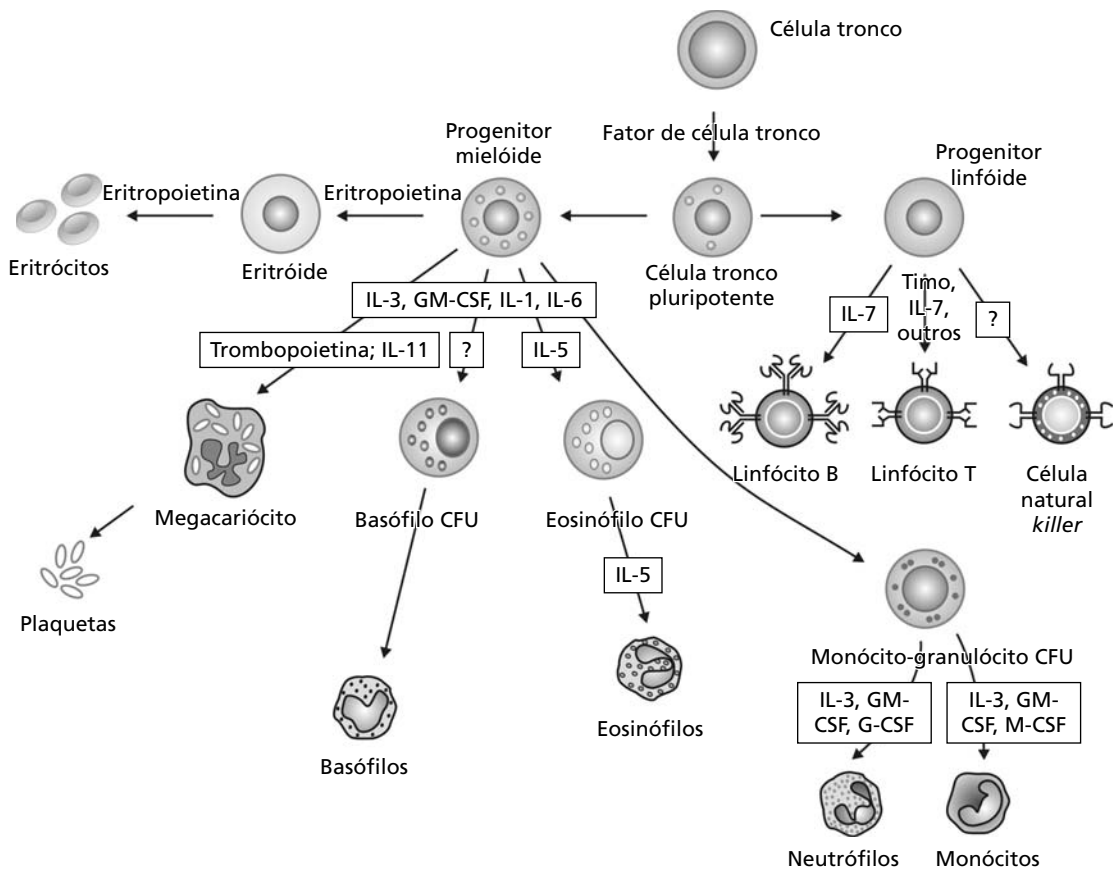


Figura 15.5: Citocinas na hematopoiese.



ATIVIDADE

3. Observe o texto, a seguir, que descreve sobre a situação de deficiência genética em receptores de citocinas. Proponha uma explicação para o perfil imunológico dos animais em questão. Esta atividade está relacionada ao terceiro objetivo desta aula.

Situação: animais *knockout* para a cadeia gama do receptor de IL-2 apresentam defeitos na maturação de linfócitos.

RESPOSTA COMENTADA

Um animal knockout para a cadeia gama do receptor da IL-2 não apresentará também a cadeia gama do receptor da IL-7, pois é codificado pelo mesmo gene. Veja na seção sobre citocinas e hematopoiese, a cadeia gama do receptor de IL-2 está presente também no receptor da IL-7, certo? Sendo a IL-7 uma citocina hematopoética, o animal, portador de defeito no receptor para esta citocina, deixará de sinalizar uma série de sinais importantes durante a hematopoiese e terá prejudicado o desenvolvimento de linfócitos.

PERSPECTIVAS

Investigar cientificamente o papel das citocinas na resposta imune significa contribuir para a evolução e aperfeiçoamento em potencial de novos caminhos terapêuticos. Um desses caminhos diz respeito à terapia gênica, que começou a ser vislumbrada no final da década de 1960. Já no início da década de 1970, uma tentativa foi registrada na literatura, no entanto, sem sucesso (<http://www.asgt.org/history.shtml>).



O princípio básico da terapia gênica consiste na adição de fatores genéticos que possam suprir deficiências ou inibir a expressão de genes em tecidos ou células-alvo. As deficiências gênicas podem ser herdadas ou congênitas, bem como elas podem ser adquiridas após o nascimento, e já na vida adulta. O desafio é encontrar um método adequado dentre os já desenvolvidos e que vêm sendo aprimorados para o transporte de genes às células. A transferência gênica é realizada por vetores que “carregam” os genes para o interior das células. Os vetores podem ser biológicos, como por exemplo, os vírus que naturalmente são capazes de infectar e inserir sua informação genética em diversas células do organismo. Mas a transferência gênica pode se dar por meios vetores, químicos ou físicos. As células-alvo que receberão os genes são removidas do organismo, expostas ao contato com os vetores *ex vivo* (fora do organismo) e reintroduzidas no indivíduo após a modificação genética.

SCID-X1, ou **IMUNODEFICIÊNCIA COMBINADA SEVERA LIGADA AO CROMOSSOMO X**, consiste em defeito genético que tem, como consequência, o bloqueio da diferenciação de células NK e linfócitos T. O defeito genético é causado por mutação no gene que codifica para a cadeia gama dos receptores das seguintes citocinas: IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15.

Na literatura científica, encontramos exemplos de sucesso e insucesso com este tipo de terapia. Em 2000, foi publicada, na revista *Science*, uma experiência de sucesso com terapia gênica para tratar crianças portadoras de **SCID-X1**, do inglês, *X-linked severe combined immunodeficiency* que significa **IMUNODEFICIÊNCIA COMBINADA SEVERA LIGADA AO CROMOSSOMO X**. A terapia consistiu na infecção, *ex vivo*, de células CD34+ (as células que expressam CD34 são precursores hematopoiéticas, isto é células ainda não totalmente diferenciadas encontradas na medula óssea, no sangue periférico, no fígado fetal e cordão umbilical), utilizando o sistema viral carregando o gene da cadeia gama do receptor das citocinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15. Cerca de 30 meses após a terapia gênica, duas de dez crianças desenvolveram uma síndrome similar à leucemia e foram tratadas com quimioterapia.

A terapia gênica tem sido vista principalmente pela opinião pública como sendo de alto risco. Isso, em parte, se deve ao fato muito explorado pela mídia, referente à morte, em 1999, do jovem de 18 anos Jesse Gelsinger após a infusão intra-hepática de adenovírus contendo a enzima *ornitina transcarbamilase*, uma enzima envolvida no ciclo da uréia. O defeito genético nessa enzima causa acúmulo de uréia no sangue, prejudicando a saúde por causar intoxicação e deterioração mental. O tratamento convencional consiste em uma combinação de medidas, como controlar a dieta ingerindo-se o mínimo possível de compostos aminados (proteínas, por exemplo, suplementando a dieta com aminoácidos essenciais), utilizar compostos como o benzoato de sódio e, se necessário, submeter o paciente à hemodiálise. No entanto, essa morte foi a única dentre tantas no mesmo estudo clínico de mais de 400 indivíduos. Essa pesquisa foi feita por um grupo de cientistas da Universidade da Pensilvânia que investigava a possibilidade de se utilizar a terapia gênica para tratar essa doença genética hepática rara, ligada ao cromossomo X e que produz defeito na enzima *ornitina transcarbamilase* (OTC).

ATIVIDADE FINAL

Na década de 1970, médicos nos Estados Unidos detectaram um quadro de imunodeficiência em uma criança e decidiram, com o consentimento da família, “enclausurar” ou isolar a criança em um ambiente livre de germes (*germ free*). Tentou-se criar um ambiente de isolamento contra patógenos para a criança que passou a viver dentro de uma “bolha” de isolamento. Uma estrutura de plástico cujo ar interno era estéril, livre de patógenos, assim como também tudo que ele ingeria, as roupas que vestia etc. Esse caso ficou sendo conhecido como “o menino da bolha” e foi muito noticiado pela mídia na época. A criança veio a falecer, mesmo assim, aos 12 anos de idade. Hoje se sabe que esta tentativa para salvar a vida do menino David consistiu em um erro na história da medicina moderna.

Uma das tendências atuais da medicina é utilizar terapias gênicas para tratar deficiências imunológicas severas, que fatalmente levarão à sobrevida pequena dos(as) pacientes que as possuem.

Dito isso, como você responderia à seguinte pergunta feita por seu(sua) aluno(a) do Ensino Médio, muito esperto(a), e que quer prestar vestibular para algum curso da área biológica e ser um pesquisador em imunologia. Seu(sua) aluno(a) pesquisou na internet e encontrou disponível uma monografia em português no *site*: (http://disciplinas.sabt.fct.unl.pt/AplicacoesEngenhariaGenetica/AEGpb/TERAPIA_GENICA.pdf), e lhe perguntou: “professor(a), qual a sua opinião sobre as terapias gênicas para tratar imunodeficiências genéticas?” Qual seria sua abordagem para responder a esta pergunta? Esta atividade está relacionada aos terceiro e quarto objetivos desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Não há uma resposta absolutamente objetiva para esta pergunta, porém você pode utilizar o exemplo desta própria atividade (o caso do menino da bolha) para comentar sobre o assunto. O comentário poderia ser no seguinte caminho: a terapia gênica para tentar corrigir imunodeficiências geneticamente determinadas consiste em recente prática da medicina para salvar vidas humanas. Sendo assim, ela é passível de erros, previstos em riscos devidamente esclarecidos aos próprios pacientes (em adultos), ou a seus pais ou responsáveis (em casos de pacientes menores de idade ou incapazes). Há um tempo atrás, acreditou-se ser possível manter vivos indivíduos em isoladores (como no caso do menino da bolha), uma experiência que se mostrou inviável com o passar do tempo, inclusive do ponto de vista da saúde pública. Como tratar tantos doentes mantendo-os isolados em bolhas estéreis? Você poderá contar o caso bem-sucedido da terapia gênica com a cadeia gama dos receptores de citocinas e também comentar sobre a morte do jovem Jesse Gelsinger, em 1999.



Comentário final: faça seu aluno perceber a diferença entre imunodeficiência genética e imunodeficiência adquirida. Isto é, no primeiro caso, o indivíduo nasce portador da imunodeficiência quer seja por herança familiar cromossômica de um gene defeituoso (as homozigóticas em geral estão associadas a casos graves de imunodeficiência), quer seja por mutação gênica no indivíduo sem relação familiar pregressa. No caso da imunodeficiência adquirida, o indivíduo nasce normal e adquire a imunodeficiência por infecção (pelo vírus HIV por exemplo) ou em situações de tratamento médico (transplantes de órgãos ou câncer por exemplo).

Se você quiser saber mais sobre a história do menino da bolha, vale a pena ler o artigo na revista JAMA Lawrence RJ. David the "Bubble Boy" and the boundaries of the human. JAMA. 1985 Jan 4;253(1):74-6 que trata dos aspectos éticos dessa experiência na história da medicina moderna. Vale a pena também visitar a página <http://www.primaryimmune.org> que traz comentário sobre o caso do menino da bolha ("the bubble boy"). Assim como os artigos publicados na revista Science de 1993: Nowak R. 'Bubble boy' paradox resolved. Science. 1993 Dec 17;262(5141):1818 e Science 1993 Dec 17;262(5141):1874-7; Science. 1993 Dec 17;262(5141):1877-80; Science. 1993 Dec 17;262(5141):1880-3.

CONCLUSÃO

Nesta aula vimos, de maneira um pouco mais detalhada, o papel das citocinas na resposta imune. Não nos propusemos a escrever um resumo sobre cada tipo de citocina em particular, pois esse tipo de informação você pode buscar em livros ou na internet e em artigos científicos. Ao contrário, vimos, de maneira genérica, o papel das citocinas na imunidade inata, adquirida e na hematopiese. Podemos vislumbrar a partir do ponto em que estamos, cada vez mais, a possibilidade de intervir a favor de nossa saúde com “ferramentas” imunológicas para o tratamento de doenças. Você concorda? Pense nisso.

RESUMO

As citocinas são proteínas fundamentais na imunidade de indivíduos, pois funcionam como elos de comunicação entre células que compõem a imunidade inata e a imunidade adquirida, integrando a imunidade inata à imunidade adquirida. As citocinas, quando produzidas em concentrações acima das fisiológicas, podem causar danos graves ao organismo e até a morte. Ao longo dos últimos 15 anos, essas moléculas têm sido alvo de planejamentos experimentais para testar ações imuno-terapêuticas. Os receptores de quimiocinas constituem-se em novo foco de atenção de cientistas visando a intervenções imunoterapêuticas, bem como a terapia genética para tentar corrigir defeitos especificamente detectados.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

A próxima aula será dedicada ao estudo dos mecanismos efetores da imunidade humoral e celular.

Mecanismos efetores da imunidade humoral e celular

AULA 16

Meta da aula

Apresentar os mecanismos pelos quais a imunidade humoral e celular utilizam para defender o organismo dos patógenos.

objetivos

Esperamos que, ao final dessa aula, você seja capaz de:

- descrever os mecanismos efetores dos anticorpos associados à fração Fab;
- definir os mecanismos efetores dos anticorpos associados à fração Fc;
- apresentar as funções efetoras das células T CD4 e T CD8 ativadas.

Pré-requisitos

Para que você possa acompanhar bem esta aula, é importante que você tenha claro os conceitos apresentados sobre tecidos e órgãos do sistema imune na Aula 3, os anticorpos na Aula 6, o sistema complemento na Aula 7, a interação antígeno-anticorpo na Aula 8 (Atividade prática), o processamento e apresentação de antígenos na Aula 11 e a ativação de linfócitos e citocinas nas Aulas 13, 14 e 15.

INTRODUÇÃO

A imunidade humoral, mediada pelos anticorpos secretados, tem como sua principal função a defesa do nosso organismo contra os agentes infecciosos e toxinas microbianas de origem extracelular. Em contrapartida, a imunidade mediada por células ou imunidade celular, representada pela função efetora de linfócitos T, funciona como mecanismo de defesa contra os agentes infecciosos intracelulares que sobrevivem dentro das células fagocíticas ou que infectam outras células do nosso organismo. Além disso, incluem, também, a defesa contra as células tumorais. Historicamente, os imunologistas dividem a imunidade adaptativa em imunidade humoral e imunidade mediada por células. A imunidade humoral pode ser adotivamente transferida pelos anticorpos de um doador imunizado para um outro hospedeiro não imune, isto é, sem a presença de células. Já a imunidade mediada por células pode ser transferida, também de forma adotiva, pelos linfócitos T. A fase efetora da imunidade humoral inicia-se pelo reconhecimento do antígeno por meio dos anticorpos secretados. Conseqüentemente, a imunidade humoral neutraliza e elimina microrganismos extracelulares e toxinas que são acessíveis aos anticorpos, mas não são efetivos contra organismos que sobrevivem e se multiplicam dentro das células. Importante ressaltar que os anticorpos podem neutralizar os vírus na sua fase extracelular. Porém, na fase intracelular eles não têm nenhum efeito. Em contraste, na imunidade mediada por células, a fase efetora começa com o reconhecimento do antígeno pelos linfócitos T. Lembre-se de que as células T só reconhecem os antígenos na forma de fragmentos peptídicos apresentados pelas moléculas do MHC. Indivíduos com deficiência na imunidade mediada por células apresentam maior susceptibilidade a infecções causadas por vírus e bactérias intracelulares. Essa imunidade também desempenha um papel importante na rejeição de enxertos e na resposta imune aos tumores. Nesta aula, vamos ver como os vários mecanismos da imunidade humoral e celular se integram para combater os micróbios invasores do organismo animal. Bem, já deu para perceber que muitos conceitos apresentados nas aulas anteriores desta disciplina serão fundamentais para acompanhar esta aula. Logo, se você tiver dificuldades não deixe de revê-las.

MECANISMOS EFETORES DA IMUNIDADE HUMORAL

Vamos iniciar esta aula lembrando alguns conceitos importantes que já vimos em aulas anteriores. Na Aula 6, vimos como é a estrutura dos anticorpos e quais são as classes e subclasses das imunoglobulinas.

Na Aula 9, estudamos como é gerada a diversidade das moléculas de anticorpo. Na Aula 12, aprendemos como são gerados os linfócitos e como eles amadurecem e, finalmente nas Aulas 13 e 14 vimos como são ativados os linfócitos B e os produtos derivados da sua ativação, dentre os quais o anticorpo é o principal produto. É importante que você não esqueça que o sistema complemento também faz parte da imunidade humoral. Entretanto, a sua participação na imunidade humoral refere-se tanto à imunidade inata como à imunidade adaptativa. Como você estudou na Aula 7, a via alternativa e a via das lectinas pertencem à imunidade inata e a via clássica do complemento pertence à imunidade adquirida, uma vez que a sua ativação é dependente de anticorpos.

A função efetora da imunidade humoral está associada à neutralização e à eliminação dos agentes infecciosos e toxinas microbianas. Na **Figura 16.1**, observe que a eliminação dos antígenos requer a participação de outros sistemas efetores, que incluem a fagocitose e o sistema complemento, como veremos ao longo desta aula. O reconhecimento do antígeno e a ativação dos linfócitos B ocorrem nos órgãos linfóides periféricos, tais como, baço, linfonodos e tecidos linfóides associados às mucosas. A produção dos anticorpos acontece nesses órgãos e também na medula óssea. A partir da ativação de linfócitos B e a sua diferenciação em plasmócitos, células produtoras de anticorpos, algumas dessas células se transformam em células de memória e outras migram para a medula óssea. Na medula óssea essas células podem permanecer por vários anos, onde elas continuam produzindo anticorpos, mesmo após a eliminação do antígeno que o induziu. Essas células são denominadas plasmócitos de vida longa. Importante ressaltar que este fato só acontece com uma pequena parte dos plasmócitos, pois a grande maioria dos plasmócitos morre por apoptose após cumprirem o seu papel, que é produzir anticorpos. À medida que cessa o estímulo antigênico, e os níveis de anticorpos estão elevados, é desencadeado um fenômeno denominado feedback de anticorpos (você já viu esse assunto na Aula 13), ou seja, é gerado um sinal de inibição da ativação do linfócito B e, também, um sinal de indução de morte dessas células por apoptose. Essa morte celular é fisiológica, e tem a função de manter a homeostase celular, isto é, para que não haja um excesso de células ativadas por um período maior que o necessário.

A função efetora dos anticorpos está associada com a sua ligação aos antígenos. Entretanto, muitas vezes essa função é dependente da fração Fc, ou seja, do isótipo a que este anticorpo pertence. Veja no **Quadro 16.1** essa relação. Assim, podemos citar vários mecanismos de ação dos anticorpos:

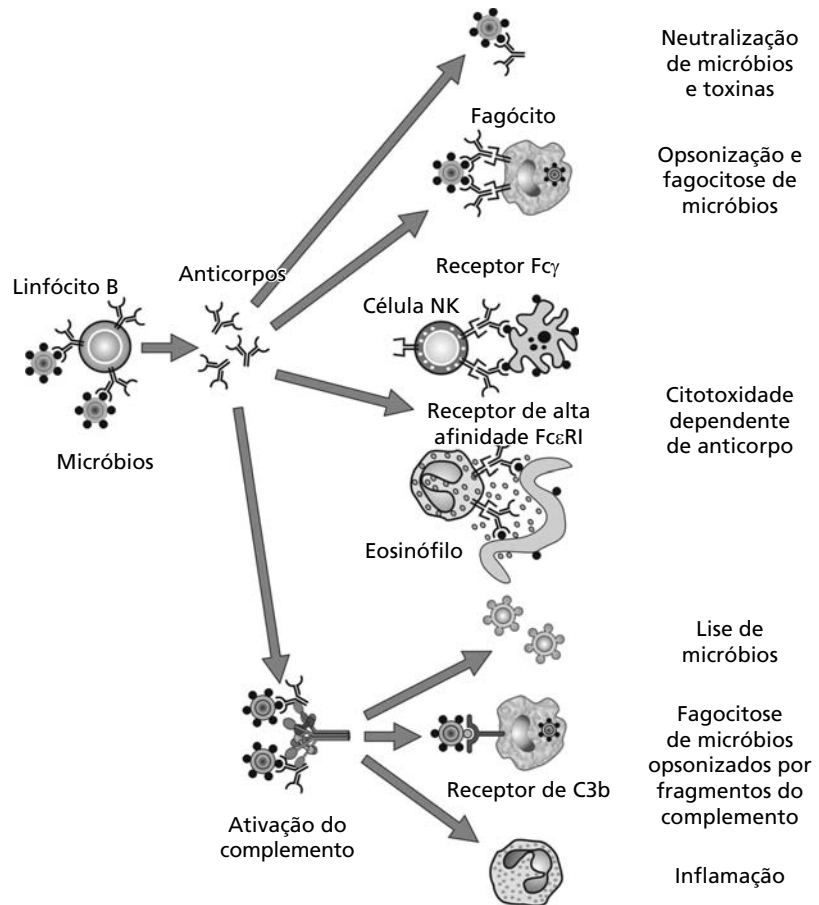


Figura 16.1: Funções efetoras dos anticorpos. Observe que existem vários mecanismos efetores associados aos anticorpos, os quais abordaremos nessa aula.

1. neutralização de antígenos – ligação de anticorpos a epítomos estratégicos no antígeno, impedindo que este se ligue a receptores na célula-alvo;
2. oponização – ligação de anticorpos na superfície de patógenos favorecendo a sua fagocitose;
3. citotoxicidade celular dependente de anticorpos – ligação de anticorpos à superfície da célula-alvo que se ligam a receptores de Fc de células NK, macrófagos, neutrófilo ou eosinófilo e que induzem à morte da célula-alvo.

Quadro 16.1: Funções efetoras associadas aos isotipos dos anticorpos

Isotipo	Função efetora isotipo-específico
IgG	<ul style="list-style-type: none"> • Opsonização de antígenos para fagocitose por macrófagos ou neutrófilos. • Ativação da via clássica do sistema complemento. • Citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) mediada por macrófagos e CÉLULAS NK. • Imunidade neonatal: transferência de anticorpos maternos através da placenta e intestino. • <i>Feedback</i> negativo da ativação de células B.
IgM	<ul style="list-style-type: none"> • Ativação da via clássica do sistema complemento. • Receptor de antígeno de linfócitos B (forma monomérica ligada à membrana).
IgA	<ul style="list-style-type: none"> • Imunidade de mucosa: secreção de IgA no lúmen do trato gastrointestinal, no trato respiratório e outras mucosas.
IgE	<ul style="list-style-type: none"> • Citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) envolvendo eosinófilos.
IgD	<ul style="list-style-type: none"> • Receptor de antígenos de linfócitos B.

CÉLULAS NK

Classe de linfócitos que não são T e nem B, com grânulos citoplasmáticos e que atuam como células citotóxicas. Sua ação citotóxica pode ser mediada ou não por anticorpos.

Neutralização de antígenos

A ligação de anticorpos nos microrganismos ou toxinas pode bloquear a interação deles com os receptores nas células. A consequência direta dessa ligação é a neutralização desses antígenos. Acompanhe na **Figura 16.2.a e b** como os anticorpos são capazes de inibir ou neutralizar a infectividade dos microrganismos e, conseqüentemente, de impedir a injúria celular e tecidual causada pela infecção. Muitos organismos infecciosos invadem as células hospedeiras ligando-se às moléculas presentes na superfície da célula hospedeira. Vejamos alguns exemplos. O vírus da influenza (vírus da gripe) utiliza uma glicoproteína denominada hemaglutinina, presente no envelope viral, para se ligar e infectar células do epitélio do trato respiratório. Bactérias gram-negativas podem utilizar os *pili* para aderirem e infectarem células hospedeiras. Anticorpos direcionados contra epítopos estratégicos nessas estruturas microbianas podem interferir na interação desses organismos com os receptores na célula hospedeira, e assim, impedir a infecção das mesmas.

De forma similar, as toxinas microbianas e peçonhas animais induzem o seu efeito patológico ou tóxico pela ligação às células-alvo por meio de receptores específicos, conforme exemplificado na **Figura 16.2.c**. Vejamos alguns exemplos. A toxina tetânica, produzida pela bactéria *Clostridium tetani*, se liga a receptores presentes nas placas das

terminações motoras da junção neuromuscular inibindo a transmissão neuromuscular, que resulta na paralisia muscular, típica das intoxicações pela toxina tetânica. Já a toxina diftérica se liga a receptores celulares e entra em várias células, nas quais elas inibem a síntese de proteínas. Anticorpos antitoxina bloqueiam a ligação das toxinas aos receptores celulares e, conseqüentemente, impedem que as toxinas causem injúria celular ou patologias.

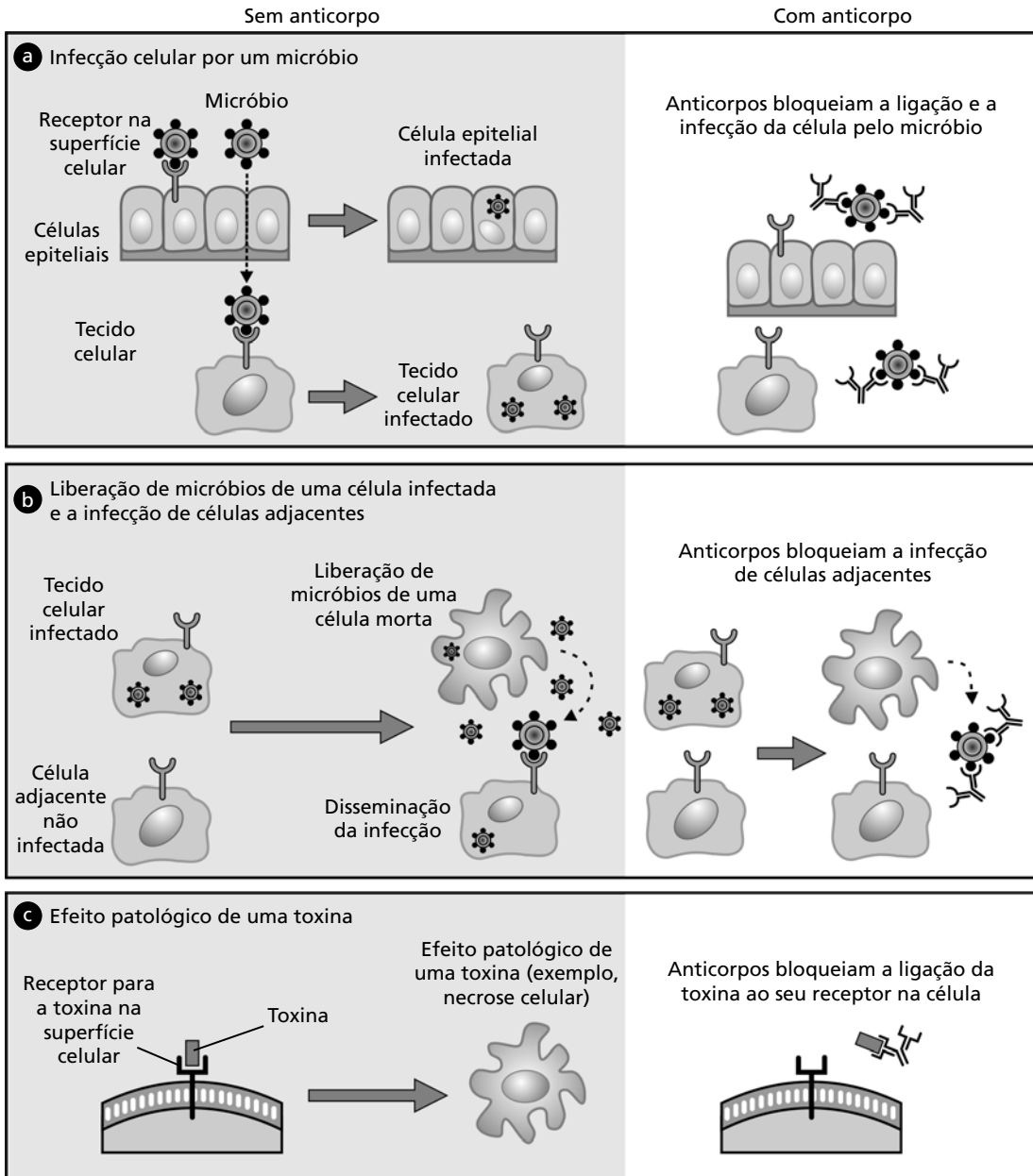


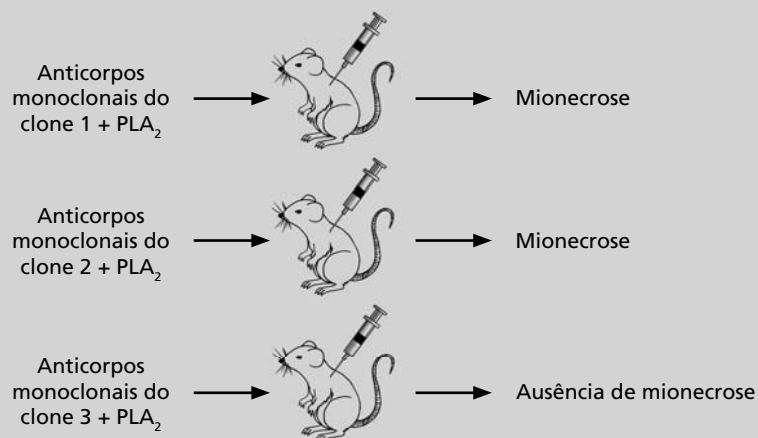
Figura 16.2: Neutralização de organismos infecciosos ou toxinas microbianas por anticorpos. Observe algumas situações nas quais o anticorpo pode bloquear a ação dos antígenos.



ATIVIDADE

1. Um pesquisador, para estudar uma toxina que induz necrose muscular, conhecida como PLA_2 , presente no veneno de serpentes do gênero *Bothrops*, produziu três clones de hibridomas produtores de anticorpos monoclonais contra essa toxina. Caso você tenha dúvidas acerca de anticorpos monoclonais, reveja a Aula 6 de Biologia Celular. Os anticorpos monoclonais produzidos pelos clones identificados como clone 1, 2 e 3, foram avaliados pelo teste de ELISA (se você tiver dúvidas acerca do teste de ELISA reveja a Aula 08 dessa disciplina) e todos os três anticorpos monoclonais foram capazes de reconhecer a toxina PLA_2 , ou seja, a reação foi positiva. O pesquisador incubou cada anticorpo monoclonal com a PLA_2 e depois injetou em camundongos. Os camundongos que foram injetados com a PLA_2 incubada com os anticorpos monoclonais dos clones 1 e 2 apresentaram mionecrose e, somente os animais injetados com a PLA_2 incubada com os anticorpos monoclonais do clone 3 não apresentaram necrose muscular. Como você justificaria esse fato? Para facilitar o seu raciocínio veja o esquema a seguir.

Concluindo esta atividade você terá alcançado o objetivo um dessa aula.



RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu algo similar ao que vamos descrever a seguir, parabéns! Você acertou! Mas se você errou, não se preocupe, esta atividade tem um caráter provocativo para você exercitar alguns conceitos que já vimos. Em geral, os antígenos são macromoléculas com estruturas complexas e podem conter vários epítopos. Como é o caso da PLA_2 . Assim, a primeira conclusão que podemos tirar deste

experimento é que o anticorpo monoclonal 3 reconhece um epítopo diferente do(s) reconhecido(s) pelos anticorpos 1 e 2. Sendo que o epítopo reconhecido pelo anticorpo 3 está localizado numa região estratégica de interação da toxina com a célula-alvo, ou seja, este anticorpo impede que a PLA₂ se ligue com a célula-alvo para induzir a necrose tecidual. Ao passo que os anticorpos 1 e 2 se ligam na molécula de PLA₂ numa região que não impede a sua ligação à célula-alvo, que resulta na indução do efeito patológico causado pela toxina. Concluindo, para que um anticorpo neutralize um antígeno, é necessário que ele se ligue numa região estratégica, de forma que bloqueie a interação do antígeno com o seu receptor.

A neutralização de antígenos por anticorpos requer somente a ligação deles em epítomos estratégicos. Conseqüentemente, a neutralização pode ser mediada por anticorpos de qualquer isotipo. Geralmente os anticorpos neutralizantes presentes na circulação são do tipo IgG e nas mucosas a IgA. Em geral, são anticorpos de alta afinidade. Esses anticorpos são muito importantes no combate e profilaxia de algumas doenças. Veja no **Quadro 16.2** alguns exemplos de vacinas profiláticas que induzem anticorpos neutralizantes de alta afinidade.

Quadro 16.2: Imunidade humoral induzida por vacinas

Doença Infeciosa	Vacina	Mecanismo de imunoproteção
Poliomielite	Vacina oral com vírus Polio atenuado.	Neutralização do vírus pela IgA nas mucosas.
Tétano e difteria	Toxóides (toxina inativada).	Neutralização da toxina pela IgG sistêmica (circulante).
Hepatite A ou B	Proteína recombinante do envelope viral.	Neutralização do vírus pela IgG sistêmica.
Pneumonia pneumocócica e <i>Haemophilus</i>	Vacina conjugada composta por proteínas e polissacarídeos da cápsula bacteriana.	Pneumonia pneumocócica e <i>Haemophilus</i> . Vacina conjugada composta por proteínas e polissacarídeos da cápsula bacteriana. Opsonização e fagocitose mediada pela IgM e IgG e ativação do sistema complemento.

Opsonização mediada por anticorpos

Os anticorpos neutralizantes podem proteger o indivíduo contra alguns antígenos, como já falamos. Entretanto, não resolve, *per se*, o problema da remoção do patógeno do corpo. Além disso, anticorpos não neutralizantes, que se ligam aos patógenos, podem participar, também, da destruição desses organismos pela sua fração Fc. A região Fc dos anticorpos, pode associar-se a outros mecanismos efetores do sistema imune, tais como fixar o complemento pela via clássica ou se ligar a receptores de Fc de células, como por exemplo macrófagos, neutrófilos, células NK, eosinófilos, basófilos e mastócitos.

Você viu, na Aula 2, sobre imunidade inata, que a fagocitose pode acontecer pela ligação dos PRRs (receptores para padrões de reconhecimento), presentes na superfície dos fagócitos, aos PAMPs (padrões moleculares associados aos patógenos), presentes na superfície dos patógenos. Entretanto, quando o micróbio está recoberto (opsonizado) por anticorpos da classe IgG ou fragmentos do complemento C3b e C4b resulta uma fagocitose muito mais eficiente. Fagócitos mononucleares e neutrófilos expressam receptores para a porção Fc dos anticorpos IgG e receptores CR1 para os fragmentos do complemento. Veja na **Figura 16.3.a** como os anticorpos ligados ao microrganismo medeiam a fagocitose do mesmo. Observe que a fração Fab se liga ao antígeno e a fração Fc se liga ao receptor de Fc, denominado Fc γ RI (receptor um da Fc de cadeia gama), na superfície do fagócito. Veja no **Quadro 16.2** que existem três tipos de receptores de Fc γ (Fc de cadeia gama) e dois tipos de receptores Fc ϵ (Fc de cadeia épsilon). Esses receptores estão associados a diferentes funções celulares e estão presentes na superfície das várias células do sistema imune. Na **Figura 16.3.b**, veja que a opsonização e a fagocitose mediadas pelos componentes C3b e C4b do complemento acontecem de forma similar ao que acontece com os anticorpos (Aula 7 – Sistema Complemento).

A opsonização não só aumenta expressivamente a taxa de fagocitose (número de partículas ingeridas pelo fagócito), como também pode elevar a capacidade microbicida do fagócito pela ativação da célula fagocitária.

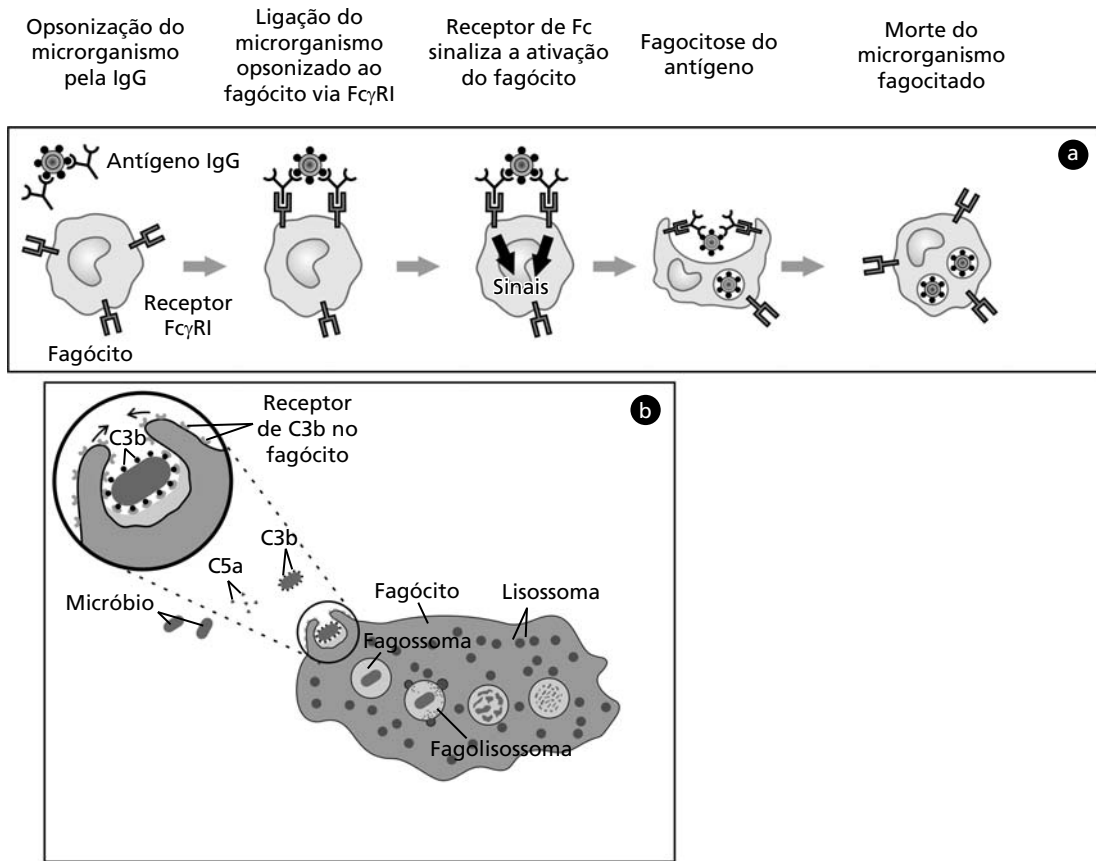


Figura 16.3: Fagocitose de antígenos opsonizados. Observe que, em (a), o microrganismo está opsonizado por anticorpos, enquanto, em (b), a opsonização é feita pelo componente C3b do sistema complemento. Além disso, veja que são envolvidos vários receptores durante o processo de fagocitose.

Quadro 16.3: Receptores de Fc presentes nas células do sistema imune

Receptor de Fc	Afinidade pela imunoglobina	Distribuição celular	Funções
Fc γ RI (CD64)	Alta afinidade principalmente IgG1 e IgG3.	Macrófagos, neutrófilos e eosinófilos.	Fagocitose, ativação de macrófagos.
Fc γ RIIA (CD32)	Baixa afinidade.	Macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e plaquetas.	Fagocitose, ativação celular (ineficiente).
Fc γ RIIB (CD32)	Baixa afinidade.	Linfócitos B.	Feedback negativo da ativação de linfócitos B.
Fc γ RIIIA (CD16)	Baixa afinidade.	Células NK.	Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos.
Fc γ RIIIB (CD16)	Baixa afinidade. Ligados por âncora de GPI.	Neutrófilos e outras células.	Fagocitose (ineficiente).
FceRI	Alta afinidade para IgE.	Mastócitos, basófilos e eosinófilos.	Ativação celular (desgranulação).

Ainda na **Figura 16.3**, observe que a fagocitose da partícula opsonizada envolve o engajamento de várias moléculas de anticorpos e receptores que resulta na formação de um complexo multimérico, ou seja, o *cross-linking* de vários receptores simultaneamente. Este fato é particularmente importante para que a célula fagocítica diferencie a ligação em seus receptores de anticorpos livres daqueles que estão formando complexos com antígenos. Pois o engajamento desses receptores e a fagocitose resultam na ativação celular. A fagocitose leva à formação do fagossoma e subsequente fusão deste com os lisossomas, formando o fagolisossoma. Essa fusão resulta na liberação das enzimas lisossomais no interior da vesícula fagolisossomal, que tem a função de destruir os micróbios ingeridos. Além disso, a ativação dos fagócitos, macrófagos e neutrófilos, pode levar à produção de uma série de produtos tóxicos. Este processo é denominado explosão respiratória e aumenta a sua capacidade microbicida. Dentre estes, podemos citar os reativos intermediários de oxigênio, ROI (do Inglês – *reactive oxygen intermediate*), que englobam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido (O_2^-); os reativos intermediários de nitrogênio, representados principalmente pelo óxido nítrico, também conhecido por NO do inglês *nitric oxide*. Todos estes compostos são diretamente tóxicos às bactérias e protozoários intracelulares. Dentro dos fagolisossomas o NO pode se combinar com o peróxido de hidrogênio ou com o superóxido e dar origem aos peroxinitritos que são radicais altamente reativos e com elevada atividade microbicida. Uma consequência indesejável da ativação desses fagócitos é que as enzimas e os radicais tóxicos produzidos por eles, podem ser liberados para o microambiente extracelular onde a célula está presente e pode causar danos aos tecidos adjacentes. Puxa! Quer dizer então que uma resposta imune desencadeada contra um antígeno pode também prejudicar o hospedeiro? Sim, infelizmente isso acontece e com uma frequência muito maior do que você possa imaginar! A este fenômeno denominamos reações de hipersensibilidade como veremos detalhadamente na Aula 17.

CITOTOXICIDADE CELULAR DEPENDENTE DE ANTICORPOS

As células infectadas podem ser normalmente destruídas por células T citotóxica, que reconhecem o peptídeo estranho apresentado

pela molécula de MHC de classe I. Entretanto, células infectadas por vírus, por exemplo, podem sinalizar a presença de infecção intracelular expressando proteínas virais na sua superfície, que podem ser reconhecidas por anticorpos. Estas células recobertas por anticorpos na sua superfície são reconhecidas pelas células NK via receptor de Fc, o Fc γ RIIIA (CD16). Veja o **Quadro 16.3** e a **Figura 16.4**. Assim, a célula NK desencadeia o ataque citotóxico à célula-alvo recoberta por anticorpos. Este fenômeno é denominado citotoxicidade celular dependente de anticorpos, também conhecida pela sigla ADCC (do Inglês – *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*). O mecanismo de ataque à célula-alvo envolve a liberação de grânulos citoplasmáticos contendo perforinas e granzimas. Este mecanismo é análogo ao que a célula T citolítica utiliza para destruir a célula-alvo, como você verá mais adiante.

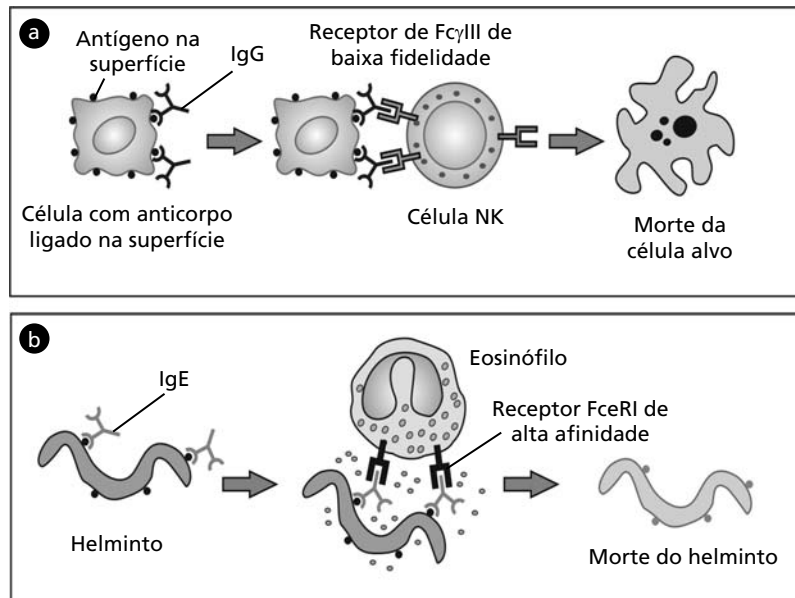


Figura 16.4: Citotoxicidade celular dependente de anticorpos. (a) Observe que a célula-alvo apresenta antígenos (originados de infecções intracelulares ou tumorais) na sua superfície e que são reconhecidos por anticorpos. A Fc desses anticorpos se liga a receptores de Fc γ de células NK que se ativam e induzem a morte da célula-alvo. (b) Um processo similar, envolvendo IgE e eosinófilos.

Um outro tipo de ADCC pode ser desencadeado pelos eosinófilos contra os helmintos. Os helmintos são vermes grandes que não podem ser englobados pelos fagócitos, e os seus tegumentos externos são relativamente resistentes aos produtos microbicidas de neutrófilos e macrófagos. Entretanto, eles podem ser mortos pelas proteínas básicas presentes nos grânulos dos eosinófilos. Observe na **Figura 16.4** um

helminto recoberto por anticorpos IgE. Os eosinófilos, via receptor FcεRI (Quadro 16.3), ligam-se ao Fc dos anticorpos IgE, que por sua vez, estão ligados à superfície do helminto. Essa ligação dos receptores FcεRI, desencadeia a liberação do conteúdo dos grânulos do eosinófilo sobre o helminto, o que resulta na morte do parasita.



ATIVIDADE

2. Um pesquisador para estudar a fagocitose de leveduras por macrófagos de camundongos, colheu macrófagos do peritônio de camundongos e colocou em placas de cultura com os meios adequados e fez os seguintes tratamentos:

a. na placa A, ele adicionou uma suspensão de levedura, e posteriormente contou, com o auxílio de um microscópio óptico, o número de leveduras fagocitadas pelos macrófagos. Ele contou a média de uma a duas leveduras fagocitadas por macrófago;

b. na placa B, ele tratou as leveduras com IgG de camundongo antilevedura e, em seguida, adicionou-os à cultura de macrófagos. Ao contar o número de leveduras fagocitadas, ele observou que houve um incremento significativo de leveduras fagocitadas, ou seja, uma média de 4 a 5 leveduras fagocitadas por célula;

c. na placa C, ele utilizou a mesma IgG de camundongo antilevedura, porém tratada com pepsina, e fez o mesmo procedimento da placa B. Quando ele contou o número de leveduras fagocitadas, ele percebeu que o resultado foi similar ao experimento da placa A.

Justifique os resultados obtidos da placa B e C. Esta atividade corresponde ao segundo objetivo dessa aula, portanto, capriche!

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu que, na placa B, a fagocitose aumentou porque as leveduras foram opsonizadas pelos anticorpos e, conseqüentemente, a fagocitose pelos macrófagos aumentou; enquanto na placa C, a fagocitose foi similar à placa A porque não houve opsonização, pois a Fc dos anticorpos foi retirada pelo tratamento enzimático, parabéns você acertou! Se você errou, reveja o conceito acerca do tratamento de anticorpos com as enzimas papaína e pepsina (Aula 7) e o conceito de opsonização desta aula. Se ainda assim você tiver dúvidas, não deixe de consultar os tutores da disciplina.

MECANISMOS EFETORES DA IMUNIDADE CELULAR

De uma forma geral, a imunidade mediada por células é aquela que não envolve anticorpos, mas envolve a ativação de células, tais como macrófagos, células NK, linfócitos T e outras. Esse conceito de imunidade celular é um pouco mais amplo do que aquele que definimos no início desta aula que é baseado nas células T, por ser a principal célula envolvida na imunidade celular. Entretanto, já deu para perceber que esta divisão é muito mais didática e histórica do que funcional, pois alguns mecanismos efetores da imunidade envolvem tanto componentes humorais como celulares, como por exemplo a ADCC. Na maioria das vezes, tanto a imunidade humoral quanto a celular é ativada frente a um dado estímulo antigênico e as duas podem atuar em conjunto na eliminação do antígeno.

Didaticamente podemos, então, dividir a imunidade mediada por células em:

1. mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th1;
2. mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th2;
3. imunidade celular mediada por células T CD8 citotóxico.

Antes de começarmos a falar dos mecanismos efetores da imunidade celular, vamos ver de uma maneira bem simplificada como se processa a resposta imune desde a entrada do antígeno no organismo? Isso é importante para que você tenha uma visão mais integrada dos vários elementos da resposta imune que vimos até agora. Acompanhe pelo esquema da **Figura 16.5**. Ele ilustra um antígeno que conseguiu vencer a barreira epitelial e cair nos tecidos adjacentes. Veja que os antígenos livres ou fagocitados pelas células dendríticas são carregados através dos vasos linfáticos até o linfonodo regional. No linfonodo, os linfócitos são ativados e se proliferam, ou melhor, expandem clonalmente. As células T são ativadas pelo antígeno processado e apresentado pelas células dendríticas. As células B que capturam antígenos via o BCR, também processam e apresentam antígenos às células T. A partir dessa interação B e T, as células B são efetivamente ativadas. Assim, os linfócitos B ativados se diferenciam em células efetoras, plasmócitos, e produzem anticorpos que chegam aos tecidos inflamados para combater os antígenos. As células T ativadas deixam o linfonodo pelo vaso linfático eferente e caem na circulação sanguínea pelo ducto

torácico. E é pela via sanguínea que esses linfócitos T efetores chegam ao tecido inflamado para desempenhar as suas funções efetoras contra o agente estranho. Uma pequena parcela dessas células B e T se estabelece como células de memória. Você percebeu que, neste breve relato de como se processa uma resposta imune contra um antígeno, você aplicou quase todos os conceitos que vimos até agora? Temos a certeza que sim. Então, agora, procure fazer um exercício mais aprofundado acerca desse assunto. Olhe novamente para a **Figura 16.5** e identifique os conceitos que já apresentamos nas aulas anteriores e procure integrá-los de uma maneira mais detalhada. Certamente você terá algumas ou várias dúvidas. Não se preocupe. Isso é esperado, e é um bom indicativo de que você está conseguindo acompanhar adequadamente a nossa disciplina. Procure resolvê-las. Caso você não consiga, procure a tutoria da disciplina.

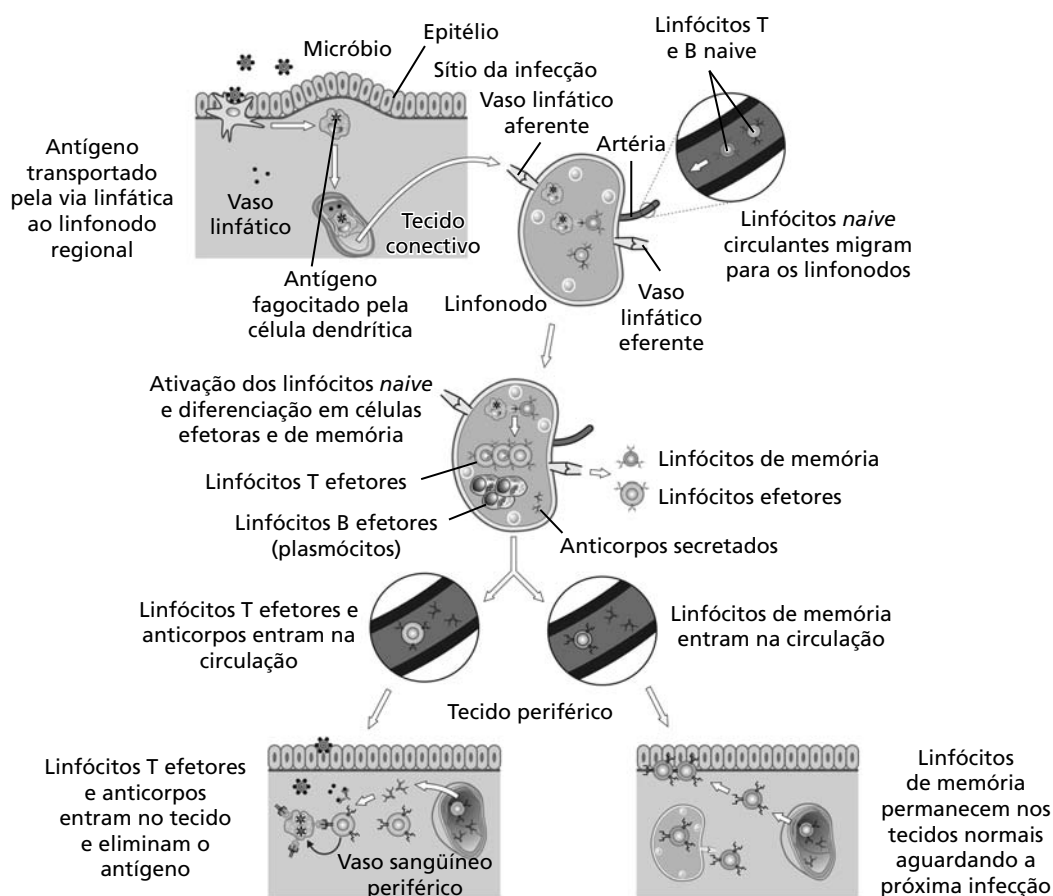


Figura 16.5: Figura esquemática de uma visão geral e simplificada da resposta imune *in vivo*. Esta figura apresenta os eventos mais importantes da resposta imune contra um microrganismo no linfonodo. Em outros órgãos a resposta imune se processa de maneira similar.

Mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th1

Você viu na Aula 15 que as células T CD4, ao serem ativadas, se diferenciam em linfócitos do tipo Th1 ou Th2 a partir do mesmo precursor T CD4 naíve, e que essa diferenciação é determinada pelo padrão de citocinas presentes no microambiente onde ela se ativa. A presença da IL-12 no sítio de ativação da célula T CD4 determina a diferenciação dessas células em T CD4 Th1 que se caracteriza principalmente pela produção de IFN- γ . O padrão Th2 se caracteriza pela produção de uma grande quantidade de IL-4 e IL-5 e o seu estabelecimento é dependente da IL-4.

A diferenciação de células T CD4 Th1 é estimulada por algumas bactérias intracelulares, tais como, *Listeria* (agente etiológico da listeriose), *Mycobacterium* (agente causal da tuberculose) e alguns protozoários, como por exemplo, *Leishmania*. Todos esses microrganismos infectam macrófagos. O padrão Th1 também é induzido por alguns vírus e antígenos protéicos associados a **ADJUVANTES** fortes quando administrados a animais. O ponto comum a todos esses antígenos é que eles estimulam a produção da IL-12 na imunidade inata, mais especificamente pelos macrófagos. Lembre-se de que a IL-12 é a citocina precursora do padrão Th1, ou melhor, determinante. Alguns micróbios induzem a produção da IL-12 nos macrófagos e células dendríticas pelo engajamento dos receptores do tipo Toll dessas células, como por exemplo o receptor para LPS, que pode ser visto na Figura 16.6a. Falamos desse receptor na Aula 02. Se tiver dúvidas reveja essa aula. Outros micróbios induzem a produção da IL-12 de forma indireta. Como por exemplo os antígenos intracelulares que ativam células NK. As células NK ativadas podem produzir uma grande quantidade de IFN- γ , que por sua vez, vai ativar macrófagos, e estes ativados produzem a IL-12. Veja na Figura 16.6a. Uma outra forma de induzir a produção da IL-12, é quando, na interação do linfócito T com a APC ocorre a ligação do CD40L da célula T com o CD40 da APC. Essa ligação induz a transcrição do gene que codifica a IL-12.

Observe na **Figura 16.6.b** que a célula T CD4, ao ser ativada por uma APC infectada, e na presença de IL-12, se diferencia em células Th1 e prolifera. As células Th1 produzem uma grande quantidade de IFN- γ , linfotóxina (LT) e TNF (fator de necrose tumoral, do inglês

ADJUVANTE

É uma substância (por exemplo: adjuvante de Freund, hidróxido de alumínio, LPS bacteriano etc) que aumenta de forma não específica a resposta imune contra o antígeno. É largamente utilizada em vacinas inativadas.

– *tumor necrosis factor*). A LT e o TNF ativam os neutrófilos e aumentam a sua capacidade microbicida. Nas células B ativadas, o IFN- γ induz à produção de anticorpos opsonizantes e fixadores de complemento. Nos macrófagos, por ser uma célula que desempenha diversas funções na resposta imune, atuando, inclusive, na interface da imunidade inata com a imunidade adaptativa, o IFN- γ aumenta várias de suas funções:

1. a motilidade celular;
2. a capacidade fagocítica;
3. a produção de superóxido e peróxido de hidrogênio;
4. a produção de NO (óxido nítrico);
5. o conteúdo enzimático dos lisossomas;
6. a expressão de moléculas do MHC;
7. a produção de fatores do complemento;
8. a produção de prostaglandinas e outros mediadores lipídicos;
9. a produção de citocinas (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-12);
10. a capacidade de processamento e apresentação de antígenos;
11. a capacidade microbicida e tumoricida.

Veja que interessante a forma como esses elementos da resposta imune se integram perfeitamente. Alguns antígenos, com já vimos, induzem a produção da IL-12 nos macrófagos. Essa citocina atua nas células T helper e induz a sua diferenciação em células do tipo Th1 que produz uma grande quantidade de IFN- γ . O IFN- γ , por sua vez, atua nos macrófagos ativando-os, formando, assim, um circuito de retroalimentação positiva na ativação da imunidade celular.

Agora, no final do esquema da **Figura 16.5**, veja que esse processo de ativação do macrófago pelo IFN- γ produzido pela célula Th1 acontece no tecido infectado. A ativação dos macrófagos é extremamente importante contra os microrganismos intracelulares. Entretanto, quando essa resposta é exagerada leva à injúria do tecido local. A essa resposta inadequada denominamos DTH - reação de hipersensibilidade tardia (do inglês – *delayed-type hypersensitivity*) que veremos numa aula mais à frente quando trataremos das reações de hipersensibilidade.

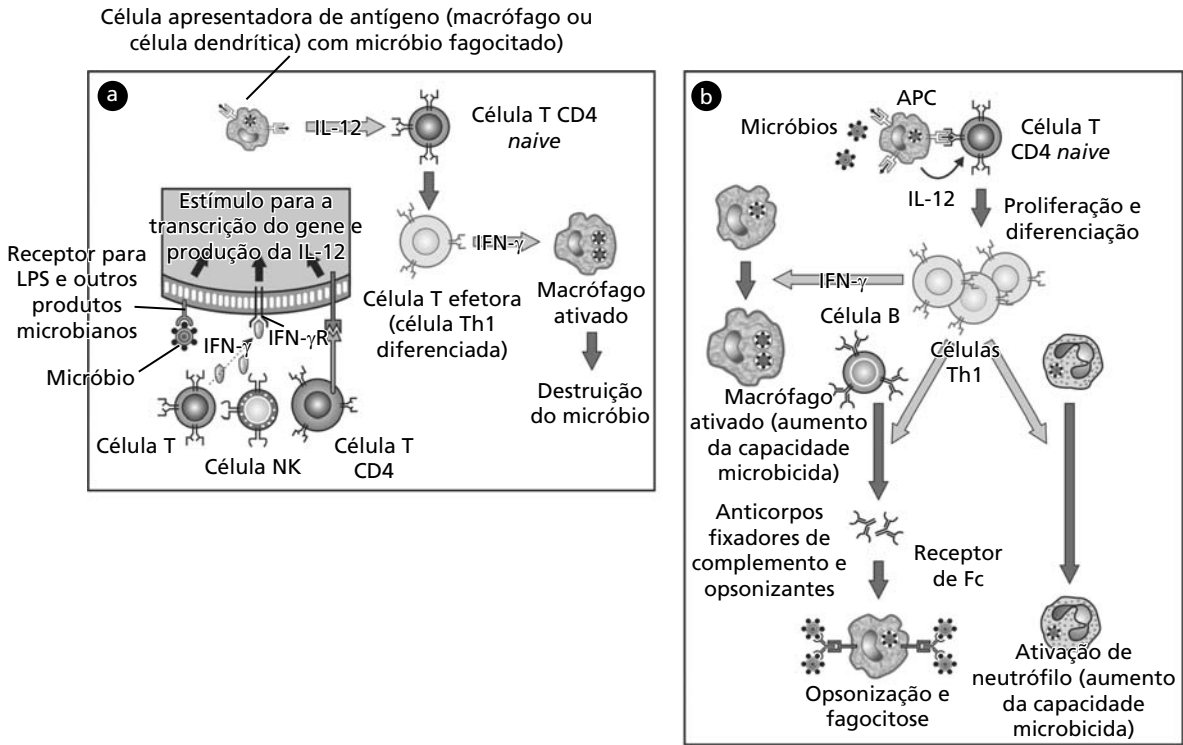


Figura 16.6: Imunidade mediada por células Th1. (a) – Os vários estímulos que levam a APC a produzir IL-12, citocina precursora do padrão Th1. (b) – Funções efetoras das células Th1.

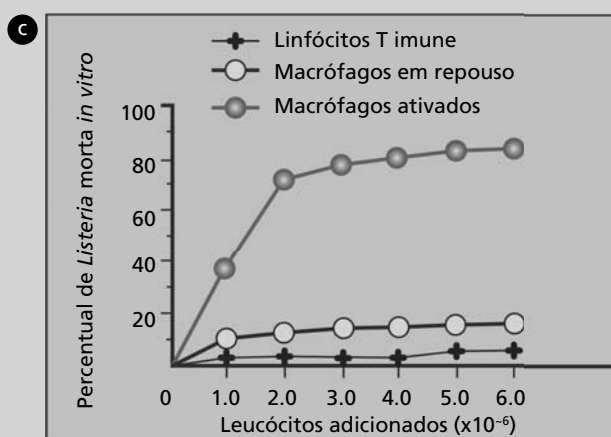
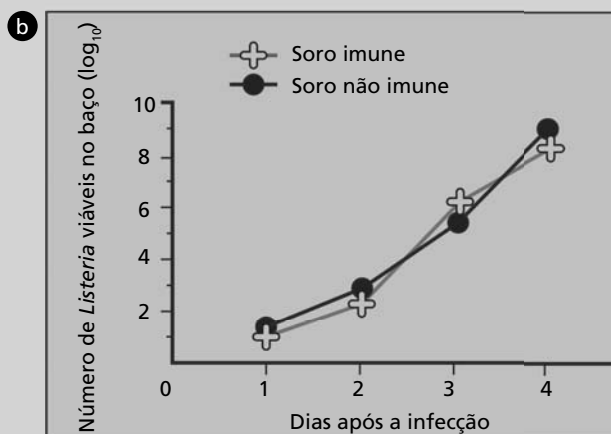
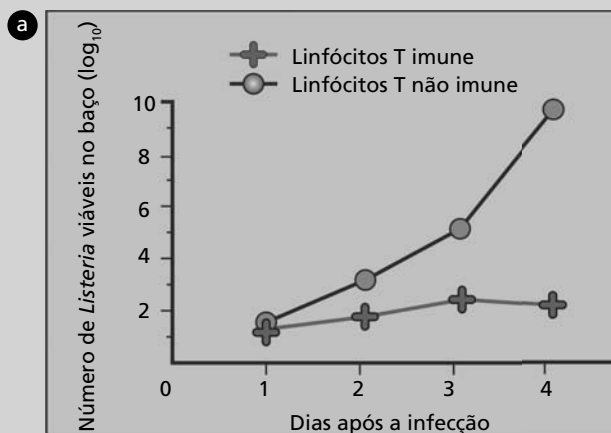
ATIVIDADE



3. Um infectologista, para entender a resposta imune contra a bactéria *Listeria monocytogenes*, realizou alguns experimentos preliminares e percebeu que camundongos imunizados com uma pequena dose de *Listeria* tornavam-se resistentes a desafios, ou seja, exposições posteriores com uma dose maior e letal da mesma bactéria. Para entender o tipo de resposta imune e as células envolvidas, ele realizou os seguintes experimentos:

- colheu linfócitos T de camundongos imunizados e os transferiu para outros camundongos não imunizados. O grupo controle desse experimento recebeu linfócitos T de camundongos não imunizados. A seguir, desafiou os dois grupos de animais com uma dose letal de *L. monocytogenes*. Durante 4 dias, após o desafio, ele colheu uma amostra do baço dos animais e contou o número de bactérias viáveis nesse órgão. Veja esse resultado no gráfico A;
- repetiu o experimento A, porém, ao invés de linfócitos T ele transferiu soro. Os resultados desse experimento estão plotados no gráfico B;
- colheu macrófagos e linfócitos T ativados dos animais imunizados e macrófagos não ativados de animais não imunizados. Essas três células foram incubadas *in vitro* com a *Listeria*, e em seguida, a viabilidade das

bactérias foram avaliadas. Os resultados você pode ver no gráfico C. O que você pode concluir a partir da análise desses gráficos? Ao concluir esta atividade você terá atingido com sucesso uma parte do terceiro objetivo dessa aula. Vamos lá, não desanime!



RESPOSTA COMENTADA

*A análise dos gráficos A e B em conjunto permite concluir que a resposta imune contra a *Listeria* não é humoral e sim celular, e sugere também que os linfócitos T são as células responsáveis pela resposta imune protetora contra *L. monocytogenes*. Entretanto, ao analisarmos o gráfico C, podemos ver claramente que as células efetoras contra a *Listeria* são os macrófagos. Se você chegou a esta conclusão, parabéns! Você acertou. Mas se você errou vamos entender por quê? – Espere aí! Mesmo acertando há uma coisa que não está clara! Por que, no experimento A, os linfócitos T transferidos aos animais não imunizados conferiram proteção a eles?*

*Muito bem, então vamos entender essa questão também. Vamos começar pelo gráfico C. Nele podemos ver claramente que as células responsáveis pela morte da bactéria são os macrófagos. No experimento A, os linfócitos transferidos estão ativados e certamente no padrão Th1. Assim, os animais que receberam essas células, ao serem desafiados com a bactéria, induziram a produção do IFN- γ que ativou eficientemente os macrófagos que destruíram as bactérias. Além disso, já vimos que a *Listeria* induz a produção da IL-12 pelos macrófagos e que IL-12 é uma citocina determinante do padrão Th1. Assim, dá para concluir também que as células T dos animais imunizados estavam diferenciadas no padrão Th1.*

Mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th2

A diferenciação de células T CD4 em Th2 ocorre geralmente em resposta a helmintos e alérgenos que causam uma estimulação crônica de células T, freqüentemente sem uma ativação consistente da imunidade inata ou de macrófagos. Como já vimos, o padrão Th2 se caracteriza pela produção das citocinas IL-4, IL-5 e IL-10, sendo que a IL-4 é determinante na diferenciação do padrão Th2. Esse fato levanta uma questão interessante que é o seguinte: durante o desenvolvimento de uma resposta imune contra antígenos protéicos, a principal fonte da

IL-4 são as próprias células Th2. Então qual seria a fonte da IL-4 antes do estabelecimento das células Th2? Ou seja, é necessária a presença da IL-4 durante a diferenciação das células Th2. Como elas ainda não se diferenciaram não produzem a IL-4. Então, qual seria fonte inicial de IL-4? Bem, esse problema ainda não está totalmente esclarecido. Contudo, existem algumas possíveis explicações. Uma possível explicação é que células T CD4, ao serem antígenicamente estimuladas, secretam uma pequena quantidade de IL-4 na fase inicial de ativação. E a manutenção do direcionamento para a resposta tipo Th2 depende de alguns fatores, tais como a persistência e a concentração elevada do antígeno e a não produção da IL-12. Esses fatos justificam a resposta Th2 contra os helmintos e alérgenos ambientais, que estimulam as células T de forma persistente ou repetida, com uma pequena inflamação ou baixa ativação de macrófagos. Outros estímulos também podem influenciar o padrão de diferenciação de células T helper. Esses estímulos incluem a quantidade de antígeno e os co-estimuladores expressos na superfície das APCs. Além disso, o background genético do indivíduo é um fator importante na diferenciação do padrão de células T helper. Vamos ver alguns exemplos para que isso fique mais claro. Certas linhagens de camundongos isogênicos desenvolvem resposta do tipo Th2, enquanto outras desenvolvem repostas do tipo Th1 ao serem desafiados com o mesmo antígeno. Um outro exemplo é uma pessoa muito alérgica denominada atópica que convive com outras pessoas não alérgicas no mesmo ambiente. Importante ressaltar que a alergia é uma reação de hipersensibilidade do tipo I mediada pela IgE, e será vista numa aula mais adiante.

Na **Figura 16.7** podemos ver as principais funções efetoras mediadas pelas células Th2. A IL-4, produzida por essas células, induz os linfócitos B ativados a produzirem anticorpos neutralizantes e inibe a produção de anticorpos opsonizantes, cuja função efetora você já viu. E também a síntese de IgE pode atuar sobre os helmintos pelo mecanismo de ADCC, envolvendo os eosinófilos ativados pela IL-5, sobre os quais também já falamos. Uma outra função da IgE, é um efeito indesejado da resposta imune pelo qual ela é muito mais conhecida, a reação alérgica. Essa reação é resultante da sua ligação pela Fc na superfície de mastócitos que desencadeia uma reação inflamatória indesejada ao ligar o alérgeno (como são conhecidos os antígenos que induzem alergia). Esse assunto será visto com mais detalhes na aula de hipersensibilidade. Ainda na

Figura 16.7, veja que as citocinas IL-4 e principalmente IL-10 e IL-13 suprimem a ativação de macrófagos, ou seja, suprimem a ação efetora dessas células antagonizando a ação do IFN- γ . De uma maneira geral, podemos ver que existe um antagonismo recíproco entre as funções efetoras de células Th1 e Th2.

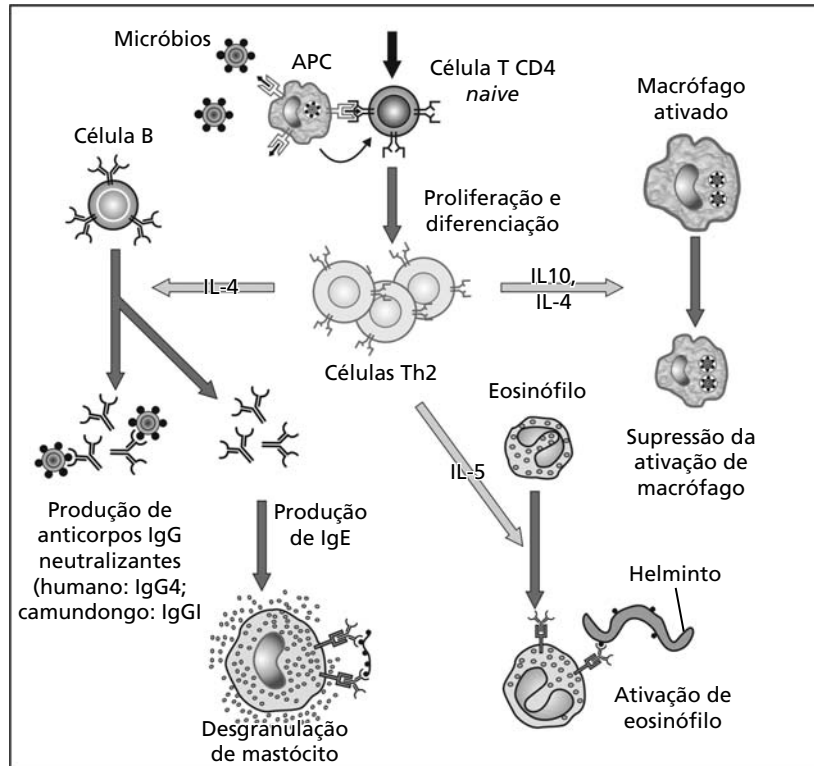


Figura 16.7: Ilustração representativa dos mecanismos efetores da imunidade mediada por células Th2.

Imunidade celular mediada por células T CD8

Células T CD8 naiva, ao se ativarem, se diferenciam em CTLs (células T citolíticas, do inglês – *cytotoxic T lymphocyte*), as células T efetoras que reconhecem e matam células-alvo que expressam antígenos peptídicos em associação com as moléculas do MHC de classe I. Em aulas anteriores, já vimos como é o receptor da célula T CD8, como ela reconhece o antígeno, e como se ativa o linfócito T. Agora, então, só falta entender como ela atua na resposta imune! Não é mesmo?

O citoplasma das células não fagocíticas ou fora do fagossoma das células fagocíticas poderia ser considerado o “paraíso” dos microrganismos intracelulares, pois antígenos localizados nessas regiões não podem ser acessados por anticorpos e nem por fagócitos ativados. A única forma de eliminar uma infecção estabelecida no citoplasma de uma célula é eliminando essa célula, e essa é a função das células T citolíticas.

A diferenciação do linfócito T CD8 em CTL envolve a aquisição de mecanismos para induzir a morte da célula-alvo. Dentre eles incluem-se a formação de grânulos citoplasmáticos, contendo perforinas e granzimas que são proteínas importantes na indução da lise da célula-alvo, ligados à membrana celular. Além disso, as CTLs diferenciadas produzem citocinas, principalmente IFN- γ , linfotóxica e TNF que atuam ativando fagócitos e induzindo inflamação. De maneira geral, a indução da morte da célula-alvo pela CTL consiste no reconhecimento do antígeno, na ativação e no desfecho do “golpe letal” que mata a célula-alvo e libera a CTL.

Reconhecimento do antígeno e ativação da CTL

O primeiro sinal para a ativação de linfócitos CD8 é dado pelo seu TCR que reconhece o peptídeo apresentado pela molécula do MHC de classe I e a ligação da molécula acessória CD8 à região constante do MHC, como já vimos. O segundo sinal pode ser dado pelas moléculas de adesão, tais como o par ligante LFA-1 (do Inglês – leukocyte function antigen –1) no linfócito T e a molécula ICAM-1 (do Inglês – *intercellular adhesion molecule* –1), ou pelas citocinas. Esses sinais são fundamentais para a diferenciação da célula T CD8 naive em CTL ativa. Entretanto o segundo sinal não é necessário para disparar a função efetora da CTL, ou seja, para matar a célula-alvo. Conseqüentemente, quando uma CD8 naive, específica para um antígeno, se diferencia em uma CTL ativa, ela pode matar qualquer célula que apresente o peptídeo antigênico associado à molécula de MHC de classe I. Importante ressaltar que a ativação dos linfócitos T acontece, principalmente, nos órgãos linfóides e, uma vez ativada, essas células caem na circulação e podem migrar para todos os tecidos. Lembre-se de que todas as células nucleadas do nosso organismo apresentam a molécula de classe I do MHC. Assim, fica fácil concluir que todas essas células podem ser alvo de uma CTL ativada, desde que apresente o peptídeo específico associado à molécula do MHC de classe I.

Indução da morte da célula-alvo pela CTL

A interação específica da CTL e a célula-alvo, desencadeiam na CTL, um fenômeno conhecido como desgranulação da CTL. Nesta, os grânulos citoplasmáticos são conduzidos para área de interação entre as duas células e, em seguida, os grânulos se fundem com a membrana celular da CTL que resulta na liberação do conteúdo dos grânulos para o espaço intercelular formado entre as duas células. Veja na **Figura 16.8.a**. Alguns minutos após a desgranulação da CTL, a célula-alvo inicia um processo ativo que a levará à morte por apoptose. A CTL se desprende e está apta a reiniciar o processo caso encontre outra célula-alvo. Este fenômeno é denominado “golpe letal” ou também “beijo da morte”.

Os grânulos da CTL contêm uma série de substâncias, cuja ação conjunta é capaz de induzir à lise ou à apoptose da célula-alvo. Dentre essas substâncias, as perforinas e as granzimas são as principais. Essas proteínas estão presentes também nos grânulos da célula NK, cujo mecanismo de indução de morte é similar ao da CTL. Veja na **Figura 16.8.b**. As perforinas são proteínas que formam poros na membrana da célula-alvo. Elas estão em forma de monômero nos grânulos da CTL e, ao serem excitadas, isto é, liberadas dos grânulos, entram em contato com o cálcio extracelular e se polimerizam, preferencialmente, na membrana da célula-alvo formando um poro. Este fato, condiz com a sua estrutura, pois ela é muito semelhante ao componente C9 do sistema complemento. Dependendo do número de poros formados, a célula pode morrer por lise osmótica, devido ao influxo de água na célula. A apoptose pode ser causada por dois mecanismos:

1. pelo influxo do cálcio extracelular para o interior da célula. O aumento do cálcio intracelular dispara a morte por apoptose;
2. a entrada de granzimas para o interior da célula-alvo através dos poros formados na membrana da célula-alvo, como pode ser visto na **Figura 16.8.b**. As granzimas, mais especificamente, a granzima B, são serino-proteases que clivam e ativam um grupo de enzimas denominadas caspases que dão início ao processo de morte por apoptose.

Um outro mecanismo que a CTL utiliza para induzir a morte da célula-alvo por apoptose é a expressão da molécula ligante de Fas (FasL) ou CD95L na sua superfície que se liga na molécula Fas ou CD95 na superfície da célula-alvo. Veja na **Figura 16.8.c** que a ligação da molécula

de Fas na superfície da célula-alvo com o FasL da CTL dispara o sinal de indução de apoptose na célula-alvo. Algumas células T CD4 ativadas podem também induzir à morte celular por apoptose. O linfócito T CD4 não tem perforina nem granzima, entretanto tem a molécula FasL expressa na sua superfície. Assim, ela pode induzir à morte de células-alvo que expressem a molécula de Fas. Obviamente, essa célula-alvo deve também expressar o peptídeo antigênico associado à molécula de MHC de classe II.

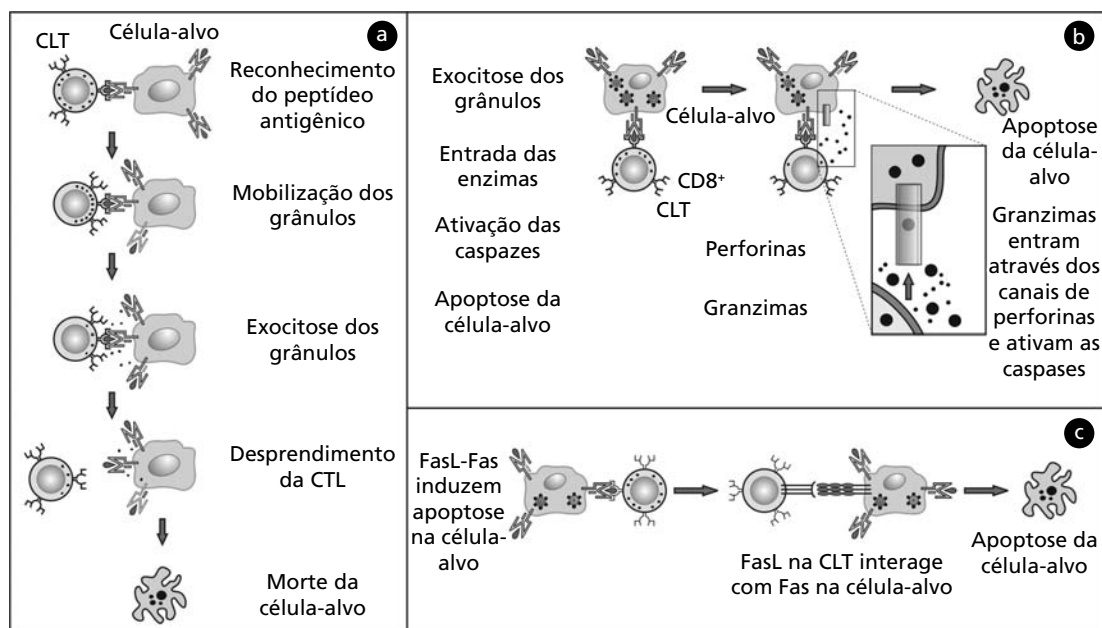


Figura 16.8: Imunidade celular mediada por células T CD8. A. Etapas da morte da célula alvo induzida pela CTL. B. Mecanismo de morte induzida por perforinas e granzimas B. C. Morte por apoptose induzida pela CTL via FasL e Fas.



ATIVIDADE

4. Correlacione, justificando as sentenças abaixo:

A- mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th1;

B- mecanismos efetores da imunidade celular mediada por células T CD4 Th2;

C- imunidade celular mediada por células T CD8 citotóxico.

1- () Morte da célula-alvo por apoptose induzida pela perforina e granzima B.

2- () Aumento da capacidade microbicida dos macrófagos.

3- () Supressão da ativação dos macrófagos.

4- () Citotoxicidade celular contra helmintos mediadas pela IgE e eosinófilos.

5- () Produção de anticorpos opsonizantes e fixadores do complemento.

6- () Após a sua ativação específica, pode matar qualquer célula que apresente o respectivo peptídeo associado à molécula dos MHC de classe I.

Ao concluir esta atividade, você terá atingido o terceiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu:

1C- As perforinas e as granzimas são os componentes principais dos grânulos das células T citolíticas e são responsáveis pela morte por lise ou apoptose da célula-alvo. Esse mecanismo de indução de morte também é utilizado pelas células NK.

2A- O IFN- γ , uma das principais citocinas produzidas pelas células T CD4 Th1, é a principal responsável pelo aumento da sua capacidade microbicida, aumento da capacidade fagocítica, aumento da expressão de moléculas do MHC entre outros fatores que caracterizam a sua ativação.

3B- Ao contrário do IFN- γ , a IL-10, uma das principais citocinas do padrão Th2 é responsável pela supressão dos macrófagos, ou seja, a IL-10 antagoniza a função do IFN- γ .

4B- A IL-5, uma outra citocina produzida pelas células Th2, é responsável pela ativação de eosinófilos que induz ADCC mediada pela

IgE contra os helmintos.

5A- A ação do IFN- γ , produzida pelas células Th1, sobre os linfócitos B induz a produção de anticorpos opsonizantes e fixadores de complemento.

6C- Os linfócitos T CD8, após a sua ativação nos órgãos linfóides periféricos, não necessitam do segundo sinal para induzir à morte da célula-alvo. Assim, todas as células nucleadas dos vertebrados podem ser alvos de CTLs, uma vez que expressam a molécula do MHC de classe I e todas são passíveis de infecção por parasitas intracelulares.

Se você acertou, parabéns! Se você errou, reveja os conceitos apresentados nesta aula e tente resolver essa atividade novamente. Certamente você não vai errar mais. Mas, caso você tenha alguma dúvida acerca de algum conceito desta aula, não deixe de procurar os tutores da disciplina.

CONCLUSÃO

Nesta aula, você aprendeu os principais mecanismos pelos quais o sistema imune se utiliza para dar combate aos antígenos, sejam eles organismos ou toxinas que se estabelecem no espaço intercelular ou intracelular e também as células de origem tumoral. Você viu, ainda, como a imunidade humoral e celular se integram para estabelecer as defesas do nosso corpo.

ATIVIDADE FINAL

Assinale (V) para as alternativas verdadeiras e (F) para as alternativas falsas. Justifique as alternativas falsas.

1. () Macrófagos fazem a interface entre a imunidade inata e a adquirida.
2. () As imunidades humoral e celular atuam independentemente na resposta imune.
3. () Anticorpos são capazes de neutralizar antígenos intracelulares e extracelulares.

4. () Receptor para LPS, IFN- γ produzido pelas células NK e a ligação do CD40 dos macrófagos ao CD40L dos linfócitos, são estímulos que induzem a síntese da IL-12 pelos macrófagos.
5. () Nos linfócitos B, a IL-4 induz a produção de anticorpos neutralizantes.

RESPOSTA COMENTADA

A resposta correta é: 1V, 2F, 3F, 4V, 5V. A afirmativa 2 está errada porque a imunidade humoral e a celular podem atuar em conjunto para combater um determinado antígeno. Um exemplo típico desse fato é a ADCC e a opsonização de antígenos por anticorpos. A assertiva 3 está errada por que os anticorpos não têm acesso aos antígenos intracelulares. Se você acertou, parabéns. Mas se você errou, é importante que você reveja os conceitos apresentados nesta aula. Se você tiver dúvida consulte os tutores da disciplina.

RESUMO

A imunidade humoral atua, principalmente, contra os antígenos extracelulares. Ela pode bloquear a interação do antígeno com a célula-alvo, como também pode aglutinar e opsonizar o antígeno. Entretanto, ela necessita de células efetoras para eliminar os imunocomplexos formados. A imunidade celular do tipo Th1 atua aumentando a ação efetiva da resposta celular contra os patógenos, principalmente dos macrófagos, que têm suas atividades fagocíticas e microbidas aumentadas e outros. As CTLs são mais efetivas contra os agentes infecciosos que sobrevivem dentro do citoplasma das células. Essas células atuam induzindo a lise ou apoptose da célula-alvo, pela ação das perforinas e granzimas liberadas.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula iremos tratar das reações de hipersensibilidade, que são reações indesejadas decorrentes de uma resposta imune inadequada, como por exemplo as alergias. Veremos que nem sempre uma resposta imune é favorável ao hospedeiro. Até lá.

Reações de hipersensibilidade

AULA 17

Meta da aula

Apresentar os mecanismos imunológicos das reações de hipersensibilidade e as suas conseqüências patológicas.

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- descrever os eventos imunológicos associados à reação de hipersensibilidade do tipo I, II e III mediada por anticorpos e as suas conseqüências patológicas;
- definir os mecanismos imunológicos envolvidos na reação de hipersensibilidade do tipo IV e as suas conseqüências patológicas.

Pré-requisitos

Para que você possa entender bem essa aula é importante que tenha claro os conceitos de anticorpos, sistema complemento, ativação de células T e B, citocinas, inflamação e mecanismos efetores da imunidade celular e humoral.

INTRODUÇÃO

A resposta imune mobiliza uma série de moléculas e células atuantes no combate e na remoção dos antígenos que invadem o corpo, cujos mecanismos você já viu em aulas anteriores. Geralmente, os mecanismos efetores induzem a uma resposta inflamatória localizada, o que resulta na eliminação do antígeno sem danos teciduais graves. Entretanto, em certas situações, a resposta inflamatória pode ser severa e resultar em danos teciduais consideráveis ou até mesmo na morte do tecido e, em alguns casos, até na morte do indivíduo. A essa resposta imune inadequada denominamos hipersensibilidade ou alergia. Embora o termo hipersensibilidade implique em uma resposta exacerbada, nem sempre a resposta imune que resulta em uma reação de hipersensibilidade é tão exagerada, mas sim, uma resposta imune inadequada a um dado antígeno.

A habilidade do sistema imune em responder de forma inadequada a um desafio antigênico foi descrita no início do século XIX por dois cientistas franceses, Paul Portier e Charles Richet. Eles estudaram as ações de toxinas isoladas de caravelas-portuguesas, um tipo de água-viva. Esses cientistas injetaram a toxina purificada em cachorros e, quando administraram nos animais uma segunda dose da toxina para aumentar a produção de anticorpos, foi observada uma reação desastrosa. Imediatamente após a injeção os animais apresentaram vômito, diarreia, asfixia e, em alguns casos, morte. Claramente os animais “super-reagiram” ao antígeno. Portier e Richet utilizaram o termo anafilaxia (do latim ana = contra; filaxis = proteção) uma alusão contrária ao termo profilaxia. **CHARLES RICHEL** foi o ganhador do prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1913 por esse trabalho. O termo anafilaxia ou reação anafilática é correntemente empregado para denominar a reação de hipersensibilidade imediata mediada por anticorpo. Esta reação é assim denominada porque acontece entre alguns minutos a algumas horas após o contato do paciente sensibilizado e o antígeno. Você certamente é ou conhece alguém que seja alérgico a alguma coisa, como por exemplo, frutos do mar, mofo, ácaros, antibiótico etc, não é mesmo? Você não está curioso (a) para saber como acontece essa reação? Certamente que sim! Então se prepare! Nesta aula, vamos entender como são as reações de hipersensibilidade e quais os mecanismos imunológicos que estão envolvidos nessas doenças.



CHARLES RICHEL
(1850 – 1935)


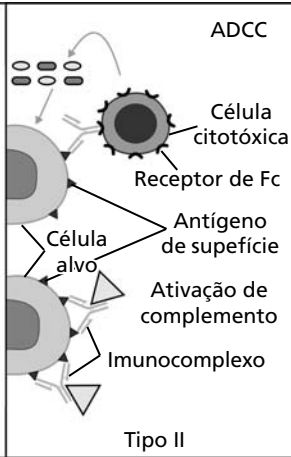
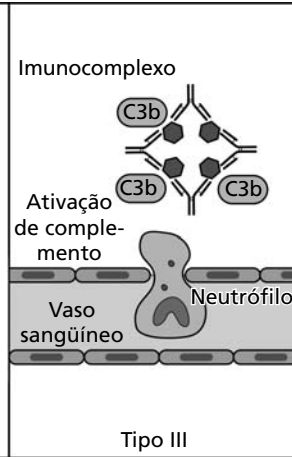
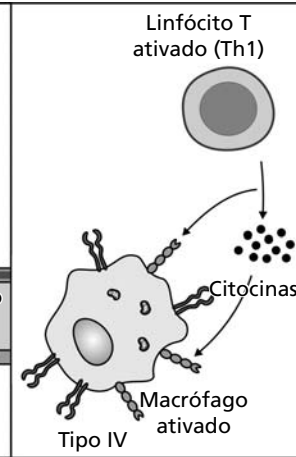
Médico e fisiologista francês, publicou vários artigos científicos na área de fisiologia, química fisiológica, patologia experimental e psicologia. Foi ganhador do prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1913 pelas suas pesquisas em anafilaxia.

REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE: UMA VISÃO GERAL

As doenças de hipersensibilidade são um grupo de doenças clinicamente heterogêneas. Os dois principais fatores que determinam as manifestações clínicas e patológicas dessas doenças são o tipo de resposta imune que causa a injúria tecidual, a natureza e a localização do antígeno que é alvo da resposta imune. Calma, parece meio confuso, não é mesmo? Para ficar mais claro, vamos ver como essas doenças são classificadas?

As reações ou doenças de hipersensibilidade são classificadas de acordo com o tipo da resposta imune e os mecanismos efetores responsáveis pelos danos celulares ou teciduais. Veja no **Quadro 17.1**. Ele traz uma classificação ilustrada dessas doenças. As hipersensibilidades do tipo I, II e III são dependentes de anticorpos, sendo que a do tipo I é mediada pela IgE e as do tipo II e III são dependentes da IgG e IgM, enquanto a hipersensibilidade do tipo IV é mediada por células.

Quadro 17.1: Classificação das reações de hipersensibilidade

 <p>Alérgeno IgE alérgeno-específico Receptor de Fc para IgE Mastócito Desgranulação</p> <p>Tipo I</p>	 <p>ADCC Célula citotóxica Receptor de Fc Célula alvo Antígeno de superfície Ativação de complemento Imunocomplexo</p> <p>Tipo II</p>	 <p>Imunocomplexo C3b Ativação de complemento Vaso sanguíneo Neutrófilo</p> <p>Tipo III</p>	 <p>Linfócito T ativado (Th1) Citocinas Macrófago ativado</p> <p>Tipo IV</p>
<p>Hipersensibilidade mediada por IgE</p>	<p>Hipersensibilidade induzida por ADCC</p>	<p>Hipersensibilidade mediada por imunocomplexos</p>	<p>Hipersensibilidade mediada por células</p>
<p>O alérgeno induz o <i>crosslink</i> da IgE na superfície dos mastócitos ou basófilos e resulta na liberação de mediadores vasoativos.</p>	<p>Anticorpos direcionados contra antígenos na superfície celular medeiam a destruição celular pela ativação do complemento ou ADCC</p>	<p>O complexo antígeno-anticorpo se deposita nos tecidos e induz a ativação do complemento, resultando em uma resposta inflamatória com infiltração massiva de neutrófilos.</p>	<p>Células T CD4 ativadas produzem citocinas que ativam macrófagos ou linfócitos T CD8 que induzem danos teciduais.</p>
<p>Manifestações típicas incluem a anafilaxia sistêmica ou localizada, tais como asma, alergia alimentar, picada de insetos etc.</p>	<p>São exemplos de hipersensibilidade do tipo II as reações decorrentes de transfusões com sangue incompatíveis, eritroblastose fetal etc.</p>	<p>São exemplos típicos da reação de hipersensibilidade do tipo III a reação de Arthus, a doença da soro, vasculite necrotizante, glomerulonefrite etc.</p>	<p>Exemplos de reação de hipersensibilidade do tipo IV incluem as lesões granulomatosas, a rejeição de enxertos, algumas dermatites de contato etc.</p>

REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE DO TIPO I

Propriedades gerais da hipersensibilidade do tipo I

As reações de hipersensibilidade do tipo I, também conhecida como hipersensibilidade imediata, alergia, atopia e anafilaxia, é o tipo mais comum de hipersensibilidade. É o que comumente chamamos alergia. Nesse caso, os antígenos que induzem alergia são conhecidos como alérgenos. Os alérgenos induzem uma resposta humoral da mesma forma que os antígenos solúveis, como já vimos na aula de ativação de linfócitos B, que geram plasmócitos e células de memória. O que diferencia a hipersensibilidade do tipo I de uma resposta humoral “normal” é o fato de os plasmócitos ao invés de secretarem IgG, secretam IgE. Veja na **Figura 17.1**. A IgE se liga com alta afinidade ao receptor FcεRI presente na superfície de mastócitos e basófilos. Reveja o **Quadro 16.3** da Aula 14. Na **Figura 17.1**, veja que os mastócitos e basófilos sensibilizados são assim denominados quando apresentam os anticorpos IgE fixados pela Fc na sua superfície. Ao entrar em contato de novo com o alérgeno, este faz um crosslink com as IgEs ligadas na membrana do mastócito ou basófilo sensibilizado. Ainda nessa figura, observe que esse fato induz à desgranulação dessas células, ou seja, à liberação do conteúdo dos grânulos. Os grânulos contêm vários mediadores farmacologicamente ativos que vão atuar nos tecidos, sendo a vasodilatação e a contração da musculatura lisa os principais efeitos farmacológicos observados. Esses efeitos podem ser locais ou sistêmicos, dependendo da quantidade de mediadores liberados. Bem, agora que você já entendeu os princípios gerais da alergia, vamos entender essa doença com mais detalhes?

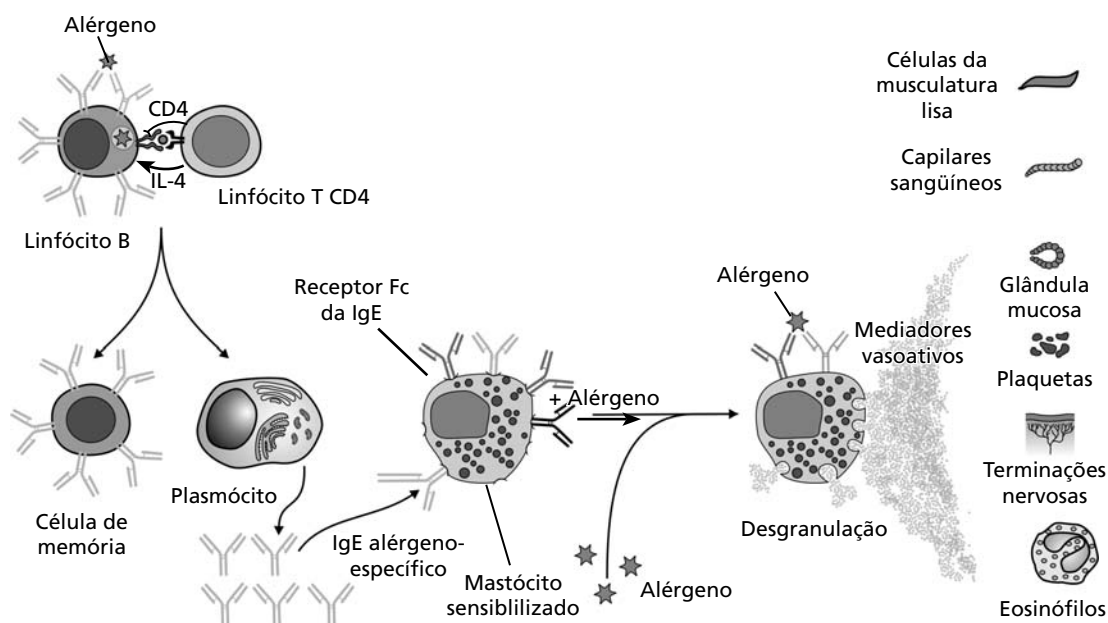


Figura 17.1: Mecanismo geral da hipersensibilidade do tipo I. Observe que a IL-4 induz à diferenciação do linfócito B em plasmócito e à produção de IgE. Perceba que mastócito sensibilizado se desgranula no segundo contato com o alérgeno.

Os alérgenos

Os alérgenos são antígenos que induzem à reação de hipersensibilidade do tipo I. Em geral, eles são de origens protéicas ou produtos químicos ligados a proteínas. São exemplos típicos de alérgenos: as proteínas do pólen, dos ácaros da poeira doméstica, dos pêlos animais, alguns alimentos, saliva ou veneno de insetos e produtos químicos, tais como a penicilina, aspirina, analgésico etc. Ainda não se sabe exatamente por que alguns antígenos induzem a uma resposta do tipo Th2 com produção de IgE, enquanto outros não induzem a esse tipo de resposta. Embora não exista um padrão molecular que possa prever se um antígeno pode ser alergênico ou não, os alérgenos apresentam algumas características bioquímicas em comum, tais como baixa massa molecular, glicosilação e alta solubilidade nos fluidos corpóreos. As drogas, como por exemplo a penicilina, se conjugam a proteínas do próprio indivíduo formando complexo do tipo hapteno-carreador, em que a droga funciona como hapteno e a albumina do próprio indivíduo pode servir como carreadora. Assim, a albumina alterada pode induzir à produção de IgE. As reações alérgicas, causadas por alimentos, envolvem

pequenas proteínas com alto grau de glicosilação. Provavelmente essa estrutura protéica permite que o alérgeno seja absorvido sem sofrer desnaturação e degradação no trato gastrointestinal.

O histórico da exposição ao antígeno alergênico é um fator importante na determinação da produção da IgE, ou seja, para que um indivíduo desenvolva uma reação alérgica é necessário que ele entre em contato com o mesmo alérgeno várias vezes, ou no mínimo duas vezes. No caso de alérgenos ambientais a exposição é contínua. Vamos entender isso melhor? Você deve se lembrar da aula sobre ativação do linfócito B em que inicialmente ocorre a produção da IgM e, na persistência do estímulo, ocorre a mudança de isotipo, *switch* de classe. Nesse caso, os **INDIVÍDUOS ATÓPICOS** passam a produzir a IgE. Essa IgE vai, então, se ligar na superfície de mastócitos, tornando-os sensibilizados, indivíduo e célula. Só assim, no contato subsequente com o mesmo alérgeno é que vai ocorrer a reação de hipersensibilidade imediata. Vamos ver um exemplo prático para que esse assunto fique mais claro? Um bom exemplo da importância da exposição repetida ao alérgeno é o caso de alergias a picadas de abelha. A primeira picada do inseto não acarreta nenhum problema ao indivíduo atópico, pois ele ainda não tem anticorpos IgE específicos contra o alérgeno presente no veneno da abelha. Entretanto, é suficiente para induzir à produção da IgE e sensibilizar os mastócitos. Num contato posterior, ou melhor, se o indivíduo sofrer uma nova ferroadada da abelha da mesma espécie ele vai desenvolver uma reação anafilática, que em alguns casos, se não houver um atendimento médico rápido poderá levá-lo à morte!

ATOPIA

Propensão que alguns indivíduos têm para desenvolver hipersensibilidade imediata, ou seja, produzir IgE. Indivíduos que desenvolvem alergia a antígenos ambientais, alimentos são denominados atópicos.

Anticorpos IgE e receptor de FcεR

Indivíduos atópicos produzem níveis elevados de IgE em resposta a antígenos potencialmente alergênicos, enquanto indivíduos não atópicos, geralmente, produzem outros isotipos de imunoglobulinas, tais como IgG e IgM, e somente uma pequena quantidade de IgE. A regulação da síntese da IgE depende da predisposição individual em montar uma resposta imune do tipo Th2 em resposta a alérgenos, uma vez que as citocinas produzidas pelas células Th2, são as indutoras do *switch* de classe para IgE nos linfócitos B. Essa predisposição para uma resposta do tipo Th2 contra antígenos alergênicos pode ser influenciada por diversos

fatores que incluem os genéticos, a natureza dos antígenos e a forma de exposição ao alérgeno. A exposição repetida aos antígenos potencialmente alergênicos, diferentemente dos antígenos microbianos, não induz à estimulação da resposta imune inata que pode ativar os macrófagos a produzir citocinas, tais como IL-12 e IL-18 que são precursoras do padrão Th1, conforme já vimos na Aula 15. A estimulação crônica ou repetida de células T CD4 pode direcionar a diferenciação de linfócitos T CD4 para o padrão Th2, uma vez que células CD4 nessas condições produzem IL-4, a principal citocina Th2. A IL-4 é a principal citocina Th2 que induz à mudança de classe para a produção da IgE. A IL-5 que é uma outra citocina produzida por essa subpopulação celular, ativa eosinófilos que são células cujo número é bastante elevado em condições alérgicas. Assim, podemos concluir que a reação de hipersensibilidade tipo I é dependente da ativação de linfócitos T CD4 e a sua diferenciação no padrão Th2, em que a IL-4 é a principal citocina indutora da produção de IgE.

Os anticorpos IgE circulam pelo sangue sendo que, em indivíduos normais, a sua concentração sérica não chega a $1\mu\text{g/mL}$, ao passo que, em condições patológicas, tais como infecção por helmintos ou indivíduos atópicos, os níveis de IgE no soro podem atingir $1000\mu\text{g/mL}$ ou mais! Esses anticorpos se fixam na superfície de mastócitos, basófilos e eosinófilos pelo receptor de Fc de alta afinidade denominado FcεRI. Podemos ver na **Figura 17.2** que este receptor é composto por uma cadeia α , uma cadeia β e duas cadeias γ . A cadeia α é formada, na sua porção extracelular, por dois domínios globulina que compõem a região de ligação com a Fc da IgE. As cadeias β e γ são as responsáveis pela transdução de sinais que resultam na desgranulação dos mastócitos e basófilos. Essa desgranulação resulta na liberação de mediadores farmacológicos. Veja na **Figura 17.2** que somente as cadeias β e γ têm, na calda citoplasmática, os domínios passíveis de fosforilação, os ITAMs, que já vimos nas Aulas 13 e 14. Os ITAMs são responsáveis pela ativação inicial das cascatas de sinalização que, no citoplasma, são responsáveis pela liberação do conteúdo dos grânulos e também pela geração dos mediadores farmacológicos derivados do ácido aracônico e, no núcleo, vão induzir à transcrição de genes de citocinas e a outros mediadores inflamatórios produzidos pelos mastócitos.

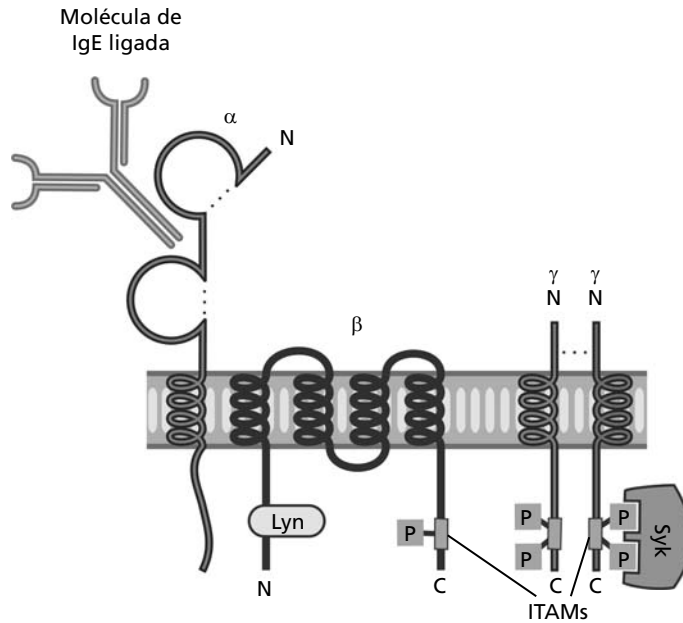


Figura 17.2: Esquema ilustrativo do receptor de FcεRI. Observe que a Fc da IgE se liga à cadeia α, porém a sinalização intracitoplasmática é iniciada pelas cadeias β e γ deste receptor, onde estão localizados os ITAMs.

ATIVIDADE



1. É sabido que camundongos da linhagem BALB/c, quando injetados com a proteína albumina, desenvolvem reações de hipersensibilidade do tipo I. Com base nessa informação responda às seguintes questões:

a. O que você acha que acontece com camundongos BALB/c quando são inoculados somente uma vez com albumina? E quando são inoculados duas vezes num intervalo de 20 dias?

b. E o que aconteceria com camundongos BALB/c *knockout* para o receptor FcεRI, inoculados duas vezes com albumina em intervalo de 20 dias? Ao concluir esta atividade você terá atingido parcialmente o primeiro objetivo dessa aula.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu, na questão a, que os camundongos BALB/c inoculados somente uma vez com albumina não sofreram reação de

*hipersensibilidade imediata e os camundongos que foram inoculados duas vezes desenvolveram uma reação de anafilaxia, você acertou! Muito bem! Na questão b para ter acertado você deve ter respondido que o camundongo BALB/c knockout para FcεRI não desenvolveu reação de hipersensibilidade imediata. Caso você tenha errado vamos ver por quê? No caso a, o camundongo inoculado uma vez com albumina, não desenvolveu reação alérgica. Porque ao ser inoculado somente uma vez ele produziu a IgE, e esse anticorpo sensibilizou os mastócitos. Para que ele desenvolvesse uma reação de anafilaxia ele deveria ter recebido mais uma dose do alérgeno para que este desencadeasse a desgranulação dos mastócitos, como já vimos na **Figura 17.1**. Foi o que aconteceu com o camundongo que foi inoculado duas vezes com a albumina. No caso b, mesmo tendo recebido duas doses de antígeno alergênico, o camundongo BALB/c knockout não desenvolveu a reação de hipersensibilidade, pois ele não tem o receptor de IgE nas suas células. Assim, sem o receptor para IgE, os mastócitos não fixam a IgE na sua superfície, conseqüentemente não ocorre a sensibilização dos mesmos e nem reação anafilática.*

Principais células envolvidas na hipersensibilidade imediata

As células envolvidas na reação de hipersensibilidade do tipo I são os mastócitos, basófilos e eosinófilos, cujas propriedades podemos ver no **Quadro 17.2**. Embora cada uma dessas células tenha características singulares, todas as três células contêm grânulos citoplasmáticos com substâncias que medeiam as reações alérgicas. Além disso, essas células produzem mediadores lipídicos e citocinas que induzem à inflamação.

Quadro 17.2: Propriedades dos mastócitos, basófilos e eosinófilos

Características	Mastócitos	Basófilos	Eosinófilos
Célula precursora	Células progenitoras hematopoiéticas CD34 ⁺	Células progenitoras hematopoiéticas CD34 ⁺	Células progenitoras hematopoiéticas CD34 ⁺
Principal sítio de maturação	Tecido conectivo	Medula óssea	Medula óssea
Células na circulação	Não	Sim (0,5% dos leucócitos do sangue)	Sim (2,7% dos leucócitos do sangue)
Células maduras recrutadas da circulação para os tecidos	Não	Sim	Sim
Células maduras residentes nos tecidos conectivos	Sim	Não	Não
Habilidade proliferativa das células maduras	Sim	Não	Não
Tempo de vida	Dias a semanas	Dias	Dias a semanas
Principal fator para desenvolvimento	Fator de célula-tronco (SCF do Inglês – <i>stem cell factor</i>)	IL-3	IL-5
Expressão de FcεRI	Alto nível de expressão	Baixo nível de expressão	Baixo nível de expressão
Conteúdo dos grânulos	Histamina, heparina e/ou sulfato de condroitina, proteases	Histamina, sulfato de condroitina, protease	Proteína básica principal, proteína catiônica eosinofílica, peroxidase, hidrolases, lisofosfolipase

As principais substâncias presentes nos grânulos serão descritas mais adiante.

Propriedades dos mastócitos e basófilos

Os mastócitos, como já vimos na Aula 03, são originados na medula óssea e as formas maduras não são encontradas na circulação. As células progenitoras, na medula óssea, migram para os tecidos na forma imatura e sofrem diferenciação *in situ*. Os mastócitos maduros encontram-se distribuídos em todo o corpo, principalmente próximos dos vasos sanguíneos e abaixo dos epitélios. Existem duas subpopulações de mastócitos que diferem quanto à localização anatômica, conteúdo dos grânulos e atividade, conforme podemos ver no **Quadro 17.3**. Os mastócitos dos tecidos conectivos são células grandes, de núcleo arredondado, com citoplasma cheio de grânulos e **CORPOS LIPÍDICOS**. Os grânulos coram-se metacromaticamente com corantes básicos

CORPOS LIPÍDICOS

Presentes no citoplasma de macrófagos e mastócitos, é uma organela onde ocorre o metabolismo do ácido araquidônico e o acúmulo dos seus produtos.

e a substância responsável por esta coloração é a heparina, um glicosaminoglicano sulfatado. Nos cortes histológicos corados com azul-de-toluidina, os grânulos se coram de vermelho. Nesses grânulos, existem também, outras substâncias pré-formadas como a histamina, em grande quantidade. Os mastócitos das mucosas dos tratos respiratório e gastrointestinal contêm, em geral, grânulos mais esparsos e o núcleo é maior. Diferentemente dos mastócitos do tecido conectivo, o proteoglicano responsável pela coloração nestas células é o sulfato de condroitina e o conteúdo de histamina nesses grânulos também é menor. As células precursoras da medula óssea se diferenciam *in vitro* em mastócitos com características semelhantes aos mastócitos de mucosas, quando cultivadas na presença de IL-3. Associado a esse fenômeno, camundongos atímicos, que não têm timo, não apresentam mastócitos de mucosa. Esses dois fatos sugerem fortemente que os mastócitos de mucosas são dependentes de células T que são as fontes de IL-3 *in vivo*. Entretanto, é importante ressaltar que esses dois fenótipos de mastócitos não são fixos, ou seja, podem ocorrer alterações bidirecionais dependendo da localização anatômica e da regulação exercida por citocinas presentes no local.

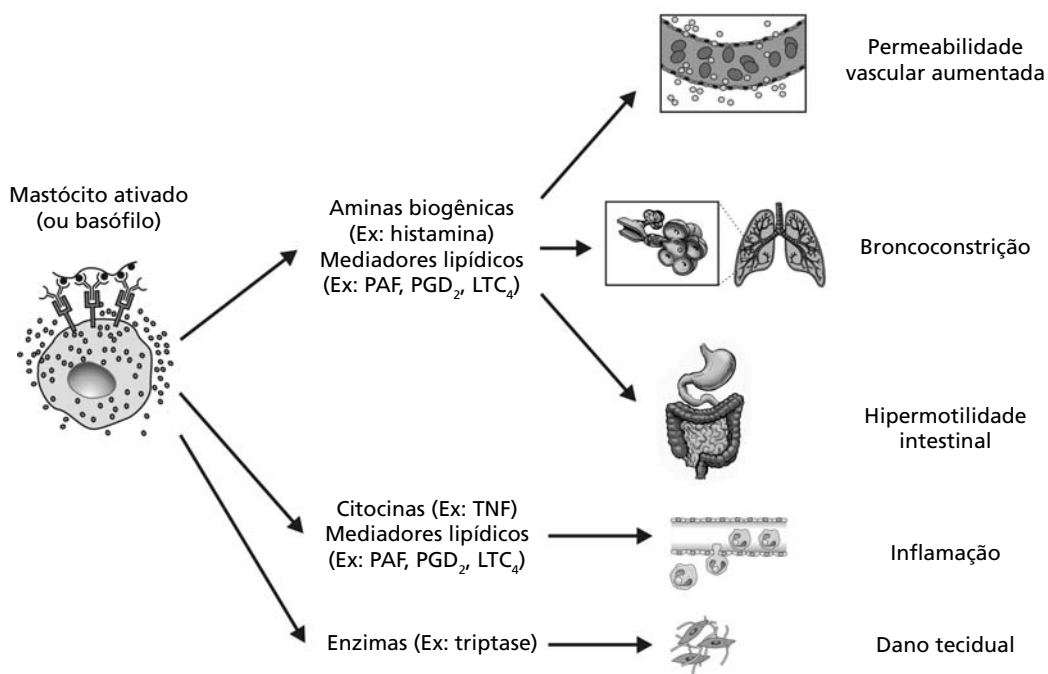


Figura 17.3: Efeito biológico dos principais mediadores da hipersensibilidade imediata. Observe que as aminas vasoativas e os mediadores lipídicos induzem ao aumento da permeabilidade vascular, broncoconstrição e hiperomotilidade gastrointestinal. As citocinas e os mediadores lipídicos contribuem para a inflamação.

Quadro 17.3: Subpopulações de mastócitos

Características	Mastócito de tecido conectivo		Mastócito de mucosas	
	Roedor	Humano	Roedor	Humano
Localização	Cavidade peritoneal	Pele, submucosa do intestino	Mucosa do intestino	Alvéolo e mucosa intestinal
Dependência de célula T para se desenvolver nos tecidos	Não	Não	Sim	Sim
Conteúdo dos grânulos	Níveis elevados de histamina, heparina	Protease neutra principal: triptase, quimase, carboxipeptidase, catepsina G	Baixos níveis de histamina, níveis elevados de sulfato de condroitina	Protease neutra principal: triptase

As principais substâncias presentes nos grânulos serão descritas mais adiante.

Os basófilos, como outros granulócitos, são originados a partir de linhagens progenitoras na medula óssea (diferente da linhagem progenitora de mastócitos). Essas células sofrem maturação na medula óssea e são liberadas para a circulação sanguínea. Embora não esteja normalmente presente nos tecidos, os mastócitos podem ser recrutados do sangue para os tecidos, em geral, junto com os eosinófilos. Os basófilos apresentam grânulos muito similares aos mastócitos, como você viu no **Quadro 17.2**. Como os mastócitos, os basófilos também apresentam receptores FcεRI e podem, conseqüentemente, ligar IgE. Assim, os basófilos que são recrutados para os tecidos em que os antígenos estão presentes, podem contribuir para o desenvolvimento das reações de hipersensibilidade imediata.

Principais mediadores da reação de hipersensibilidade do tipo I

Os principais mediadores químicos, liberados pelos mastócitos, responsáveis pela reação de hipersensibilidade imediata podem ser divididos em dois grupos:

1- mediadores pré-formados, que são sintetizados e armazenados nos grânulos dos mastócitos e basófilos antes do desencadeamento da reação de hipersensibilidade;

2- mediadores neoformados, que são sintetizados após a ativação dessas células.

Veja no **Quadro 17.4** os principais mediadores da anafilaxia.

Quadro 17.4: Principais mediadores da hipersensibilidade imediata e suas funções

Mediadores	Características estruturais	Funções principais
Pré-formados		
Histamina	β -imidazol etilamina, PM 111 kDa	Contração de músculo liso; aumento da permeabilidade vascular; produção de muco.
Citocina	TNF (fator de necrose tumoral), PM 51 kDa	Recrutamento de leucócitos.
Proteases	Triptase, quimase, carboxipeptidase, outras.	Danos teciduais; remodelagem de tecidos.
Neoformados		
Leucotrienos C4, D4, E4	Derivados do ácido araquidônico (via lipoxigenase).	Contração prolongada de músculo liso; aumento da permeabilidade vascular; produção de muco.
Prostaglandina D2	Derivados do ácido araquidônico (via ciclooxigenase).	Vasodilatação; broncoconstrição.
PAF (fator de ativação de plaquetas).	Fosfolípideo derivado da fosforilcolina.	Aumento da permeabilidade vascular; broncoconstrição; migração e ativação de leucócitos.
Citocinas (TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-3, e GM-CSF)	Hormônios protéicos PM<26kDa; TNF.	Recrutamento e ativação de leucócitos; produção e maturação de células efectoras.

Mediadores pré-formados

Dentre os mediadores pré-formados mais importantes estão as aminas biogênicas, também conhecidas como aminas vasoativas. A histamina é a principal amina vasoativa presente nos mastócitos humanos e a serotonina, que tem ação similar, está presente nos mastócitos de roedores e herbívoros.

A histamina é uma amina básica, formada a partir de descarboxilação do aminoácido histidina. Ela é encontrada em mastócitos, basófilos e plaquetas. Sua ação na célula-alvo se dá pela ligação a receptores (H1, H2, H3), sendo que tipos celulares diferentes expressam diferentes classes de receptores de histamina. Esses receptores são identificados por inibidores farmacológicos. Você certamente já ouviu falar em drogas anti-histamínicas, não é mesmo? Pois bem, existem antagonistas específicos para esses receptores. Assim eles podem ser identificados. Os receptores H1 estão presentes nas células endoteliais e nas células dos músculos lisos. A ligação da histamina nesses receptores resulta em efeitos diferentes

conforme o tipo celular. Nas células endoteliais, a histamina provoca inicialmente uma vasoconstrição fugaz, seguida de uma vasodilatação. Além disso, provoca o aumento dos espaços intercelulares entre as células do endotélio, o que resulta no aumento da permeabilidade vascular, e como consequência o extravasamento do plasma para os tecidos. Veja na **Figura 17.3**. Esses efeitos são claramente visíveis nas reações cutâneas. Você certamente já viu alguém com alergia, com áreas avermelhadas na pele denominadas pápula eritematosa. Ainda na **Figura 17.3** veja que, na musculatura lisa, a histamina causa contração. Por exemplo, nas alergias alimentares, essa contração resulta no aumento do peristaltismo intestinal, e no pulmão provoca a broncoconstrição e o aumento da produção de muco.

A serotonina é outra amina vasoativa que está presente nas plaquetas, no sistema nervoso central e em algumas células do intestino. Em alguns roedores e herbívoros domésticos ela está presente nos mastócitos e a sua função é similar à da histamina. No homem, a serotonina é importante em algumas funções do sistema nervoso central.

Além das aminas vasoativas, os grânulos dos mastócitos também apresentam outros componentes como o TNF- α que induz à migração de leucócitos na fase mais tardia da reação. Algumas proteases, tais como a quimase, triptase e carboxipeptidase, podem causar danos teciduais e remodelagem do tecido. E as proteoglicanas que incluem a heparina e o sulfato de condroitina e se encontram associadas às aminas vasoativas e às proteases no interior dos grânulos e controlam a liberação desses compostos.

Mediadores neoformados

Os mastócitos ativados, além da liberação do conteúdo dos grânulos, sintetizam e liberam novos compostos farmacologicamente ativos. Dentre esses compostos, os principais são os mediadores lipídicos e as citocinas.

Os mediadores lipídicos são derivados do metabolismo do ácido araquidônico, que é originado da clivagem dos fosfolipídeos de membrana pelas fosfolipases. Esse assunto já foi visto na Aula 5. Se você tiver dúvidas reveja-a. A prostaglandina D₂ (PGD₂) é o principal mediador lipídico gerado pelo metabolismo do ácido araquidônico, pela via da ciclooxigenase. A PGD₂ liberada se liga nos receptores das células

da musculatura lisa e atua como vasodilatador e broncoconstritor como pode ser visto na **Figura 17.3**. Além disso, a PGD_2 promove também a quimiotaxia de neutrófilos e o seu acúmulo no sítio da inflamação. O principal mediador lipídico, gerado pelo metabolismo do ácido araquidônico pela via da lipoxigenase, é o leucotrieno C_4 (LTC_4) e os produtos da sua degradação LTD_4 e LTE_4 . O LTC_4 é produzido pelos mastócitos de mucosas e basófilos e não é produzido pelos mastócitos de tecidos conectivos. A ligação do LTC_4 ao seu receptor na musculatura lisa dos brônquios resulta na broncoconstrição prolongada. Esse mediador é considerado o principal mediador da broncoconstrição asmática.

Um outro mediador lipídico da anafilaxia é o PAF, gerado a partir da hidrólise dos fosfolípidos de membrana pela fosfolipase A_2 , como já vimos na Aula 5 sobre a inflamação. Observe na **Figura 17.3** que o PAF tem uma ação broncoconstritora direta e causa também a contração das células endoteliais dos vasos e o relaxamento da sua musculatura lisa.

Além dos mediadores lipídicos, os mastócitos e basófilos ativados, produzem várias citocinas que participam da inflamação alérgica. Dentre estas citocinas, podemos citar o TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6 e a IL13, as quimiocinas MIP-1a e MIP-1 β e vários fatores estimuladores de colônia de mastócitos e basófilos. As funções dessas citocinas já foram vistas na Aula 15. Nas reações anafiláticas, elas atuam principalmente na fase tardia dessas reações.

Reações de hipersensibilidade do tipo I podem ser sistêmicas ou localizadas

A anafilaxia sistêmica ocorre quando o antígeno alergênico entra na circulação sanguínea de um indivíduo sensibilizado. O alérgeno induz à desgranulação de mastócitos sensibilizados pela IgE presentes em vários tecidos e órgãos. Nesse caso, se a liberação dos agentes vasoativos estiver além da capacidade do organismo em controlar as alterações no seu sistema vascular, o indivíduo irá sofrer um choque anafilático. Nessa situação, se não houver um pronto atendimento médico poderá ocorrer a morte da vítima. A sintomatologia dessa reação varia nas diversas espécies animais de acordo com tipo de órgão ou tecido primariamente envolvido. Nos humanos, a reação se caracteriza, principalmente, por distúrbios respiratórios resultantes da intensa broncoconstrição, edema

de glote, erupções na pele e colapso vascular. Vários alérgenos podem desencadear a anafilaxia sistêmica em um indivíduo susceptível, dentre eles os venenos de abelhas, vespas, formigas etc; drogas tais como a penicilina, tetraciclina etc; alimentos como por exemplo frutos do mar, clara de ovo, amendoim etc.

Em geral, na anafilaxia localizada, a reação se limita a um tecido ou órgão específico e geralmente envolve as superfícies epiteliais do local de entrada do alérgeno. A tendência a desenvolver a hipersensibilidade localizada tem também um caráter hereditário e acomete em torno de 20% da população. Sua manifestação clínica está associada a várias patologias ligadas à desordem causada pela IgE e incluem a rinite alérgica, asma, alergia alimentar, dermatite atópica e outras.

ATIVIDADE



2. A anafilaxia sistêmica pode ser facilmente demonstrada em porquinho da índia (cobaio) da seguinte forma: inocula-se cobaio com uma solução de ovalbumina (albumina de ovo) e, duas a três semanas depois inocula-se o animal com uma segunda dose da solução de ovalbumina, mas agora pela via intravenosa. Alguns minutos após a inoculação, o animal desenvolve uma reação anafilática sistêmica, que se caracteriza inicialmente pela prostração, dispnéia e queda da pressão sanguínea. Em seguida, apresenta incontinência fecal e urinária devido à contração da musculatura lisa dos tratos gastrintestinal e urinário. Finalmente, constrição dos bronquíolos e morte por asfixia. No exame *post-mortem* podem ser observados edema generalizado e broncoconstrição.

Sabendo disso, realizamos o seguinte experimento: injetamos um grupo de cobaias com uma solução de ovalbumina. Duas semanas depois da inoculação colhemos soro e linfócitos do sangue desses animais e transferimos para dois novos grupos de cobaias, em que os animais do grupo A receberam soro dos animais inoculados e os do grupo B receberam os linfócitos desses animais. Após 24 horas da transferência, os animais dos grupos A e B foram inoculados com uma solução de ovalbumina pela via intravenosa. O que você acha que aconteceu com os animais dos grupos A e B após o desafio com a ovalbumina? Considere que o número de linfócitos B ativados na circulação sanguínea seja desprezível.

Ao concluir esta atividade você terá atingido mais uma parte do primeiro objetivo dessa aula.

SISTEMA ABO

O sistema ABO é o mais importante grupo sanguíneo na medicina transfusional. No caso dos grupos sanguíneos humanos, ABO sabemos que as hemácias possuem dois tipos de antígenos, chamados de aglutinogênios, A e B; e o plasma pode conter dois anticorpos (chamados aglutininas), anti-A e anti-B. Então, existem quatro grupos sanguíneos para este sistema: A, B, AB e O. Os indivíduos A possuem os antígenos A e os anticorpos Anti-B. Os indivíduos B possuem os antígenos B e os anticorpos Anti-A. Os indivíduos AB possuem ambos os antígenos, A e B; e nenhum anticorpo. Os indivíduos O, não possuem nenhum antígeno e possuem os dois anticorpos, anti-A e Anti-B.

FATOR RH

Este antígeno é encontrado na membrana plasmática das hemácias. Falamos em Rh negativo quando este fator antigênico está ausente nas hemácias de um indivíduo, sendo estas pessoas capazes de responder com a produção de anticorpos anti-Rh, quando entram em contato com o antígeno (através da placenta ou transfusão incompatível). Este fator é determinado por uma herança mendeliana simples (monofatorial), sendo dominante o gene que determina o fator.

REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO TIPO II

A hipersensibilidade do tipo II se caracteriza pelo envolvimento de anticorpos na destruição dos tecidos, associados, principalmente, a citotoxicidade celular ou ativação do sistema complemento. Lembremos de que já vimos em aulas anteriores a ação efetiva e benéfica dos anticorpos; agora, estamos tratando da ação indesejável dessas moléculas. Os mecanismos responsáveis pela lesão celular ou tecidual consistem primariamente na interação de anticorpos com antígenos na superfície celular ou na matriz extracelular. Esses antígenos podem ser próprios, no caso de doenças autoimunes, ou adquiridos por transfusão ou por adsorção de compostos químicos na superfície das células, como por exemplo alguns antibióticos. A ligação de anticorpos na superfície das células pode fixar complemento, induzir citotoxicidade dependente de anticorpos (ADCC) e opsonizar a célula, aumentando a sua fagocitose através de receptores Fc e de C3b pelos macrófagos e neutrófilos.

Um exemplo típico de reação de hipersensibilidade do tipo II é a reação por incompatibilidade sanguínea pelos antígenos **ABO** e **RH** na superfície de hemácias. A transfusão de sangue entre indivíduos incompatíveis no sistema ABO resulta na destruição das hemácias do doador pelos anticorpos naturais presentes no receptor. Esses anticorpos são geralmente da classe IgM. Eles aglutinam hemácias e fixam complemento muito eficientemente, o que resulta na hemólise intravascular. No caso da incompatibilidade do fator RH, leva a uma doença conhecida como doença hemolítica do recém-nascido ou eritroblastose fetal.

A doença hemolítica do recém-nascido acontece quando anticorpos IgG materna específica contra o fator Rh do feto atravessam a placenta e destroem as hemácias do feto podendo levá-lo à morte. Vamos entender melhor como isso acontece? Bem, primeiramente é importante saber em que condições essa patologia acontece. Ela acontece, quando a mãe é portadora de sangue Rh negativo (Rh⁻), e o feto é portador de sangue Rh+. Além disso, esta patologia só acontece na segunda gestação quando o sangue do feto é também Rh+. Acompanhe pela **Figura 17.4.a**. Na primeira gestação, o sangue Rh⁺ do feto entra em contato com a mãe na ocasião do parto quando ocorre o descolamento da placenta. Uma quantidade do sangue fetal entra no organismo da mãe e ativa os

linfócitos B a produzirem anticorpos contra o fator Rh. São geradas também células B de memória. Ainda nessa figura, observe que, na segunda gestação, o sangue do feto Rh+ ativa as células B de memória da mãe que produz anticorpos IgG anti-Rh. Esses anticorpos atravessam a placenta e destroem as hemácias do feto, resultando numa anemia moderada a grave, às vezes com conseqüências fatais.

Agora vamos fazer mais uma atividade para exercitar alguns conceitos já vistos?

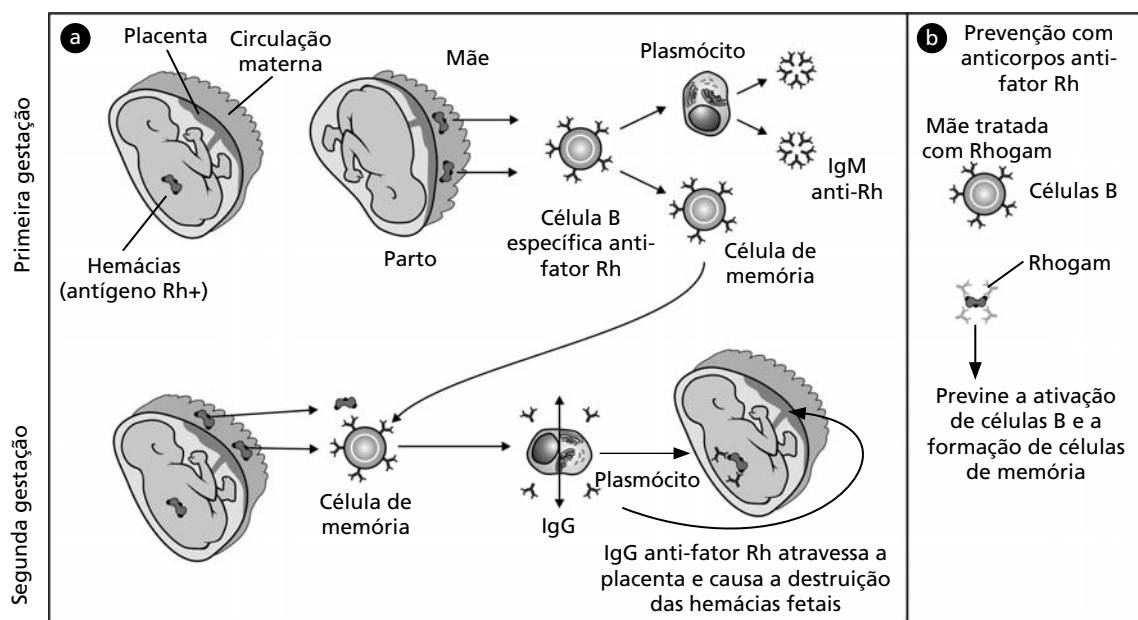


Figura 17.4: Em (a), diagrama esquemático do desenvolvimento da doença hemolítica do recém-nascido (eritroblastose fetal), esta doença acontece quando a mãe tem sangue Rh- e o feto tem sangue Rh+. Em (b), observe o tratamento da mãe com anticorpo anti-Rh (Rhogam). Observe que, a utilização desse anticorpo impede que os linfócitos B da mãe sejam ativados contra as hemácias Rh+.

ATIVIDADE



3. Com base no que já aprendemos sobre anticorpos, o que você acha que poderia ser feito para contornar o problema da doença hemolítica do recém-nascido? Uma dica: pense no fato de que anticorpo contra um dado antígeno pode suprimir a resposta específica contra ele. Esta atividade também está relacionada ao primeiro objetivo dessa aula. Capriche, esta é uma oportunidade para você exercitar o que já aprendeu acerca de anticorpos e também para colocar a sua veia científica para funcionar!

RESPOSTA COMENTADA

*Essa atividade pode ter várias respostas. Assim, se você tiver dúvidas relativas a sua resposta não deixe de consultar os tutores da disciplina ou nos mande um e-mail. O sangue Rh+ do feto entra em contato com a mãe, que tem sangue Rh-, principalmente, no momento do parto da primeira gestação. Para prevenir que a mãe desenvolva anticorpos contra o fator Rh, são administrados à mãe anticorpos anti-Rh nas primeiras 72 horas após o parto. Esses anticorpos anti-Rh, chamados Rhogam, no organismo da mãe, vão atuar destruindo os eritrócitos Rh+ do feto que estiverem no corpo da mãe, impedindo que os linfócitos B da mãe sejam ativados e produzam anticorpos e células de memórias contra o fator Rh. Veja como isso acontece na **Figura 17.4.b**. Assim, caso a mãe engravide pela segunda vez e o feto venha ter sangue Rh+, a probabilidade de o feto desenvolver a doença hemolítica é bastante reduzida. Obviamente, a gestação nessa condição é considerada gravidez de risco e deve ser acompanhada de outros testes clínicos para avaliar os níveis séricos de anticorpos anti-Rh durante a gestação. Se você acertou, muito bem! Parabéns! Mas se você errou, não fique frustrado (a). Essa atividade é de caráter provocador, e a função dela é fazer com que você exercite alguns conceitos que já apresentamos.*

A doença hemolítica do recém-nascido pode ocorrer também quando existe incompatibilidade sanguínea do sistema ABO entre mãe e feto. Isso acontece quando a mãe é portadora de sangue tipo O e o feto tem sangue tipo A ou B. Da mesma forma que no fator Rh, é necessário a primeira gestação para que ocorra a ativação da resposta imune da mãe. Na segunda gestação o feto deve ter o mesmo tipo sanguíneo do primeiro filho.

A reação de hipersensibilidade do tipo II também pode ser induzida por algumas drogas, tais como a penicilina, cefalosporina e estreptomicina. Esses antibióticos podem ser adsorvidos, de forma não específica, a algumas proteínas na superfície das hemácias. Este complexo formado pela droga e proteínas na superfície de eritrócitos,

em alguns pacientes, pode induzir à formação de anticorpos. Assim, os anticorpos produzidos se ligam à droga na superfície das células vermelhas e induzem a sua lise pela ativação do sistema complemento, causando, dessa forma, uma anemia progressiva. Quando o tratamento com a droga é interrompido, a anemia hemolítica desaparece. Perceba que esse mecanismo é diferente da hipersensibilidade do tipo I, ou seja, uma droga pode induzir vários tipos de hipersensibilidade, como é o caso da penicilina.

REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO TIPO III

As reações de hipersensibilidade do tipo III são caracterizadas pela formação de imunocomplexos. Estes complexos são formados quando existe uma grande quantidade de anticorpos circulante em decorrência de uma resposta imune ou pela transferência passiva de anticorpos, isto é, soroterapia. A presença do antígeno solúvel forma complexos com esses anticorpos que podem se depositar nos tecidos e iniciar o processo de lesão tecidual. Entretanto, o potencial patogênico dos imunocomplexos depende, em parte, do seu tamanho. Geralmente, os agregados grandes fixam complemento e são facilmente eliminados pelas células fagocíticas. Os complexos imunes podem causar injúria tecidual de duas formas: 1- localizada: quando há a formação e deposição de grandes quantidades de imunocomplexos em determinados tecido ou órgão, como no caso de inalações repetidas de material antigênico; 2- sistêmico: quando há um excesso de antígeno, como no caso das infecções persistentes ou auto-imunidade, levando à formação de complexos solúveis que se depositam em paredes de arteríolas, glomérulos, juntas articulares etc. O mecanismo que determina a lesão nos dois casos é basicamente o mesmo, variando apenas os tecidos ou órgãos afetados em função da localização ou distribuição sistêmica dos complexos.

Mecanismo de lesão induzido pelos complexos imunes

Independente do local da deposição, os imunocomplexos ativam células com receptores para Fc γ (leucócitos e plaquetas no sangue; mastócitos e macrófagos nos tecidos), os quais liberam aminas vasoativas e/ou produzem mediadores lipídicos, como leucotrieno B4 (LTB4) e PAF, além das citocinas TNF- α e IL-8. Esses mediadores aumentam a

permeabilidade vascular, produzindo edema, e estimulam a migração de leucócitos para o local da reação inflamatória. A ativação do sistema complemento pelos imunocomplexos, depositados nos vasos sanguíneos ou nos tecidos, também gera fragmentos como C5a, C3a e C4a, que têm propriedades anafilatóxicas e é quimiotático para leucócitos polimorfonucleares, principalmente para neutrófilos. Veja na **Figura 17.5**.

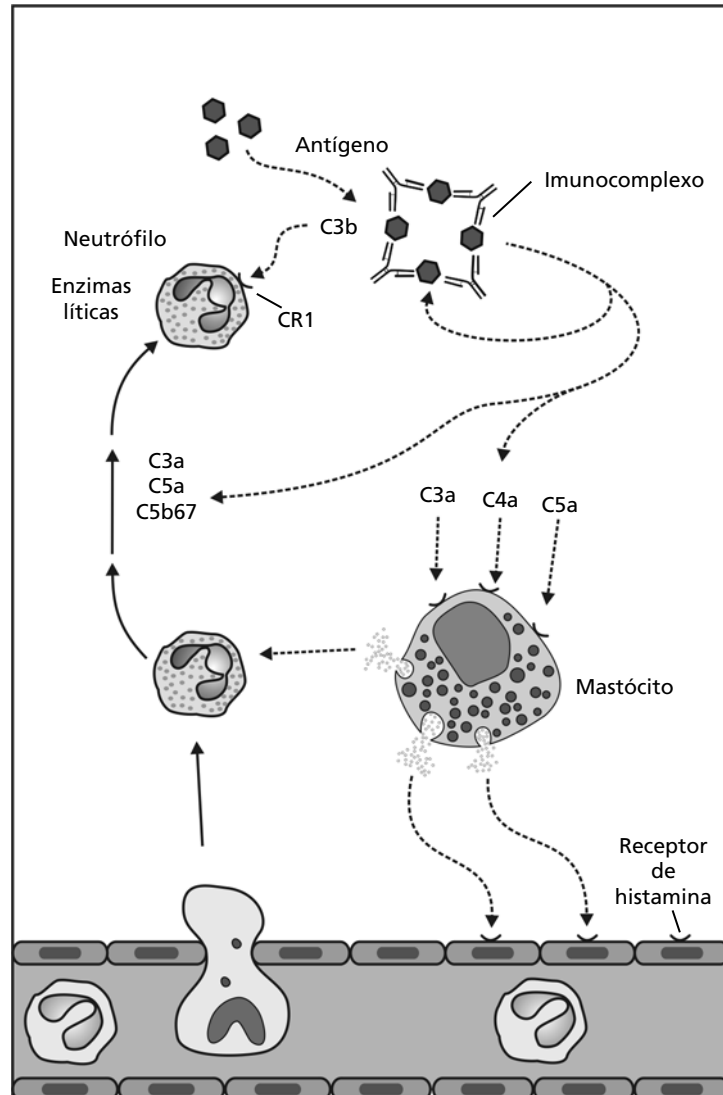


Figura 17.5: Diagrama esquemático da reação de hipersensibilidade tipo III.

Os neutrófilos recém-migrados são “sensibilizados” por $\text{TNF-}\alpha$, PAF e metabólitos do ácido araquidônico como o LTB_4 , e funcionam como um primeiro sinal de ativação. A ligação dos imunocomplexos nos receptores para Fc dos neutrófilos constitui o segundo sinal de ativação. Com a ligação dos receptores, os fagócitos tentam englobar o complexo imune, mas como este está depositado no tecido eles não conseguem fagocitá-lo, pois o tecido é muito maior que os fagócitos, como ilustra a **Figura 17.6**. Essa fagocitose “frustrada”, faz com que essas células liberem o conteúdo dos grânulos no tecido que resulta na lesão tecidual. Observe nessa mesma figura que esse fenômeno pode também acontecer no endotélio dos vasos. Lembre-se de que os grânulos dos fagócitos têm uma grande quantidade de enzimas proteolíticas e os reativos intermediários de oxigênio (ROI). Essas substâncias liberadas no local e nos tecidos adjacentes podem, em alguns casos, provocar lesões graves causando hemorragias e necrose tecidual.

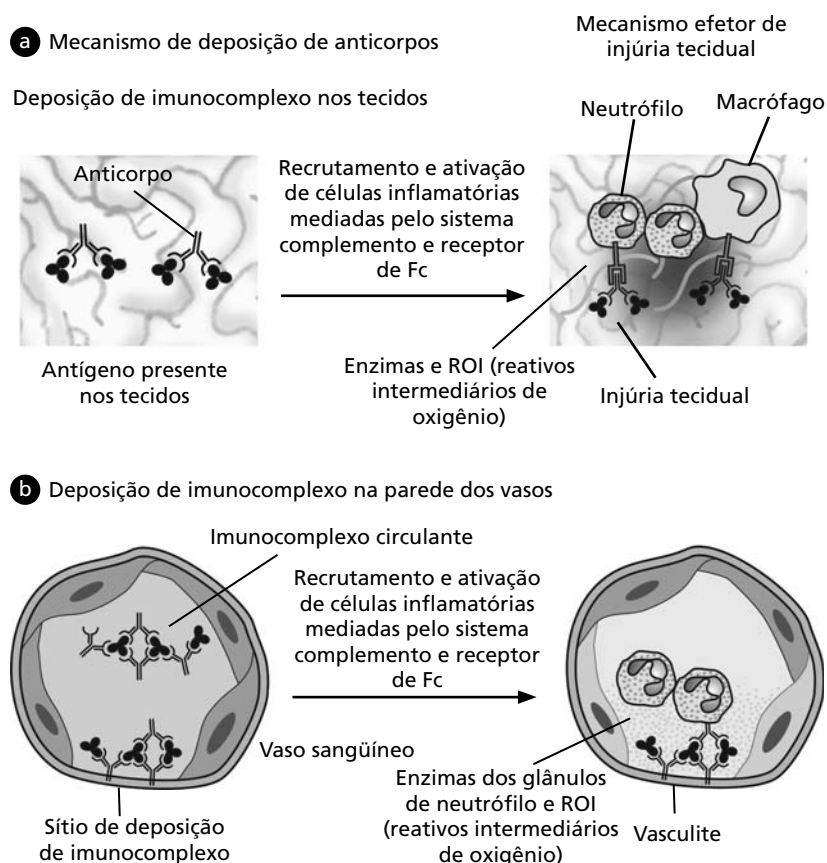


Figura 17.6: Lesão causada pela deposição de imunocomplexos. (a) Deposição de imunocomplexos nos tecidos. (b) Deposição de imunocomplexos na parede dos vasos.

Doenças causadas por imunocomplexos podem ser localizadas ou sistêmicas

DOENÇA PULMONAR DO FAZENDEIRO

Também conhecida como pneumonite por hipersensibilidade ou alveolite alérgica extrínseca. É causada pela inalação de poeira contendo material orgânico, em geral, esporos de fungos e bactérias. Essa doença se caracteriza pela inflamação alérgica dos alvéolos e acomete principalmente os trabalhadores das fazendas que manipulam silagens, fenos ou grãos mofados. Daí a origem do nome.

A forma localizada de hipersensibilidade do tipo III ocorre devido à deposição de imunocomplexos em determinados tecidos ou órgãos, causando, por exemplo, a pneumonite por hipersensibilidade, também denominada alveolite alérgica extrínseca. Um exemplo dessa pneumonite é a **DOENÇA PULMONAR DOS FAZENDEIROS**. Essa patologia acontece principalmente nos países do hemisfério norte, onde os invernos são mais rigorosos. Nesse período, os animais são alimentados com feno, um tipo de forragem desidratada. Quando esse feno é produzido ou armazenado de forma inadequada ele acaba sendo contaminado por fungos, dentre eles os actinomicetos. Ao manipular o feno, os trabalhadores acabam inalando e produzindo níveis elevados de anticorpos principalmente contra os esporos do fungo. Com a exposição repetida a esses antígenos, ocorre a formação e deposição de complexos imunes na parede dos alvéolos pulmonares o que desencadeia um processo inflamatório local. Em consequência disso, o indivíduo apresenta tosse e dificuldade respiratória intensa algumas horas após a exposição ao antígeno e, da mesma forma, essa patologia também acomete os animais. Afinal ambos, homens e animais, estão expostos aos mesmos antígenos! Outras situações também podem causar pneumonites com a patogênese semelhante. Vamos ver mais alguns exemplos? Bibliotecários podem desenvolver uma doença similar pela inalação de poeira de livros, bioteristas podem se sensibilizar ao inalar proteínas originadas da urina de ratos, pessoas que cultivam cogumelos podem inalar esporos de actinomicetos presentes no solo etc.

A forma experimental da doença localizada mediada por imunocomplexos foi descrita em 1903 por Maurice Arthus e foi denominada reação de Arthus. Acompanhe pela **Figura 17.6** o mecanismo da reação de Arthus. A injeção de antígeno pela via subcutânea num animal previamente imunizado ou que tenha recebido, passivamente, pela via intravenosa, anticorpos contra esse mesmo antígeno, leva à formação e deposição de complexos imunes na parede dos capilares e nos tecidos do local da injeção. Os imunocomplexos induzem a uma reação inflamatória local, cuja gravidade, depende da quantidade de imunocomplexo depositado.

A doença sistêmica causada por imunocomplexos foi descrita no início do século XX e foi denominada doença do soro. Esse nome foi atribuído a esta patologia porque, naquela época, os pacientes que eram submetidos à soroterapia para tratamento de doenças infecciosas, apresentavam, alguns dias após a administração do soro, um quadro caracterizado por febre, urticária, adenopatia, dores nas articulações e proteinúria. Esse quadro era em decorrência de anticorpos produzidos pelos pacientes contra as proteínas do soro dos eqüinos, animais fonte dos soros hiperimunes. Esses sintomas apareciam em torno de oito a 14 dias após a administração do soro heterólogo e eram causados pela deposição de imunocomplexos nos glomérulos renais, nas articulações e tecidos subcutâneos. Hoje, somente algumas doenças ainda são tratadas com a administração de soros, ou seja, de anticorpos específicos produzidos principalmente em eqüinos. Essas doenças incluem os envenenamentos por picadas de serpentes, aranhas, escorpiões, intoxicações por toxinas botulínicas, tetânicas etc.

Vários tipos de infecções por bactérias, vírus e parasitas podem provocar doenças sistêmicas causadas pela formação de imunocomplexos solúveis entre os anticorpos e os antígenos presentes no organismo infectado. Esses complexos são formados quando há um excesso de antígenos, o que acarreta a formação de complexos com tamanhos menores e que são capazes de fixar complemento. Entretanto, esses complexos não são eliminados pelo sistema mononuclear fagocítico. A tendência é que esses complexos se depositem, principalmente na parede dos vasos sanguíneos, nos glomérulos renais e nas articulações. Essas doenças causadas pelos imunocomplexos podem ser agudas, quando existe uma única grande dose antigênica. No caso crônico, são causadas pela persistência do foco infeccioso. Esse grupo também inclui as doenças autoimunes, em que se formam complexos de auto-anticorpos com antígenos autólogos, presentes no sangue ou no espaço extracelular.



ATIVIDADE

4. Atualmente os soros antipeçonha ou antitoxina produzidos, para administração humana, são submetidos à digestão com papaína ou pepsina para retirada da fração Fc dos anticorpos. Com base no que acabamos de ver, justifique este procedimento.

Ao concluir esta atividade você terá atingido o objetivo um desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

*Tal procedimento se justifica pelo fato de que a Fc dos anticorpos é responsável pela fixação do complemento pela via clássica. Sendo assim, a retirada da Fc dos anticorpos elimina a geração, pela via clássica, dos fragmentos C3a, C4a e C5a que fazem quimiotaxia para neutrófilos e induzem inflamação, como pode ser visto na **Figura 17.5**. Além disso, a ausência da Fc impossibilita a fagocitose mediada por essa estrutura, o que pode diminuir a desgranulação dos neutrófilos. Experimentalmente, também já foi demonstrado que animais deficientes em neutrófilos ou do receptor Fc γ RIII não desenvolvem a reação de Arthus. Estes fatos demonstram a importância dos neutrófilos e da Fc no desencadeamento das reações de hipersensibilidade do tipo III. Se você escreveu algo similar a isso, parabéns! Você acertou! Se você errou, esperamos que ao ler essa resposta, a sua dúvida tenha sido esclarecida. Caso contrário, reveja o texto e procure a tutoria da disciplina.*

REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE TIPO IV

A reação de hipersensibilidade do tipo IV é também conhecida pela sigla DTH de hipersensibilidade tardio tipo IV (do Inglês – *delayed-type hypersensitivity*). Diferentemente das reações de hipersensibilidade que descrevemos até agora e que são mediadas por anticorpos, a hipersensibilidade tardia é mediada por células T específicas. O termo tardio se deve ao fato de que essa reação atinge o seu máximo em 1-3 dias, ao contrário das hipersensibilidades mediadas por anticorpos que se manifestam em tempos que variam de minutos a horas. O protótipo da reação de hipersensibilidade tipo IV é um artefato ainda utilizado na

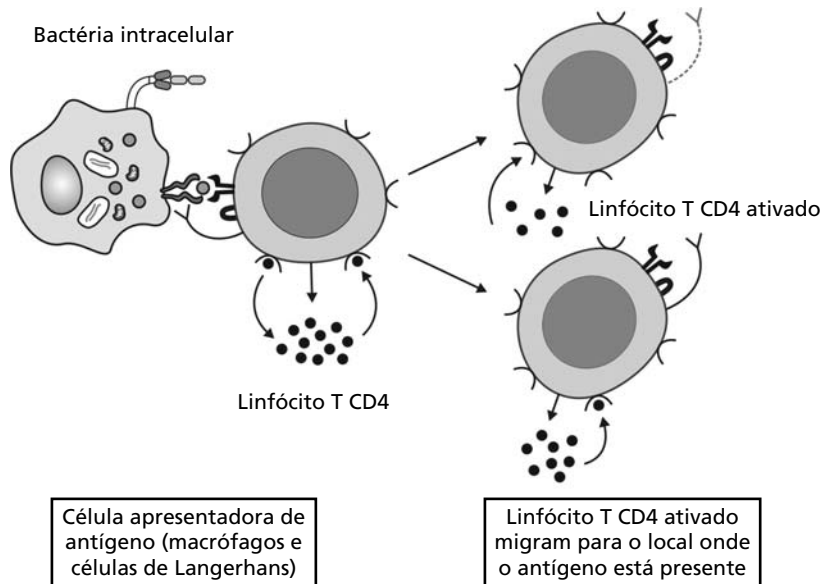
medicina moderna, o teste de tuberculina. Ele é utilizado para determinar se um indivíduo foi infectado previamente com o *Mycobacterium tuberculosis*, o agente causal da tuberculose. A tuberculina consiste em um antígeno, chamado PPD, derivado da cultura de *M. tuberculosis*. Quando o PPD é inoculado pela via subcutânea em um indivíduo com tuberculose ou que esteja imunizado contra a tuberculose, induz a uma reação inflamatória mediada por célula T que atinge o máximo em 24-72 horas após a injeção. O local da injeção fica avermelhado, inchado e endurecido em função do infiltrado celular, representado principalmente por macrófagos. Na prática clínica, a perda da capacidade de desenvolver reações de DTH contra antígenos comuns no ambiente, tais como contra a levedura *Cândida spp*, é um indicador da deficiência funcional de linfócitos T.

Desenvolvimento da hipersensibilidade tardia

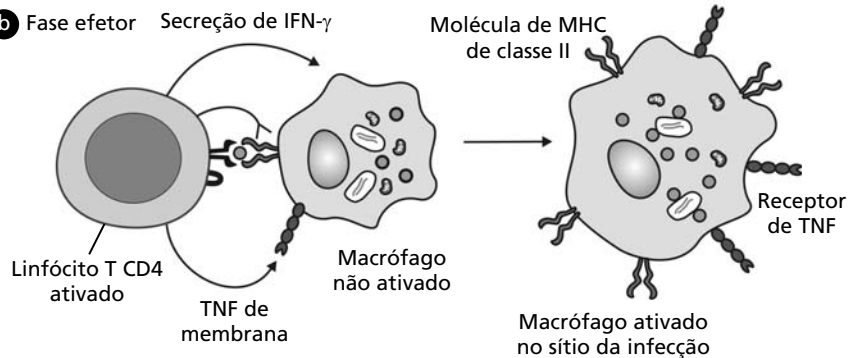
A hipersensibilidade do tipo IV inicia com uma fase de sensibilização que é caracterizada pela captação e processamento do antígeno pelas APCs no local, como pode ser visto na **Figura 17.7**. Na próxima etapa, as células T CD4 e, em alguns casos, T CD8 que já foram previamente ativadas, como você já viu nas aulas de ativação de linfócitos, reconhecem especificamente o antígeno apresentado pelas APCs no local da lesão e produzem várias citocinas do padrão Th1, principalmente a IL-2 e o IFN- γ e outras citocinas inflamatórias, como ilustra a **Figura 17.7**. Essas citocinas aumentam a permeabilidade vascular e também induzem ao influxo de células no local representado principalmente por macrófagos e que são ativados pelo IFN- γ presente no local. Como já vimos na aula de mecanismos efetores da imunidade celular, os macrófagos ativados exibem uma alta capacidade fagocítica e de destruição de microrganismos pela produção de vários mediadores citotóxicos. Além disso, macrófagos ativados apresentam altos níveis de expressão de moléculas de MHC e de moléculas de adesão, aumentando, assim, sua eficiência na apresentação de antígenos. O aumento da atividade fagocítica e a alta produção de compostos citotóxicos no local onde o antígeno está presente, resulta na destruição de tecidos do hospedeiro e também do patógeno. Em geral, os patógenos são rapidamente eliminados sem muitos danos teciduais locais. Entretanto, nos casos em que o antígeno não é facilmente elimi-

nado, ocorre uma reação de hipersensibilidade tardia por tempos mais prolongados que pode causar injúrias teciduais mais graves, com uma intensa resposta inflamatória e indução de uma reação granulomatosa, ou seja, formação de granuloma.

a Fases de sensibilização



b Fase efetor



Células T CD4 ativadas secretam:

Citocinas: IFN- γ , TNB- β , IL-2, IL-3, GM-CSF

Quimiocinas: IL-8, MCAF, MIF

Macrófago ativado apresenta:

- Aumento da expressão de MHC II
- Aumento da expressão do receptor de TNF
- Aumento da produção de radicais de oxigênio
- Aumento da produção de óxido nítrico

Figura 17.7: Ilustração representativa do mecanismo da hipersensibilidade do tipo IV.

Veja na **Figura 17.8** a estrutura do granuloma. Ele se forma quando os macrófagos são continuamente estimulados e produzem citocinas e fatores de crescimento que modificam o microambiente local. Nessas condições, os macrófagos sofrem mudanças morfológicas e assumem aspectos epitelióides e, em alguns casos eles se fundem formando células gigantes multinucleadas. As células gigantes liberam no local uma grande quantidade de enzimas proteolíticas que destroem os tecidos adjacentes. Em alguns casos, podem destruir vasos sanguíneos que resultam áreas de necrose tecidual. Os tecidos lesados são substituídos por tecidos conectivos que caracterizam uma reação de DTH crônica. A inflamação granulomatosa é freqüentemente associada à fibrose tecidual. Embora a fibrose seja uma resposta de reparo do tecido lesado, ele pode interferir na função do tecido. De fato, na tuberculose, boa parte da dificuldade respiratória apresentada pelos pacientes é devida à fibrose do tecido pulmonar e não devido ao microrganismo. A resposta inflamatória granulomatosa é típica de alguns microrganismos persistentes, tais como *M. tuberculosis*, alguns fungos e protozoários.

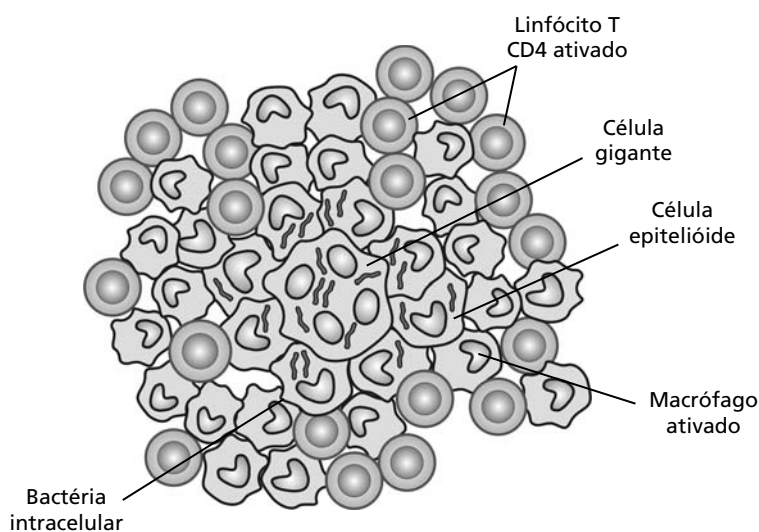


Figura 17.8: Figura esquemática da estrutura de um granuloma.

Nesta aula, você viu que a resposta imune nem sempre é benéfica ao hospedeiro. Ao contrário, algumas vezes ela é responsável pelo desenvolvimento de várias patologias. Parece frustrante, não é mesmo? Na verdade, o sistema imune está simplesmente desempenhando a sua função que é reconhecer o estranho e ativar mecanismos de destruição daquilo que lhe é estranho. Infelizmente, nem sempre a ativação induz o(s) mecanismo(s) efetore(s) adequado(s) para o antígeno e, além disso, às vezes, a resposta direcionada contra o alvo atinge também os tecidos adjacentes. Em ambos os casos, resultam em lesões dos tecidos próprios.

ATIVIDADE FINAL

No quadro a seguir correlacione os eventos imunológicos com as reações de hipersensibilidade. Esta atividade contempla os dois objetivos dessa aula. Vamos lá! Capriche!

Eventos imunológicos	Hipersensibilidades			
	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
1-Desgranulação de mastócitos mediado pela IgE.				
2-Lise pelo complemento de hemácias ligadas a anticorpos.				
3-Desgranulação de mastócitos mediados por C3a, C4a e C5a.				
4- Ativação de macrófagos por IFN- γ				
5-Deposição de complexo antígeno-anticorpo nos glomérulos e nas articulações.				
6- Histamina é uns dos principais mediadores.				
7-Macrófagos são as principais células efetoras.				
8- Pode ser prevenido pela administração de anticorpos Rhogam.				

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu 1- tipo I; 2- tipo II; 3- tipo III; 4- tipo IV; 5- tipo III; 6- tipo I; 7- tipo IV; 8- tipo II. Parabéns, você acertou! Mas se você errou, reveja os conceitos desta aula e refaça esta atividade. Certamente você acertará. Mas se tiver dúvidas, lembre-se de que os tutores da disciplina estão sempre dispostos a lhe ajudar!

RESUMO

A hipersensibilidade imediata se caracteriza pela produção exagerada de anticorpos IgE devido a exposições repetidas ou contínuas ao antígeno alergênico. No primeiro contato inicia-se a produção de IgE e acontece a sensibilização, principalmente, dos mastócitos. Nos contatos subseqüentes com o alérgeno, ocorre o desencadeamento da reação alérgica que pode ser sistêmica ou localizada.

A reação de hipersensibilidade do tipo II envolve os anticorpos IgM ou IgG que são direcionados a antígenos presentes na superfície celular. Assim, a destruição celular acontece pela ativação do sistema complemento e/ou pela citotoxicidade celular dependente de anticorpos. Dessa maneira, também dependente de anticorpos IgG ou IgM, acontece hipersensibilidade do tipo III. Entretanto, estes anticorpos se ligam aos antígenos solúveis formando complexos que se depositam nos tecidos ou na parede dos vasos, onde fixam complemento e iniciam uma resposta inflamatória.

A reação de hipersensibilidade do tipo IV, diferente das reações do tipo I, II e III, não depende de anticorpos. Esta reação, também conhecida pela sigla DTH, se caracteriza pela migração de células T CD4 ativada aos tecidos e, subseqüente ativação de macrófagos ou células T CD8 que induzem a lesão tecidual local.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, falaremos sobre como se desenvolve a resposta imune contra as infecções causadas por bactérias, vírus, fungos e protozoários. Vamos precisar de vários conceitos que você já viu. Então, prepare-se.

Metas da aula

Apresentar exemplos de situações de infecção que ilustram a diversidade de interações entre patógenos e hospedeiros; descrever, genericamente, aspectos importantes sobre a imunidade a vírus, bactérias, fungos e parasitas (protozoários e helmintos).

Ao final desta aula, você deverá ser capaz de:

- identificar situações de injúria tecidual causada por patógenos e/ou componentes do sistema imune;
- descrever, de maneira genérica, a imunidade a vírus, bactérias, fungos e parasitas (protozoários e helmintos);
- avaliar os efeitos da diversidade biológica de patógenos e hospedeiros na imunidade a infecções.

Pré-requisitos

Para acompanhar esta aula, você precisa ter estudado as Aulas 2 (Propriedades gerais da imunidade), 3 (Classes de linfócitos), 5 (Inflamação), 11 (Apresentação de antígenos) e 15 (Citocinas).

INTRODUÇÃO

Nas aulas anteriores, você estudou os componentes do sistema imune e muitos dos principais mecanismos de operação que se conhecem sobre o mesmo. Nesta aula, veremos alguns exemplos de como o sistema imune e os patógenos interagem em graus diversos de complexidade durante os processos infecciosos e parasitários. Não descreveremos os processos patológicos de doenças causadas por microrganismos e parasitas; você pode encontrar informações dessa natureza em livros de Patologia.



O termo patógeno é utilizado na terminologia das doenças infecciosas e em Imunologia, tanto para se referir a microrganismos (vírus, bactérias e fungos) quanto a parasitas (protozoários, helmintos e ectoparasitas).

Utilizaremos exemplos de doenças para ilustrar a resposta imune em situações de infecções.

Elementos celulares e moleculares da imunidade inata e da imunidade adaptativa atuam na resposta imune contra patógenos, mas as injúrias teciduais que ocorrem durante as doenças infecciosas podem ser causadas tanto por produtos derivados dos patógenos (por exemplo, toxinas) quanto pela própria resposta imune do hospedeiro contra tais patógenos, como você verá a seguir.

Um outro aspecto bastante importante nos processos infecciosos é a capacidade de evasão aos elementos da resposta imune que possuem alguns patógenos. Assim, alguns deles evadem (escapam) da resposta imune, variando a composição antigênica, como o vírus da influenza, por exemplo, ou como o *Plasmodium* (que causa a malária), que também apresenta variação da composição antigênica, embora, neste último caso, seja em função do seu ciclo normal de desenvolvimento no hospedeiro.

Outro tipo de exemplo de evasão de patógenos diz respeito à propriedade que uns apresentam em “subverter” a resposta imune do hospedeiro. Você pode estar se perguntando: “Subverter” como? Subverter no sentido de interferir no curso normal da resposta imune. Assim, por exemplo, os citomegalovírus interferem na apresentação de seus próprios antígenos em células por eles infectadas, e o fazem por meio da remoção de moléculas de MHC classe I do retículo endoplasmático das ditas células que eles infectam. Reveja a apresentação de antígenos na Aula 11.

A INTERAÇÃO PATÓGENO-HOSPEDEIRO PODE RESULTAR EM INJÚRIA TECIDUAL CAUSADA DIRETAMENTE POR PRODUTOS ORIGINADOS DOS PATÓGENOS, MAS TAMBÉM PELA PRÓPRIA AÇÃO DO SISTEMA IMUNE DURANTE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA

Quando nos referimos ao sistema imune como um sistema de defesa, devemos ter em mente que ele é um sistema que opera preservando a integridade individual e não tem *intenção* planejada e inteligente de defesa. Isto significa que o sistema imune não é dotado de *inteligência* a ponto de ser capaz de planejar estratégias de defesa com cem por cento de sucesso ou nenhum prejuízo ao organismo. Não podemos nos esquecer de que o sistema imune é um sistema biológico e, assim como todos os outros, opera de acordo com a sua constituição. Não devemos esperar dele mais que isso! O sistema imune está em constante desafio no enfrentamento aos riscos impostos pela diversidade e à origem de novos organismos, como consequência natural do processo de evolução da vida no planeta. Já falamos sobre esse aspecto da imunidade, isto é, pela sua ação estratégica de preservação do próprio, que se faz presente desde os organismos mais simples e primitivos, até os mais complexos na sua estrutura organizacional. Se você não se lembra, dê uma olhada na Aula 2 desta disciplina.

As patologias observadas nos processos infecciosos tanto podem ser causadas pela ação direta de produtos dos agentes infecciosos quanto pela ação do sistema imune sobre os próprios tecidos do hospedeiro. Esse último aspecto da resposta imune durante os processos infecciosos ocorre pela maneira com que o sistema imune funciona. Para que essas características dos processos infecciosos fiquem mais claras vamos, a seguir, exemplificar situações de injúria tecidual causadas diretamente por produtos derivados de patógenos ou pela ação dos componentes do sistema imune em resposta a patógenos.

Como exemplo da primeira situação, podemos citar as bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* que podem causar entre outros males, respectivamente.

- infecções de pele, abscessos pulmonares, choque sistêmico, intoxicação alimentar;
- pneumonia e meningite.

As **ESTREPTOLISINAS O E S** são toxinas hemolíticas derivada de bactérias do “grupo A” do gênero *Streptococcus*. A estreptolisina O é tóxica para uma série de tipos celulares como os leucócitos polimorfonucleares e plaquetas, bem como para células em cultura. Anticorpos anti-estreptolisina O podem ser utilizados para diagnosticar infecções por bactérias do gênero *Streptococcus*. A estreptolisina S não é antigênica, mas tem efeito lítico sobre hemácias e leucócitos.

Os **SUPERANTÍGENOS** são toxinas derivadas de bactérias e causam a estimulação de linfócitos T, sem que haja necessidade de apresentação no contexto do MHC. Os superantígenos estimulam um grande número de linfócitos T, mas nem todos os linfócitos T, e por isso não são classificados como ativadores policlonais. Cinco enterotoxinas (SEA, SEB, SEC, SED, e SEE) são superantígenos derivados das bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, que dão origem às duas primeiras letras das siglas SE, de *Staphylococcus Enterotoxins*). Essas enterotoxinas são as responsáveis pelos sintomas de intoxicação alimentar por produtos bacterianos.

Essas doenças são causadas por produtos bacterianos que provocam algum tipo de dano tecidual como as toxinas hemolíticas derivadas dos estreptococos: **ESTREPTOLISINA O E S**, também as deoxiribonucleases A, B, C, e D e, ainda, as hialuronidases que destroem o ácido hialurônico dos tecidos de conectivos. Os **SUPERANTÍGENOS**, derivados dos estafilococos também se constituem em exemplo de moléculas secretadas por bactérias e que causam injúria tecidual. Outro exemplo bastante conhecido na categoria de toxinas derivadas de patógenos é a toxina tetânica (causadora do tétano) produzida pela bactéria *Clostridium tetani*. A toxina tetânica liga-se nas terminações das placas motoras de junções neuromusculares e causam contração muscular irreversível (espasmos) que podem levar o indivíduo à morte por asfixia. A utilização de toxinas produzidas por microrganismos se constitui em um dos modos de ação do bioterrorismo.



O bioterrorismo consiste no uso de agentes biológicos para fins de terrorismo e incluem a utilização de organismos patogênicos ou suas toxinas contra seres humanos, animais ou plantas. O bioterrorismo é hoje uma questão de saúde pública e ações de prevenção já podem ser encontradas em sites que orientam sobre a questão. Por exemplo, orientações sobre o *Bacillus anthracis* (antraz) cuja toxina causa mediastinite (inflamação no mediastino) hemorrágica e necrosante podem ser encontradas nos sites: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no4/pavlin.htm> e <http://www.accessexcellence.org/WN/SU/anthrax.html> e também http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/anthrax_g.htm. Visite os sites e veja como a comunidade científica imagina ser possível minimizar as ações de bioterrorismo contra a toxina no antraz.

Como exemplo da segunda situação, em que a destruição dos tecidos do hospedeiro acontece em decorrência da ação do sistema imune durante respostas inflamatórias infecciosas, vamos descrever os resultados de um conjunto de experimentos que compuseram um trabalho científico publicado em 2001 e que investigou o papel de linfócitos T CD8 citotóxicos (CTL) na infecção de camundongos pelo vírus causador de coriomeningite linfocítica (LCMV), do inglês *lymphocytic choriomeningitis virus*. É importante que você saiba que é difícil identificar quais, e em que extensão, são os mecanismos envolvidos nesse tipo de injúria tecidual. O trabalho científico de 2001 foi publicado na revista *Journal of Virology*, e você pode acessar pelo endereço eletrônico: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11507223, que

foi muito bem delineado e contribuiu sobremaneira para o entendimento dos mecanismos envolvidos nas injúrias observadas no fígado (causando hepatites), em camundongos infectados pelo vírus LCMV. Havia indícios na literatura científica de que duas principais vias citolíticas, mediadas por linfócitos citotóxicos T CD8, isto é, a **VIA DE EXOCITOSE PERFORINA-GRANZIMAS (A E B)** bem como a **VIA FAS** (veja mais detalhes no verbete) estavam envolvidas na injúria tecidual do fígado e na eliminação dos vírus. No entanto, não estava claro se ambas as vias contribuíam, em conjunto ou em separado, para a eliminação dos vírus e/ou para o desenvolvimento de hepatite.

Naquele trabalho, foram utilizadas linhagens de camundongos apresentando defeitos genéticos induzidos ou espontâneos em um ou mais componentes de ambas as vias citolíticas e da via Fas. O trabalho concluiu que todas as vias contribuem em maior ou menor extensão, para a eliminação dos vírus, mas que a via das perforinas, por si só, era suficiente na eliminação dos vírus. No entanto, para que ocorresse a injúria tecidual, era necessário que ambas as vias, perforina-granzimas (A e B) bem como a via Fas atuassem concomitantemente! Esse trabalho foi muito importante para mostrar que a eliminação de um vírus que normalmente causa injúria tecidual pode, em tese, ocorrer sem prejuízo aos tecidos, desde que se conheça e possa inibir a estimulação de vias não desejadas. Não esqueça que o exemplo dado é para o caso em questão (infecção de camundongos pelo LCMV) e que, para casos de infecção viral envolvendo outros vírus (que não o LCMV) em camundongos, outras vias podem ser acionadas, configurando diferente situação daquela que foi descrita. Esse exemplo foi apenas para mostrar que diversas vias citolíticas são acionadas, nos CTLs durante os processos infecciosos, e que algumas podem estar envolvidas apenas na eliminação de patógenos e outras na eliminação de patógenos e na injúria tecidual.

Quando se observa injúria tecidual causada por elementos do sistema imune, em situações de infecção, é comum constatar que moléculas que normalmente ficam contidas no interior das células, passam a ser expostas (saem do interior das células) por exocitose ou em decorrência da perda da seletividade da membrana plasmática, por morte celular no local da inflamação. Algumas dessas moléculas que extravasam do interior das células têm, por si próprias, o potencial de causar danos teciduais (esse é o caso das granzimas, por exemplo);

A VIA DE EXOCITOSE DE PERFORINAS-GRANZIMAS A E B

consiste na exocitose de perforinas e granzimas (tipo A e B), presentes no interior de grânulos pré-formados no citoplasma das CTLs e células NK. As infecções virais podem ser controladas pelas CTLs e células NK por meio dessa via. As perforinas são proteínas que em semelhança ao MAC (ver Aula 7 sobre complemento), formam poros em células-alvo infectadas por vírus. As granzimas A e B, por sua vez, são serinoproteases, isto é, enzimas que apresentam um resíduo do aminoácido serina no seu centro catalítico e estão presentes em muitos processos importantes como na coagulação, inflamação e digestão. Essa via citolítica é muito importante na recuperação de animais e humanos infectados por diversos tipos de vírus.

A **VIA** citolítica **FAS** ocorre por meio da ligação da molécula ligante de Fas (Fas-L), presente na superfície das CTLs ou células NK, à molécula Fas, propriamente dita, na superfície das células-alvo levando estas últimas à morte por apoptose. A molécula Fas (CD95) pertence à da família dos receptores de TNF (Aula 15 Citocinas) e está presente na superfície de muitos tipos celulares inclusive na superfície dos próprios linfócitos T. Animais knockout para Fas ou Fas-L desenvolvem auto-imunidade o que demonstra a importância da interação do par Fas-L/Fas na homeostase e tolerância do sistema imune. No entanto, a via Fas-L/Fas está envolvida nos processos de citólise de células alvos mediados por CTLs e células NK.

outras, em função do tempo em que ficam expostas, podem vir a se constituir em antígenos contra as quais anticorpos são detectados. Esse é o caso da miosina que compõe as fibras musculares e contra as quais se observam anticorpos em diversas situações de infecção por vírus ou protozoários, por exemplo, como no caso das miocardites experimentais causadas por citomegalovírus ou pelo *Trypanosoma cruzi* (protozoário causador da doença de Chagas).

ATIVIDADE



1. Suponha que você tenha ido participar de um congresso de Imunologia no Oriente Médio, em um país suspeito de praticar bioterrorismo e, lá chegando, você se depara com a seguinte situação: uma emergência com suspeita de intoxicação alimentar de norte-americanos participantes do congresso, provavelmente causada por uma salada de maionese. Você tem um amigo nativo no país e tem a oportunidade de ir ao laboratório de imunologia ajudá-lo a investigar se a salada de maionese pode ser a fonte de contaminação alimentar. Esta foi uma demanda do Aiatolá do país onde você se encontra e seu amigo deve obedecê-lo ou morrerá enforcado. Ele não faz idéia de por onde começar. O que você poderia sugerir para iniciar a investigação no laboratório de imunologia? Ao realizar esta atividade, você cumpre o primeiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Você pode sugerir que investigue a presença de superantígenos, isto é, que investigue a presença de enterotoxinas derivadas das bactérias gram-positivas Staphylococcus aureus. O fato de essas enterotoxinas se comportarem como superantígenos faz com que as mesmas possam ser investigadas pela capacidade que têm de fazer linfócitos T proliferarem em cultura. Se amostras da salada de maionese devidamente tratadas forem capazes de induzir a proliferação de linfócitos, então, você pode suspeitar da presença de uma ou mais das cinco enterotoxinas (SEA, SEB, SEC, SED, e SEE).

NOTA: Na verdade, a investigação correta sobre a suspeita de contaminação da salada de maionese requer um protocolo estabelecido para este tipo de investigação, que pressupõe a utilização de PCR em tempo real (real time PCR) para verificar a presença de microrganismos suspeitos de produzirem toxinas, ou ainda o emprego de espectrometria de massa para investigar a presença de toxinas suspeitas de causar a intoxicação. A investigação pela metodologia molecular e bioquímica é mais rápida que a imunológica para esse tipo de situação e produz respostas mais precisas. Rapidez e precisão é o que se necessita nesse tipo de situação. No entanto, a abordagem imunológica mencionada não está errada. Apenas não é a adequada e foi colocada a título de exercitar seu aprendizado.

A IMUNIDADE A VÍRUS

Os vírus se replicam obrigatoriamente no interior das células hospedeiras. Durante esse processo utilizam a maquinaria celular de síntese de ácidos nucleicos (DNA e RNA) e de proteínas. Sua penetração na célula envolve a interação com moléculas comumente expressas na superfície celular. Ao se replicarem, os vírus interferem nos mecanismos fisiológicos celulares e causam injúria que podem levar tanto a:

- 1) lise (rompimento) das células ou
- 2) infecção latente sem lise celular freqüente.

Os organismos infectados por vírus podem responder à infecção por meio da imunidade inata e/ou adquirida. O **Quadro 18.1** descreve elementos da imunidade inata e adquirida em situações de infecção por vírus.

Quadro 18.1: Imunidade aos vírus

Tipo de Imunidade	Principais elementos moleculares e celulares envolvidos	Modo de ação e exemplos
Inata	1) Interferons Tipo I e 2) Lise mediada por células NK	Os interferons tipo I funcionam como inibidores da replicação viral tanto em células infectadas quanto em células não infectadas. Os RNA de fita-dupla, em geral presentes em infecções virais, podem ser reconhecidos por TLRs (Aula 2) e ativar células a produzirem citocinas, aumentando a capacidade citolítica das células NK. As células NK podem reconhecer células infectadas por vírus.
Adaptativa	1) Anticorpos dirigidos contra partículas virais 2) Complemento 3) Células citotóxicas (CTLs)	Anticorpos dirigidos contra partículas virais podem neutralizá-las impedindo sua penetração em células que ainda não foram infectadas. Isto acontece para os vírus que provocam lise celular (rompimento) durante seu ciclo de replicação e infecção de novas células. Os anticorpos podem facilitar a fagocitose de partículas virais por fagócitos (opsonização). O complemento pode atuar sobre vírus com envelope lipídico, bem como pode promover a fagocitose e partículas virais. A imunização oral contra o vírus da poliomielite (um enterovírus) induz à produção de anticorpos IgA que neutralizarão partículas virais. Células citotóxicas (CTLs) eliminam vírus que residem no interior de células por meio de mecanismos de citotoxicidade celular. Esse mecanismo é eficaz para eliminação de células infectadas por vírus que não tendem a provocar lise durante seu ciclo de replicação.

A IMUNIDADE A BACTÉRIAS

O perfil da resposta imune contra bactérias está vinculado à capacidade de replicação da bactéria em questão, isto é, se a mesma se replica no interior ou exterior da célula. Os Quadros 18.2 e 18.3 resumem respectivamente os principais elementos da resposta imune contra bactérias extra e intracelulares.

Quadro 18.2: Imunidade a bactérias extracelulares

Tipo de Imunidade	Principais elementos moleculares e celulares envolvidos	Modo de ação e exemplos
Inata	<ol style="list-style-type: none"> 1) Via alternativa do complemento 2) Ativação de complemento pela via das lectinas 3) Leucócitos recrutados por componentes do complemento 4) Fagocitose 5) Reconhecimento por TLRs 	<ol style="list-style-type: none"> 1) As bactérias gram-positivas (por exemplo as bactérias do gênero <i>Staphylococcus</i>) possuem peptidoglicanas na sua parede celular que podem ativar a via alternativa do complemento (Aula 7). Este mesmo fenômeno acontece por intermédio do LPS presente de bactérias gram-negativas (como por exemplo <i>Streptococcus pneumoniae</i>). 2) A presença de manose na superfície de bactérias é reconhecida por lectina que ativam o Complemento (Ver Aula 7). 3) Leucócitos são atraídos pela ação de componentes do complemento que lisam bactérias (em especial as do gênero <i>Neisseria</i>). 4) A fagocitose ocorre em função do reconhecimento de moléculas na superfície das bactérias pelos fagócitos (como a manose). Observa-se, também, o aumento da capacidade fagocítica pela ação de moléculas que atuam como opsoninas (ex.: componentes do complemento na superfície das bactérias). 5) TLRs na superfície de fagócitos reconhecem moléculas na superfície das bactérias. Em geral todos os elementos envolvidos na imunidade adaptativa convergem para ativação de fagócitos que secretam citocinas que induzem infiltração celular no sítio da infecção, potencializando a resposta inflamatória e muitas vezes induzindo manifestações sistêmicas (ver Aula 5 desta disciplina). O efeito colateral dessas ações em geral é injúria tecidual como já mencionado nesta aula.
Adaptativa	Anticorpos neutralizantes contra as bactérias e/ou suas toxinas	Muitos dos anticorpos contra as bactérias extracelulares são timo-independentes e dirigidos contra antígenos ricos em polissacarídeos. Esses anticorpos atuam neutralizando as bactérias bem como ativam a via clássica do complemento causando lise daqueles microorganismos. Anticorpos dos isotipos IgA e IgG de alta afinidade são os principais em mediar a neutralização. IgM e alguns isotipos de IgG ativam complemento (Aula 7). Alguns antígenos bacterianos estimulam linfócitos T CD4 a secretarem citocinas (IFN- γ , TNF- α) que aumentam a resposta inflamatória e ativam macrófagos os linfócitos T CD4 estimulam também a produção de anticorpos timo-dependentes.

Quadro 18.3: Imunidade a bactérias intracelulares

Tipo de Imunidade	Principais elementos moleculares e celulares envolvidos	Modo de ação e exemplos
Inata	1) Fagócitos (neutrófilos e macrófagos) 2) Células NK	Os neutrófilos em geral iniciam a fagocitose de bactérias intracelulares mas são ineficientes na destruição de bactérias intracelulares patogênicas. Essas bactérias ativam células NK diretamente ou estimulam a secreção da IL-12 pelos macrófagos, que é uma citocina ativadora de NK. As NK ativadas produzem IFN- γ que aumenta a capacidade fagocítica dos macrófagos para esse tipo de bactéria. No entanto, as ações da imunidade inata sobre as bactérias patogênicas intracelulares se limitam a controlar o seu crescimento, e a atuação da imunidade adaptativa é necessária para a sua erradicação. Este é o caso da imunidade contra a bactéria <i>Listeria monocytogenes</i> (causadora da listeriose). A listeriose é a denominação de um grupo geral de sintomas que incluem septicemia, meningite (ou meningoencefalite), encefalite, infecção cervical ou intra-uterina em gestantes, que podem provocar aborto ou nascimento prematuro. A eliminação da infecção pela <i>L. monocytogenes</i> requer a participação de elementos da imunidade adaptativa.
Adaptativa	Imunidade mediada por células T CD4 e CD8	Ambas as células T CD4 e CD8 respondem a antígenos de bactérias intracelulares, no contexto de apresentação por MHC classe II e classe I respectivamente. As células T CD4 estimularão a ativação de macrófagos pela secreção de citocinas (IFN- γ) e também a produção/switching de anticorpos que ativam complemento e irão opsonizar as bactérias facilitando sua fagocitose. As células CD8 serão ativadas mediante dois caminhos: 1) se antígenos bacterianos são transportados do fagossoma para o citosol ou 2) se a bactéria escapa do fagossoma e entra no citoplasma de células infectadas. Neste último caso, a bactéria não mais estará susceptível às ações microbidas mediadas por fagócitos, ficando apenas susceptível à citotoxicidade celular.

A IMUNIDADE A FUNGOS

As infecções causadas por fungos são conhecidas como micoses. Algumas delas têm caráter endêmico, isto é acometem parte de uma dada população e são, via de regra, causadas por esporos de fungos presentes no meio ambiente e inalados por indivíduos. Outras micoses têm caráter oportunista e causam doença branda ou nenhum sintoma na maioria da população, mas que, em indivíduos imunossuprimidos, podem causar doença grave ou até morte. As infecções por fungos podem se estabelecer em ambiente intra ou extracelular e, por isso, a imunidade contra as mesmas pode ser comparada respectivamente àquela descrita para bactérias intra e extracelulares, conforme você pode observar no Quadro 18.4.

Quadro 18.4: Imunidade a fungos

Tipo de Imunidade	Principais elementos moleculares e celulares envolvidos	Modo de ação e exemplos
Inata	Os principais tipos celulares da imunidade inata contra fungos são os neutrófilos e os macrófagos	Os neutrófilos liberam substâncias antifúngicas (reativos de oxigênio) e enzimas lisossomiais. Algumas linhagens de fungos virulentas como o <i>Cryptococcus neoformas</i> inibem a produção de TNF- α e de IL-12, ao mesmo tempo que induzem a secreção de IL-10. Isto faz com que a capacidade fagocítica e microbicida dos macrófagos diminua e até se anule.
Adquirida	Imunidade mediada por células T CD4 e CD8	As células CD4 e CD8 cooperam para a eliminação de fungos como ocorre em bactérias intracelulares. Este é o caso da imunidade celular observada contra <i>Cryptococcus neoformas</i> que tende a colonizar o pulmão e o cérebro de indivíduos imunodeficientes e também contra o <i>Histoplasma capsulatum</i> , que é uma parasita intracelular facultativo causador da histoplasmose (uma micose comum em situações de imunodeficiência).

A IMUNIDADE A PARASITAS

As infecções parasitárias (causadas por protozoários e helmintos) afetam milhões de pessoas em todo o mundo, em especial nos países em desenvolvimento. Somente a malária mata cerca de um milhão de pessoas em todo o mundo anualmente, sendo que mais de cem milhões de indivíduos em todo o mundo sofrem dessa doença (OMS, 2003). Em geral, os parasitas (protozoários e helmintos) apresentam ciclo de vida complexo envolvendo mais de um hospedeiro, dentre eles o homem. A infecção ocorre por picada de insetos ou exposição à água e alimentos contaminados. A resposta imune contra os parasitas em geral não é suficiente para a sua eliminação para a maioria da população afetada e requer tratamento com medicamentos específicos contra tais organismos. Em áreas afetadas, tratamentos por medicação específica repetidos são necessários, no entanto, muitas vezes não são praticados pelos altos custos e pela logística de sua aplicação. A resposta imune contra os parasitas envolve elementos da imunidade inata e adquirida conforme você pode observar no **Quadro 18.5**.

Quadro 18.5: Imunidade a parasitas (protozoários e helmintos)

Tipo de Imunidade	Principais elementos moleculares e celulares envolvidos	Modo de ação e exemplos
Inata	Fagocitose mediada por neutrófilos e macrófagos. Produtos de fagócitos que são nocivos a parasitas	A fagocitose mediada por neutrófilos e macrófagos parece ser o principal mecanismo da imunidade inata contra parasitas. No entanto, alguns parasitas (helmintos), pelo seu tamanho, são impossíveis de serem fagocitados. No entanto, os fagócitos podem secretar substâncias que sejam nocivas contra parasitas extracelulares que não são fagocitados. Observa-se que muitos parasitas apresentam mecanismos de resistência à lise mediada pelo complemento, fazendo-os resistentes a esta ação do sistema imune.
Adquirida	Anticorpos (IgE, IgM e subclasses de IgGs capazes de fixar complemento), imunidade mediada por células, fagocitose opsonizada por anticorpos, citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), mediada por eosinófilos e macrófagos	Os diferentes parasitas estimulam diversos mecanismos da imunidade adaptativa. Em geral, a imunidade contra os protozoários depende de mecanismos similares àqueles descritos para bactérias intracelulares. Mas os helmintos, dependem de mecanismos mais complexos que envolvem a participação de anticorpos associados a mecanismos de citotoxicidade celular. A resposta imune ao helminto <i>Schistosoma mansoni</i> , por exemplo, causador da esquistossomose ou “xistose” depende de anticorpos e de células como os eosinófilos e macrófagos que irão mediar, juntamente com os anticorpos, os mecanismos de citotoxicidade celular (ADCC). Na leishmaniose, a atuação de células T CD4 helper secretando IFN- γ , é de importância fundamental para a erradicação da infecção em modelos experimentais.

CONHECENDO SOBRE DIFERENÇAS INDIVIDUAIS NA RESPOSTA IMUNE A PATÓGENOS

Vimos de maneira genérica que, na interação patógeno-hospedeiro, elementos da imunidade inata e da imunidade adaptativa atuam de modo a produzir resposta imune capaz ou de eliminar ou de diminuir os efeitos patogênicos dos organismos infecciosos. No entanto, quando observamos a manifestação das doenças causadas por muitos patógenos, constatamos que existe um espectro na apresentação clínica (incluindo os sinais e os sintomas apresentados pelos pacientes) que varia amplamente.

Assim, a infecção de humanos pelo *Mycobacterium leprae* (uma bactéria intracelular), causadora da hanseníase, pode produzir nos pacientes duas formas polares de apresentação clínica da doença. São elas as formas lepromatóide e a tuberculóide. Muitos pacientes, no entanto, apresentam formas intermediárias entre a tuberculóide e a lepromatóide. Investigações em laboratórios de pesquisa sobre a resposta imune em pacientes portadores das formas polares mostraram que os portadores da forma lepromatóide (que apresentam lesões na pele

e tecidos subjacentes) apresentam níveis elevados de anticorpos no soro, bem como produzem pouco ou nenhum IFN- γ e IL-2, ao passo que a produção de IL-10 é elevada. A atividade microbicida de macrófagos está bastante diminuída nesses pacientes. Por outro lado, descobriu-se que o nível de bactérias nas lesões lepromatosas é elevado. Já os pacientes portadores da forma tuberculóide (que apresentam lesão de pele em grau bem menor que os portadores da forma lepromatosa, mas têm sensibilidade sensorial periférica diminuída) apresentam níveis baixos de anticorpos anti *Mycobacterium*, altos níveis de produção de IFN- γ e IL-2 e atividade microbicida de macrófagos elevada. Nesses pacientes encontram-se poucos microrganismos nas lesões.

Os resultados dessa investigação nos mostram que a resposta imune contra um patógeno da mesma espécie pode produzir respostas imunes diferentes em indivíduos, as quais, em última análise, se refletirão na apresentação clínica da doença. Nesse caso fica claro que os pacientes portadores da forma lepromatóide montam resposta imune do tipo TH-2 (T-helper 2) em que a baixa produção de IFN- γ e a alta produção de IL-10 levam à diminuição da função microbicida de macrófagos, causando prejuízo na eliminação das bactérias que são intracelulares e, portanto, para serem eliminadas dependem de imunidade mediada por células (como pode ser visto no **Quadro 18.3**). Ao contrário, na forma tuberculóide, os pacientes montam resposta imune tipo TH-1 (T helper 1) com elevada produção de IFN- γ e ativação da função macrofágica que é importante para controlar o crescimento bacteriano na lesão. A conclusão dessa investigação é que a resposta imune do tipo TH-1 contra o *Mycobacterium leprae* é mais benéfica para o paciente do que a resposta do tipo TH-2.

Vários outros exemplos de diversidade no perfil da resposta imune apresentada por grupos de pacientes acometidos pelo mesmo patógeno têm sido observados na literatura científica. Eles se assemelham ao estudo das formas polares de manifestação clínica da infecção pelo *Mycobacterium leprae* que acabamos de descrever. Isto é, esses estudos pressupõem a inclusão de pacientes em diferentes grupos de acordo com as semelhanças na apresentação clínica da doença em questão. Diversos parâmetros da resposta imune são estudados e comparados entre os grupos e correlacionados à apresentação clínica da doença. Essa sistemática de estudo tem auxiliado na compreensão de mecanismos

imunológicos envolvidos no desenvolvimento de patologias de diversas doenças. O inverso também é feito, isto é, agrupam-se indivíduos não infectados, mas que sabidamente estão, como outros, expostos a riscos de infecção vivendo em áreas endêmicas. A resposta imune específica contra o patógeno em questão é estudada nesse grupo, para que se conheçam possíveis mecanismos de resistência à infecção contra o mesmo. Essa sistemática de estudo também tem se mostrado útil na compreensão de mecanismos imunológicos envolvidos na resistência ao desenvolvimento de infecções em indivíduos vivendo em áreas endêmicas. Todos esses estudos devem considerar que fatores como idade, sexo, raça, condições socioeconômicas podem influenciar nos resultados e que, portanto, devem ser pareados (isto é, tornados o mais semelhante possível) entre os grupos clínicos.

Você pode estar se perguntando o porquê dessas diferenças na apresentação clínica de doenças causadas por uma mesma espécie de patógenos. E o porquê da diversidade de respostas pelos pacientes. Estas perguntas estão ainda em aberto para a Ciência, mas já podemos imaginar que uma série de fatores se somam para gerar a diversidade de apresentação clínica e as possibilidades diversas de resposta imunológica. Um dos fatores diz respeito à diversidade genética de pacientes e dos próprios patógenos. Mas a diversidade genética não é tudo, é apenas um fator dentre tantos outros como fatores ambientais, sociais etc., que também são importantes no cenário das diversidades mencionadas.

ATIVIDADE



2. Em conversa com uma amiga economista que acaba de voltar do norte de Minas Gerais, vale do Jequitinhonha, onde passou mais de dois meses, você descobre que ela se apresenta febril, desanimada mesmo, após levar uma temporada tranqüila e descansar bastante tomando banho de lagoa quase que diariamente. Como bom (boa) biólogo(a), você sabe que o norte de Minas é uma região endêmica para a esquistossomose (xistose). Então, imediatamente, você recomenda que ela faça exame de fezes. O resultado vem positivo para *Schistosoma mansoni*. Além de encaminhá-la ao médico para tratamento, você solicita a uma outra amiga que está fazendo sua tese de doutorado em Imunologia, que investigue parâmetros da resposta imune específica de sua amiga adoentada. Quais parâmetros imunológicos você solicitaria à sua amiga imunologista investigar? Por que a escolha de tais parâmetros? Ao realizar esta atividade, você atende ao primeiro objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

*Você pode solicitar a investigação de subclasses de anticorpos (IgG, IgM e IgE) específicas contra antígenos do parasita e; capacidade de eosinófilos e macrófagos mediar reações de citotoxicidade dependente de anticorpos. Por se tratar de um parasita (helminto) complexo, as reações de citotoxicidade celular mediadas por macrófagos e eosinófilos (**Quadro 18.5**), esses últimos, com a participação de IgE, devem estar presentes como indicativo de que sua amiga apresenta imunidade compatível com aquela que se espera para esse tipo de infecção.*

CONCLUSÃO

Vimos, ao longo do nosso curso de Imunologia, às vezes em maior ou em menor grau de detalhes, diversos mecanismos moleculares de ativação de células e de demais elementos que compõem a resposta inflamatória. Considerando as diversas possibilidades de interação entre patógenos e hospedeiros vistos nessa aula, podemos agora melhor vislumbrar a imensidão de possibilidades existentes na composição da imunidade a um dado patógeno em uma população de indivíduos. Essa imensidão de possibilidades se traduz no amplo espectro das apresentações clínicas que, na prática, observamos existir entre os seres humanos contra um mesmo patógeno. Assim, pelo que vimos ao longo de nosso curso e, em especial, nesta aula, é que nunca encontramos coincidência absoluta de sintomas e sinais entre pacientes acometidos por uma mesma doença. Esse é um belo exemplo ilustrativo da diversidade biológica sobre a qual Charles Darwin chamou a atenção da humanidade. Isso não é fantástico?

ATIVIDADES FINAIS

1. Imagine que você esteja concorrendo a uma vaga para cursar pós-graduação *stricto sensu* em Imunologia em uma universidade muito bem conceituada do país. Você tirou nota 10 na prova de conhecimentos específicos. Foi para a entrevista e a seguinte questão lhe foi colocada: como você montaria uma estratégia para

investigar preliminarmente o perfil imunológico de pacientes acometidos pela doença de Chagas (infecção causada pelo *Trypanosoma cruzi*) em uma área endêmica para esta doença?

Dica: a doença de Chagas produz um amplo espectro de sintomas e sinais clínicos. Ao realizar esta atividade, você atende aos segundo e terceiro objetivos desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Você se lembrará do tópico desta aula intitulado “Conhecendo sobre diferenças individuais na resposta imune a patógenos” e proporá que, preliminarmente, você agrupará os pacientes de acordo com os sintomas e sinais clínicos considerando o pareamento entre os grupos de fatores como idade, sexo, condições socioeconômicas etc. Então, como se trata de um parasita intracelular obrigatório, você investigaria elementos da imunidade celular preliminarmente. Com essa resposta, você, com certeza, estaria aprovado para a pós-graduação.

2. Imagine que você esteja em um safári na República democrática do Congo (antigo Zaire). Então você ouve dizer que, não muito distante do seu acampamento, ocorreram duas mortes (por febre hemorrágica) de pessoas que haviam trabalhado na retirada de carcaças de animais mortos em um surto por doença hemorrágica. Todos estão muito assustados no seu acampamento e você é a única pessoa capaz de informar algo às pessoas que ali estão e a sugerir condutas às autoridades de saúde do local para esclarecer o caso. Considere que você esteja de férias no safári, mas que você esteja atualmente trabalhando como imunologista recém-contratado do CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Considere ainda que três pessoas do seu acampamento queixaram-se de febre e mal-estar há poucos minutos.

Pergunta-se: O que você faria para tentar esclarecer o caso? Como os casos das pessoas que estão doentes podem lhe ajudar a esclarecer sobre a possível suspeita que você tem de que se trata de infecção pelo vírus Ebola? Você pediria apenas

a sorologia para o vírus Ebola para tentar identificar a presença de anticorpos específicos contra o vírus?

Dica: A infecção viral pelo Ebola (assim como para alguns outros vírus) causa uma dramática diminuição no percentual de células mononucleares do sangue periférico, o que se constitui em um tipo de “subversão da resposta imune” conforme mencionamos que pode ocorrer em algumas infecções virais. Ao realizar esta atividade, você atende ao segundo objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Como excelente biólogo(a) imunologista que você é, a sua primeira suspeita é que de fato se trata de um surto pelo vírus Ebola. Isso porque o antigo Zaire é o “berço” daquele vírus, que causa febre hemorrágica, muitas vezes fatal para seres humanos e alguns primatas. Considerando que você esteja no CDC você colherá uma amostra de sangue de cada uma das pessoas que se queixaram de febre e mal-estar e as enviará para que se investigue a presença do vírus por PCR. Você poderá solicitar a investigação da presença de anticorpos (sorologia) para o vírus, mas sabe que corre o risco de não detectá-los. Isso porque, como se trata de uma provável infecção aguda no seu início, a probabilidade de encontrar anticorpos contra o vírus é ainda baixa pois os pacientes apresentam-se apenas com sintomas iniciais de uma provável infecção. Os níveis de anticorpos no soro podem ainda ser muito baixos nessa fase. Assim você solicita que sejam feitas reações de PCR para tentar identificar a presença do vírus. Você envia também, para o seu laboratório, amostras de sangue para que avaliem parâmetros imunológicos que possam sugerir que seja de fato uma infecção pelo Ebola. Tais parâmetros podem ser: a marcação de células T, B e NK (mononucleares) para que se avalie seus percentuais no sangue periférico, uma vez que o vírus Ebola causa dramática diminuição nos percentuais dessas células, conforme mencionado também no enunciado da questão.

RESUMO

De maneira genérica, encontramos aspectos importantes de imunidade em situações de infecção causadas por vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos. A interação patógeno-hospedeiro produz grande diversidade de doenças em seres humanos. Nesse cenário, além das peculiaridades que dizem respeito à diversidade dos próprios patógenos ou de seus produtos produzindo efeitos diferentes sobre os organismos que infectam ou intoxicam, devemos ainda considerar a diversidade da resposta imune contra ambos (patógenos e/ou produtos) que pode ser produzida pelos diversos indivíduos de uma dada população. O conjunto de todas essas possibilidades nos desafia a procurar conhecer as diversas formas com que o sistema imune pode responder quando em contato com a diversidade biológica (molecular e de organismos) que coabita nosso planeta. Fazemos essa busca para que possamos desfrutar de conhecimento que possa nos oferecer melhor qualidade de vida.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

A próxima e última aula será dedicada ao estudo das vacinas. Observe que iniciamos nosso curso falando sobre vacinas e terminaremos falando sobre elas também!

Metas da aula

Introduzir o conceito de imunização e apresentar os tipos de vacinas existentes e as suas vantagens e desvantagens.

Esperamos que, após o estudo do conteúdo desta aula, você seja capaz de:

- definir imunização passiva e imunização ativa;
- classificar os tipos de vacinas e suas vantagens e desvantagens;
- descrever as principais vacinas de uso corrente no Brasil.

Pré-requisitos

Para que você possa acompanhar bem esta aula, é importante que tenha claro os conceitos de imunidade humoral, imunidade celular, resposta imune às infecções e alguns conceitos apresentados na disciplina de microbiologia.

UM POUCO DE HISTÓRIA

Ao longo da história da humanidade, as doenças infecciosas foram e ainda continuam a ser uma das principais causas de morte da população mundial. As duas contribuições mais importantes para a saúde pública nos últimos cem anos foram o saneamento básico e os programas de vacinações, os quais, em conjunto, reduziram significativamente as mortes por doenças infecciosas. Dados históricos, recuperados de registros feitos ao longo dos últimos três mil anos, mostram a preocupação em entender a natureza dessas doenças. De maneira empírica, percebeu-se que as doenças infecciosas eram contagiosas e que pessoas que se recuperavam dessas moléstias poderiam ficar resistentes às mesmas. O conceito que emergiu dessas observações certamente serviu de base para as experiências feitas por Edward Jenner, no final do século XVIII, como você já viu na Aula 1, marcando o início da era da vacinologia. Entretanto, a repercussão do trabalho de Jenner só aconteceu muito mais tarde, nos séculos XIX e XX, com novas descobertas nos campos da Microbiologia e Imunologia realizadas por Koch, von Behring, Ehrlich, Pasteur e outros.

No período de 1930 a 1950, aconteceram várias contribuições indiretas que foram importantes para o desenvolvimento das vacinas. Dentre elas podemos citar os métodos de cultivo *in vitro* de vírus e riquétsias em culturas de tecidos e ovos embrionados.

Notáveis contribuições no desenvolvimento das vacinas aconteceram durante a Segunda Guerra Mundial, e marcaram o início da era moderna da vacinologia nos anos 1940. A partir dessa data, notamos um desenvolvimento contínuo da tecnologia de produção de vacinas até o presente. Esses avanços tecnológicos se devem a grandes progressos nas pesquisas básicas e aplicadas, principalmente nas áreas da Bioquímica, Microbiologia, Biologia molecular e Imunologia.

INTRODUÇÃO

Vacinação, no sentido de prevenir doenças infecciosas é, inquestionavelmente, a maior contribuição da medicina à saúde humana. Embora as vacinas atualmente em uso envolvam, na sua produção, desde tecnologias baseadas nos princípios descritos por Jenner e Pasteur até os métodos mais avançados de manipulação genética e intervenção no sistema imune, todas as vacinas têm um objetivo comum que é a indução de uma resposta imune capaz de prevenir a infecção ou limitar os efeitos da infecção. Ambas as respostas imunes, humoral e celular, contribuem para a proteção induzida pela vacina, o que a diferencia da proteção proporcionada pela imunidade inata que incluem os fagócitos, o sistema complemento (vias alternativa e lectina), as barreiras físico-químicas e outros. Um outro elemento crítico induzido

pelas vacinas, a ser considerado, é a memória imunológica, uma vez que a imunização antecede à exposição ao patógeno, e esta exposição pode levar anos para acontecer! Assim, uma resposta imunológica de longa duração, ou seja, uma memória imunológica de longa duração é fundamental para que uma vacina seja eficiente.

Nesta aula, vamos ver os tipos de vacinas disponíveis e as suas principais características, que são responsáveis por salvar milhares de vidas anualmente. Vamos ver, também, as novas abordagens científicas para o desenvolvimento de vacinas contra as doenças que ainda não são prevenidas por vacinas, tais como AIDS, malária, doença de Chagas etc. Temos certeza de que este é um tema que instiga a sua curiosidade. Então, vamos aprender um pouco mais sobre este assunto?



O que é vacina?

A vacina é um produto originado de um agente etiológico que, ao ser administrado a um indivíduo sadio, induz a uma imunidade de longa duração, capaz de proteger esse indivíduo contra uma infecção posterior causada por esse agente. A vacina pode ser constituída por organismos mortos ou atenuados; por componentes purificados do agente infeccioso; por componentes do agente obtidos por síntese ou como proteína recombinante e por genes ou fragmentos gênicos derivados do patógeno. É importante ressaltar que a vacina não deve induzir efeitos colaterais graves no indivíduo vacinado.

AS IMUNIZAÇÕES PODEM SER PASSIVAS OU ATIVAS

A imunidade contra agentes infecciosos pode ser obtida de forma passiva ou ativa. A imunização passiva produz uma resistência temporária por meio de transferência de anticorpos de um indivíduo imune para outro não imune. Esses anticorpos passivamente transferidos conferem uma proteção imediata e específica contra o agente infeccioso em questão. Entretanto, como os anticorpos transferidos são gradualmente eliminados pelo receptor, esta proteção também diminui gradualmente e o receptor fica novamente susceptível ao patógeno.

A imunização ativa envolve a administração do antígeno no indivíduo de forma que ele reaja elaborando uma resposta imune protetora contra o agente infeccioso. Veja na **Figura 19.1** que a reimunização ou a exposição do indivíduo ao agente infeccioso resultará numa resposta

imune secundária contra o patógeno. A desvantagem da imunização ativa é que ela não confere uma proteção imediata. No entanto, uma vez estabelecida, ela possui uma duração longa e pode ser reestimulada.

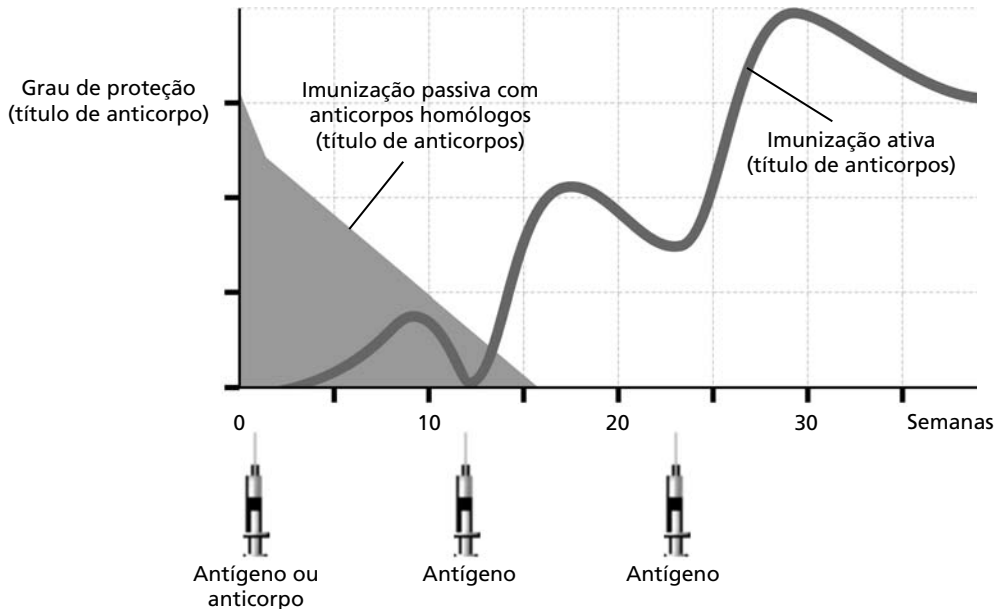


Figura 19.1: Gráfico comparativo entre a imunização passiva e a imunização ativa. Observe que os níveis de anticorpos na imunização passiva decaem rapidamente, enquanto na imunização ativa, os níveis de anticorpos aumentam à medida que é reestimulada com o antígeno.

IMUNIZAÇÃO PASSIVA

A imunização passiva consiste na transferência passiva de anticorpos, que pode ser de forma natural ou pela administração de soro hiperimune e, mais raramente, pela transferência de células ativadas entre indivíduos histocompatíveis. Esse tipo de imunização acontece de forma natural quando anticorpos maternos são transferidos para o feto via placenta e/ou pelo colostro. Esses anticorpos transferidos da mãe para o recém-nascido cumprem uma função importante, que é a proteção do neonato contra as principais doenças presentes no ambiente, com a qual ele estará diretamente em contato, a partir do nascimento. Dentre essas doenças, podemos citar algumas em que os anticorpos são transferidos: contra o vírus da gripe, da poliomielite, do sarampo, contra as toxinas tetânica e diftérica, contra as bactérias *Staphylococcus*, *Streptococcus* etc.

Assim, fica bem clara a importância da amamentação materna nos primeiros meses de vida. Em humanos, ocorre a transferência de anticorpos através da placenta. Porém, em algumas espécies animais, isto não acontece. Nesses casos, a amamentação é fundamental para a saúde do recém-nascido.

Uma outra forma de imunização passiva pode ser realizada pela administração de preparados contendo anticorpos aos pacientes. Esses preparados, contendo anticorpos específicos, podem ser obtidos a partir de soro colhido de animais imunizados, em geral eqüinos, ou de soros de pessoas imunes contra determinadas doenças. Esses soros são colhidos de acordo com as normas éticas vigentes, processados em laboratórios especializados e submetidos a vários processos de controle que incluem teste de potência, de esterilidade, inocuidade, pirogênicos etc, até serem liberados para utilização em humanos. Veja no **Quadro 19.1** alguns exemplos de patologias em que podem ser utilizados os anti-soros. Em geral, eles são utilizados em situações em que há a necessidade de proteção imediata do indivíduo.

Quadro 19.1: Patologias nas quais a imunização passiva ou soroterapia podem ser utilizadas

Doença	Origem dos anticorpos
Picadas de aranha	Antiveneno produzido em cavalos hiperimunizados
Picada de escorpião	Antiveneno produzido em cavalos hiperimunizados
Botulismo	Antitoxina polivalente produzida em eqüinos
Difteria	Antitoxina diftérica produzida em cavalos
Hepatite A e B	Imunoglobulina obtida de humanos
Raiva	Imunoglobulina obtida de humanos
Picada de serpentes	Antiveneno produzido em cavalos hiperimunizados

Você já deve ter percebido que o fato de vários anti-soros serem produzidos em animais, geralmente cavalos, pode trazer alguns problemas na sua utilização em humanos, não é mesmo? E você está certo. A administração de anticorpos heterólogos (originados de espécies animais distintas, como por exemplo o cavalo) em humanos pode resultar na indução de reações de hipersensibilidades, principalmente a do tipo III (doença do soro), como você já viu na Aula 17. Além disso, esse tipo de

terapia não permite que seja de longa duração e nem permite que possa ser repetida. Vamos esclarecer isso um pouco mais? Esse fato acontece porque o anticorpo heterólogo, ao ser administrado ao organismo humano, funciona como um antígeno, que desencadeia uma resposta imune contra essa molécula estranha. Assim, em um curto período após o início da terapia, o anticorpo heterólogo, ao ser administrado, é rapidamente eliminado devido à resposta imune contra ele. Além disso, a reação de hipersensibilidade é tão intensa, principalmente devido à formação de imunocomplexos, que inviabiliza a continuação ou a repetição da terapia.

No final do século passado e início do século XXI, novos avanços na área de bioengenharia de anticorpos permitiram que anticorpos monoclonais murinos fossem “humanizados”. Caso você tenha dúvidas acerca desse assunto, reveja a Aula 22 de Grandes Temas em Biologia e a Aula 6 de Biologia Celular I. Veja na **Figura 19.2** que é possível produzir um anticorpo quimérico, ou seja, a parte hipervariável que se liga ao antígeno (CDR1, CDR2 e CDR3, você viu este assunto na aula de anticorpos) e pode ser transplantada em uma molécula de anticorpo humano. Na verdade, esta operação é realizada no nível genético, isto é, o fragmento gênico que codifica a região hipervariável do anticorpo murino é clonado e transplantado em um gene que codifica o anticorpo humano. Então, esse gene quimérico, que contém a informação genética para codificar um anticorpo cuja região constante seja de origem humana e a região hipervariável de origem murina, é inserido em um plasmídeo adequado que pode ser utilizado para transformar uma bactéria ou uma levedura, que produzirá o anticorpo humanizado. Assim, esses anticorpos humanizados podem, agora, ser utilizados em terapias em seres humanos, sendo que os efeitos colaterais decorrentes da administração desses anticorpos são bastante reduzidos ou inexistentes. Atualmente, existem outras técnicas para produção de anticorpos humanos ou humanizados para utilização terapêutica. Já existem vários anticorpos humanizados que reconhecem alvos específicos e que são utilizados na terapia contra o câncer, contra a rejeição de transplantes, contra toxinas e outras aplicações. Se você quiser saber um pouco mais acerca desse assunto leia a referência (WALDMANN, LEVY; COLLERL, 2000).

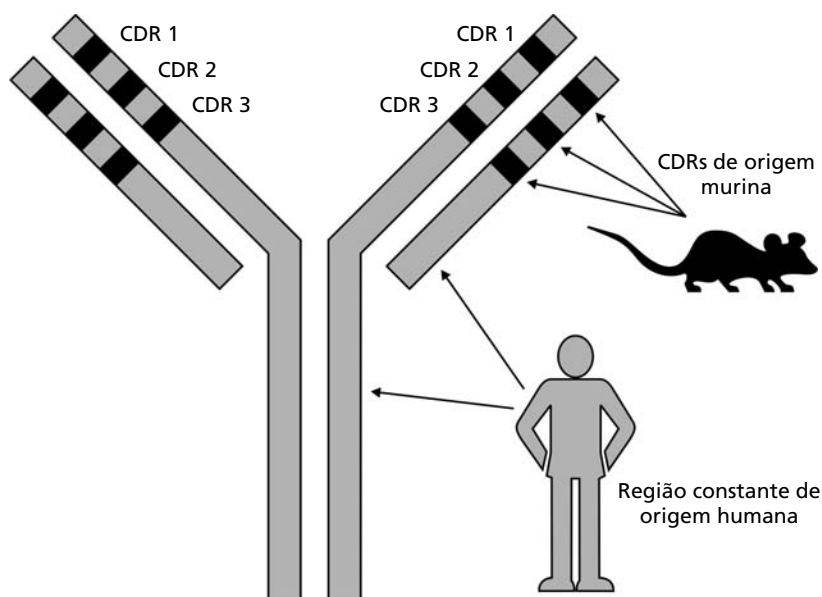


Figura 19.2: Figura esquemática de um anticorpo humanizado.

IMUNIZAÇÃO ATIVA

Os procedimentos de imunização ativa estão entre as medidas mais eficazes e econômicas disponíveis para a preservação e proteção da saúde. Quando a imunização ativa é bem-sucedida, a subsequente exposição ao agente patogênico induz uma resposta imune efetiva capaz de eliminar o patógeno ou prevenir a doença causada pelos seus produtos (toxinas, por exemplo). A imunização ativa pode acontecer de forma natural quando o indivíduo é infectado pelo microrganismo, ou de forma artificial quando ele é vacinado. A utilização de vacinas em programas de imunização em massa é responsável pela redução de milhares de mortes anuais causadas por doenças infecciosas, principalmente entre as crianças. Veja no **Quadro 19.2** a importância das vacinas na prevenção de algumas doenças infantis. Ele apresenta uma relação percentual do ano em que ocorreu o maior número de casos da doença e o número de casos ocorridos no ano de 1995, nos Estados Unidos, quando já existiam os programas de vacinação.

Quadro 19.2: Comparação do ano de maior ocorrência de uma doença em relação ao número de casos ocorridos da doença no ano de 1995 nos Estados Unidos

Doença	Número máximo de casos relatados durante a era pré-vacina	Ano de ocorrência do maior número da doença	Número de casos relatados em 1995	Percentual da redução da morbidade
Síndrome da rubéola congênita	20.000	1964-65	7	-99,96
Difteria	206.939	1921	0	-99,99
<i>Haemophilus influenzae</i> invasiva	20.000	1984	1.164	-94,18
Sarampo	894.134	1941	309	-99,97
Caxumba	152.209	1968	840	-99,45
Coqueluche (Pertussis)	265.269	1934	4.315	-98,37
Poliomielite	21.269	1952	0	-99,99
Rubéola	57.686	1969	146	-99,75
Tétano	601	1948	34	-99,83

ATIVIDADE



1. De acordo com o que você já viu, discuta sucintamente as vantagens e as desvantagens da utilização da imunização passiva e ativa. Esta atividade é relativa ao primeiro objetivo dessa aula. Então vamos lá, capriche!

RESPOSTA COMENTADA

Você, provavelmente, respondeu que a vantagem da imunização passiva é que ela produz uma imunidade imediata, porém, você deve ter assinalado que ela tem as desvantagens de não conferir memória imunológica. A imunidade produzida por ela é gradativamente perdida e, no caso de anticorpos heterólogos, não permite terapia de longa duração. A vantagem da imunização ativa é que ela produz uma imunidade duradoura e também induz à formação de células de memória. Em contrapartida, tem a desvantagem de não induzir uma imunidade imediata, que leva de uma a duas semanas para ser formada. Concluindo, a utilização da imunização ativa ou passiva depende da indicação clínica. De uma forma geral, as vacinas são utilizadas na prevenção de doenças infecciosas, enquanto a

imunização passiva é utilizada quando há a necessidade de uma proteção imediata, como por exemplo, quando um indivíduo é picado por uma serpente venenosa, quando suspeita-se de que o paciente esteja com raiva, ou seja, foi mordido por um cão raivoso etc. Se você seguiu esse caminho, parabéns, você acertou! Se você errou, esperamos que a resposta tenha lhe esclarecido. Se for o caso reveja o texto ou procure os tutores da disciplina.

CLASSIFICAÇÃO DAS VACINAS

As vacinas, de acordo com a forma dos antígenos imunizantes, podem ser classificadas da seguinte maneira.

Vacinas integrais

As vacinas integrais, também conhecidas como vacinas de primeira geração, são constituídas por microrganismos inteiros e podem ser ainda divididas em dois grupos: as vacinas com microrganismos vivos atenuados ou modificados e as vacinas com microrganismos inativados (mortos).

As vacinas vivas atenuadas, como o próprio nome sugere, compreendem as vacinas nas quais o antígeno é um microrganismo vivo, porém, sem a capacidade de induzir à patologia, ou seja, ele não é virulento. Você certamente deve estar se perguntando – como fazer para um microrganismo ser atenuado? Bem, existem algumas formas de induzir a atenuação de microrganismos. Uma delas, é a adaptação do micróbio a um outro sistema hospedeiro. Este foi o método pelo qual Louis Pasteur descreveu em 1882 a vacina contra a raiva. Ele adaptou o vírus da raiva isolado de cães de rua para se replicarem em cérebro de coelhos. Este vírus, depois de inúmeras passagens em cérebro de coelho, foi, então, utilizado para vacinar humanos. Um outro exemplo é a vacina BCG (Bacille Calmette-Guérin) contra a tuberculose. Albert Calmette e Jean-Marie Camille Guérin foram os dois pesquisadores que atenuaram o *Mycobacterium bovis*, o agente causal da tuberculose bovina. Eles cultivaram essa bactéria em meio contendo bile e, após sucessivas passagens neste meio, os pesquisadores comprovaram que o bacilo não se modificava mais e não era virulento para os animais de

laboratório. Além disso, conferia proteção contra a tuberculose. Estava, então, descoberta a vacina contra tuberculose que é utilizada até os dias de hoje. Para saber um pouco mais sobre esse assunto e outras contribuições à Ciência que esses dois pesquisadores fizeram, visite o *site* <http://www.historiadelamedicina.org/calmette.html>. O site está em espanhol e a história é bem interessante. Veja no **Quadro 19.3** as vacinas vivas atenuadas disponíveis para a utilização em humanos.

Quadro 19.3: Classificação das vacinas disponíveis para uso humano

Tipos de vacinas	Doenças	
	Virais	Bacteriana
Vacina com organismos atenuados	Pólio (Sabin), sarampo, caxumba, rubéola, varicela, febre amarela.	Tuberculose, febre tifóide (oral).
Vacina com organismo morto	Pólio (Salk), influenza (gripe), raiva, encefalite japonesa B, hepatite A.	Coqueluche (pertussis), febre tifóide (subcutânea), cólera.
Vacinas macromoleculares (toxóides, antígenos recombinantes e polissacarídeos da cápsula bacteriana)	<ul style="list-style-type: none"> • Antígenos recombinantes: Hepatite B e herpes tipo 2. 	<ul style="list-style-type: none"> • Toxóides: difteria, tétano, shigelose e coqueluche (pertussis). • Antígenos polissacarídeos: Hemophilus influenzae tipo B

Algumas vacinas são classificadas em mais de um tipo, o que significa que elas têm mais de uma forma de apresentação.

As vacinas atenuadas apresentam vantagens e desvantagens. Uma das principais vantagens das vacinas atenuadas é a indução de uma imunidade alta e de uma eficiente produção de células de memória. Isso se dá, principalmente, porque o microrganismo se multiplica no organismo vacinado e reproduz o ciclo do agente etiológico, ativando o sistema imune de forma similar ao organismo patogênico, sem, no entanto, causar a doença. Além disso, este tipo de vacina dispensa o uso de adjuvantes e, geralmente, não necessita de várias doses. Uma exceção é a vacina contra a poliomielite (Sabin), aquela da campanha de vacinação que você vê com certa frequência na mídia – o Zé gotinha. Como você viu no **Quadro 19.3**, a vacina antipólio é com vírus vivo atenuado e, no entanto, é necessário administrar várias doses da vacina. Isto acontece porque a vacina Sabin é constituída de três cepas de poliovírus, e estas três cepas interferem entre si na replicação no intestino.

- Na primeira imunização, uma das cepas predomina em relação às outras duas. Essa cepa, então, se replica em grande quantidade e induz a uma resposta imune eficaz contra ela.

- Na segunda dose, a cepa que predominou anteriormente é inibida pela IgA específica presente na mucosa. Então ocorre a proliferação de uma das duas cepas que não proliferaram antes. A cepa que prolifera induz a uma resposta imune específica contra ela.

- Da mesma forma, na terceira imunização, as duas cepas que induziram à resposta imune são inibidas e a terceira cepa prolifera e induz a uma resposta imune contra ela, assim, ao final de três imunizações o indivíduo estará imune contra as três cepas vacinais de poliovírus.

Vamos falar das desvantagens da vacina atenuada por meio de uma atividade?



ATIVIDADE

2. Com base no que você já aprendeu, o que você acha que pode se constituir como desvantagem na utilização de vacinas atenuadas? Vamos lá, não se acomode, esta é uma boa oportunidade para exercitar o seu raciocínio! Ao concluir esta atividade, você terá atingido o segundo objetivo desta aula.

RESPOSTA COMENTADA

Agora que você já fez o seu exercício mental, vamos ver se você acertou? Bem, uma das principais desvantagens da vacina modificada é a possibilidade da reversão à forma selvagem do microrganismo, ou seja, ele voltar a ser novamente patogênico. No caso da vacina Sabin da pólio, a probabilidade da reversão à forma patogênica do vírus e causar a doença paralítica no indivíduo vacinado é de um caso em 2,4 milhões. Perceba que é uma probabilidade muito baixa, mas ela existe. Entretanto, ela não justifica a não-adesão às campanhas de vacinação, porque se você considerar no nível populacional, um índice de imunização baixo aumenta enormemente a probabilidade de ocorrer um surto da doença e, neste caso, o número de vítimas será muito maior! Logo, não deixe de esclarecer e recomendar fortemente os seus familiares, amigos e principalmente os seus alunos da importância

*dos benefícios das vacinas. Se você ainda não estiver convencido disso, analise o **Quadro 19.2**. Os dados são irrefutáveis. Além disso, a poliomielite está em vias de ser mundialmente erradicada, graças às campanhas de vacinação em massa e à vacina antipólio. Veja no anexo, ao final desta aula, o programa de imunização de crianças, adultos e idosos recomendado pelo Ministério da Saúde. Uma outra desvantagem deste tipo de vacina é que ela não deve ser utilizada em indivíduos imunossuprimidos. É importante ressaltar que não existe uma vacina 100% segura e eficaz. Todas as vacinas aprovadas pelo Ministério da Saúde apresentam um índice, ainda que muito reduzido, de problemas em decorrência da administração da vacina. Se você pensou em algo similar ao que comentamos, parabéns! Você acertou! Mas se você errou, não se preocupe, esperamos que esse comentário tenha sido esclarecedor para você. Caso não tenha sido, procure a tutoria da disciplina.*

As vacinas inativadas ou mortas, como você pode facilmente deduzir, são vacinas nas quais os agentes imunizantes são microrganismos mortos. Em geral é o próprio organismo patogênico que é inativado. Estes organismos são inativados por agentes químicos tais como formaldeído ou agentes alquilantes, como por exemplo a β -propiolactona que é utilizada para inativar o vírus da raiva na produção dessa vacina. A inativação por radiação também pode ser empregada. Uma condição essencial no processo de inativação é que não ocorram, durante o processo, mudanças estruturais dos antígenos na superfície dos microrganismos, principalmente, dos antígenos que induzem à produção de anticorpos neutralizantes ou bloqueadores. Veja, no **Quadro 19.3**, as vacinas humanas produzidas com micróbios inativados. O **Quadro 19.4** compara as vacinas atenuadas e as inativadas. Perceba que ambas possuem características desejáveis e indesejáveis.

Quadro 19.4: Comparação das vacinas atenuadas e inativadas

Características	Vacinas atenuadas	Vacinas inativadas
Produção	Seleção de organismos avirulentos: cultivo do patógeno em meios adversos ou adaptação em sistema hospedeiro heterólogo.	Organismos virulentos podem ser inativados quimicamente ou por radiação.
Imunização	Em geral, requerem somente uma dose e não necessitam de adjuvantes.	Requerem várias imunizações e necessitam de adjuvantes.
Estabilidade relativa	São menos estáveis. Podem reverter a forma patogênica.	São mais estáveis.
Tipo de imunidade induzida	Imunidade humoral e celular.	Induzem principalmente à imunidade humoral.
Pacientes	Não podem ser administradas em indivíduos imunodeprimidos.	Podem ser administradas em indivíduos imunossuprimidos.

Vacinas baseadas em macromoléculas

As vacinas constituídas de macromoléculas são produzidas a partir de macromoléculas derivadas dos microrganismos causadores das respectivas doenças, o que permite que este tipo de vacina não apresente riscos associados às vacinas atenuadas ou inativadas. Veja, no **Quadro 19.3**, que existem três formas principais de apresentação dessas vacinas:

1. toxinas inativadas – toxóides;
2. polissacarídeos da cápsula bacteriana;
3. proteínas recombinantes dos patógenos.

Algumas bactérias patogênicas exercem a sua patogenicidade, principalmente, pelas toxinas produzidas e secretadas por elas (exotoxinas). Dentre estas doenças, podemos exemplificar o tétano, a difteria e a coqueluche, causadas pelas bactérias *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diphtheriae* e *Bordetella pertussis*, respectivamente. As toxinas produzidas por essas bactérias são purificadas e inativadas pelo formaldeído, resultando nos toxóides. Cada toxóide é capaz de induzir anticorpos específicos nos indivíduos vacinados sem produzir a doença. Estes anticorpos induzidos pelo toxóide são capazes de neutralizar a respectiva toxina na sua forma ativa.

As vacinas compostas por polissacarídeos derivados da cápsula bacteriana incluem a vacina contra o *Haemophilus influenzae* tipo b, *Streptococcus pneumoniae* e outros. Esses microrganismos são freqüentemente encontrados causando meningites e pneumonias,

respectivamente. Embora os polissacarídeos sejam antígenos timo independentes, como você já viu na aula de ativação de linfócitos B (Aulas 13 e 14), e são ineficientes na indução de células de memória, eles são capazes de induzir a uma resposta protetora de longa duração. Essa resposta, em geral, é constituída de anticorpos IgM. Esse fenômeno pode ser justificado, possivelmente, pelo fato de que os polissacarídeos não são antígenos facilmente degradados. Assim, eles podem persistir nos órgãos linfóides, estimulando especificamente os linfócitos B por longos períodos de tempo.

A partir da tecnologia do DNA recombinante, teoricamente, qualquer gene pode ser clonado e a proteína codificada por ele pode ser expressa por sistemas de expressão bacteriana, viral, de leveduras ou em células de mamíferos ou insetos, como você já viu na Aula 4 desta disciplina. A vacina contra o vírus da hepatite B foi a primeira vacina produzida e aprovada que utilizou essa tecnologia. Essa vacina é constituída do antígeno da superfície do vírus da Hepatite B denominado HBsAg. O gene que codifica esse antígeno foi clonado e expresso em levedura. O HBsAg recombinante é, então, purificado e associado a um adjuvante e utilizado como vacina, sendo capaz de induzir à produção de anticorpos neutralizantes contra o vírus da Hepatite B.

ADJUVANTES

Adjuvantes (do latim *adjuvare* significa ajudar) são substâncias que, ao serem homogeneizadas com antígenos vacinais e administradas aos indivíduos, aumentam significativamente a resposta imune específica contra o antígeno. Veja, no **Quadro 19.5**, alguns exemplos de adjuvantes e alguns possíveis mecanismos de ação. A utilização de adjuvantes é fundamental nas vacinas inativadas e nas vacinas compostas por macromoléculas, cuja função é induzir uma resposta imune forte e com produção de células de memória de longa duração. A forma como funcionam os adjuvantes ainda não foi totalmente esclarecida. Entretanto, eles podem exercer as suas ações por alguns mecanismos que incluem a formação de depósitos de antígeno com liberação gradual, imunoestimulação de macrófagos, linfócitos, aumentando o processamento e a apresentação de antígenos etc.

Quadro 19.5: Tipos de adjuvantes e a sua forma de ação

Tipo	Adjuvante	Modo de ação
Persistência prolongada do antígeno	Sais de alumínio	Depósito de antígeno com liberação lenta
	Óleo mineral	Depósito de antígeno com liberação lenta
Imunoestimuladores	<i>Bordetella pertussis</i>	Estimulam linfócitos
	Lipopolissacarídeo (LPS)	Estimula macrófagos
	Saponina	Estimula o processamento e apresentação de antígenos
	Sulfato de dextrana	Estimula macrófagos
	Glucanas	Estimulam macrófagos
Adjuvantes particulados	Lipossomas	Atuam no processamento e apresentação de antígenos
	ISCOMs	Atuam no processamento e apresentação de antígenos
	Micropartículas	Atuam no processamento e apresentação de antígenos

Alguns adjuvantes funcionam simplesmente retardando a liberação do antígeno, ou seja, formam um depósito de antígeno associado ao adjuvante que libera o antígeno gradualmente. Um exemplo desse tipo de adjuvante são os sais de alumínio, tais como o hidróxido de alumínio, fosfato de alumínio e o sulfato de potássio e alumínio (também conhecido como alúmen), que são largamente utilizados em vacinas humanas e animais. Quando um antígeno é misturado com um desses sais e inoculado em um indivíduo, forma-se no tecido um granuloma rico em macrófagos. O antígeno dentro do granuloma é gradualmente liberado e resulta em estimulação antigênica prolongada. Nessa situação, antígenos que normalmente persistem por alguns dias, persistem por várias semanas. Entretanto, esse tipo de adjuvante influencia principalmente a resposta primária e muito pouco a resposta secundária. Além disso, uma outra desvantagem dos sais de alumínio é que eles induzem principalmente à resposta humoral e muito pouco à resposta imune celular.

Uma outra forma de liberação gradual de antígenos é com a utilização de adjuvantes oleosos que são constituídos de óleos minerais. Os antígenos são homogeneizados com esses adjuvantes formando emulsões aquosas. Essas emulsões antigênicas, quando injetadas em indivíduos, resultam na formação de granulomas ou abscessos em torno do sítio da inoculação, o que constitui uma desvantagem. Além disso, uma outra desvantagem desses tipos de adjuvantes é a de causarem a irritação ou a destruição tecidual local.

A maioria dos adjuvantes estimula a imunidade inata com o aumento da expressão de co-estimuladores e citocinas, como por exemplo a IL-12, que estimula a proliferação e diferenciação de linfócitos T. Bactérias mortas pelo calor também podem ser utilizadas como adjuvantes, como por exemplo as micobactérias. Entretanto, as micobactérias induzem a uma reação tão intensa no local da inoculação que não permite que elas sejam utilizadas em humanos. Atualmente, existem várias pesquisas que buscam o desenvolvimento de adjuvantes mais efetivos e seguros para o uso humano. Uma alternativa é a utilização de moléculas de origem biológica que estimulam a resposta celular, quando administradas em conjunto com o antígeno, como por exemplo as citocinas. Dentre elas, a utilização da IL-12 junto com antígenos vacinais induz a uma resposta celular muito proeminente. Além disso, já foi demonstrado que o DNA plasmidial também tem atividade de adjuvante. Assim, genes que codificam moléculas co-estimulatórias, citocinas etc. têm sido utilizadas em conjunto com genes que codificam antígenos, nas pesquisas de vacinas por DNA.

VACINAS DE USO CORRENTE NO BRASIL

As vacinas correntemente utilizadas no Brasil, juntamente com os esquemas de vacinações empregados pelo Ministério da Saúde, encontram-se listados nos anexos I, II e III no final desta aula. Vamos, então, conhecer um pouco mais sobre as principais vacinas em uso no Brasil?

Vacinas de origem bacteriana

• Tuberculose BCG

A tuberculose é causada pela bactéria do gênero *Mycobacterium*. Existem vários gêneros que são saprófitas, mas, entre as microbactérias, as principais espécies patogênicas e os respectivos hospedeiros são: *M. tuberculosis* e *M. leprae* (seres humanos), *M. bovis* (bovinos e acidentalmente humanos), *M. paratuberculosis* (ruminantes), *M. avium* (aves). O contágio se dá pelas gotículas de escarro eliminadas pelo enfermo quando tosse ou espirra, ou mesmo pelos aerossóis gerados pelo catarro expelido. Quanto aos sintomas, a tosse prolongada por mais de três semanas, mesmo sem febre, é o primeiro indício da infecção. Depois pode se seguir catarro, febre acompanhada de muito suor, perda de apetite e emagrecimento. A vacina contra a tuberculose denominada BCG é preparada a partir de uma cepa atenuada de *M. bovis*. Segundo recomendações do Ministério da Saúde, a primeira dose deve ser administrada ao nascer ou no primeiro mês de vida e uma dose de reforço entre 6 e 10 anos de idade. A aplicação precoce do BCG visa a reduzir a incidência da tuberculose, especialmente as formas graves da doença, tais como a tuberculose meníngea e a tuberculose miliar, que aparecem com maior frequência até os quatro anos de idade.

• Difteria, tétano e coqueluche (DTP) e *Haemophilus influenzae* tipo b

Tradicionalmente a vacina DTP (difteria, tétano e pertussis) é conhecida como tríplice bacteriana, ou seja, a vacina é composta pela mistura dos três antígenos que induzem a uma resposta imune protetora respectiva para cada uma dessas doenças. Mais recentemente foi desenvolvida a vacina Tetravalente, que incluiu, na vacina Trivalente DTP, o antígeno derivado da *H. influenzae* tipo b que protege contra a meningite e outras infecções causadas pela *Haemophilus influenzae* tipo b. De acordo com o Ministério da Saúde, a recomendação é que a vacinação seja feita aos 2, 4 e 6 meses de idade com a vacina tetravalente e dois reforços com a tríplice bacteriana (DTP). O primeiro reforço é feito aos 15 meses, e o segundo, entre 4 e 6 anos.

A difteria, também conhecida como crupe, é causada pela bactéria *Corynebacterium diphtheriae*, bacilo gram-positivo, que se aloja nas amígdalas, faringe, laringe e fossas nasais causando inflamação que resulta em distúrbios respiratórios graves. É altamente contagiosa e

acomete, principalmente, crianças com até 10 anos. As cepas toxigênicas da *C. diphtheriae* produzem uma exotoxina potente que é responsável pelas formas mais graves da doença. A vacina contra a difteria é feita com a toxina diftérica inativada, o toxóide diftérico que compõe a vacina DTP.

O tétano é causado pela bactéria *Clostridium tetani*, bacilo gram-positivo, anaeróbico. Por ser anaeróbico, no ambiente, encontra-se sob a forma de esporos em locais como terra, areia, espinhos de plantas, fezes, poeira de rua, apenas aguardando uma ferida aberta que lhe dê a oportunidade de se manifestar. O tétano neonatal pode acontecer devido às más condições de higiene durante o parto, ou pelo uso de instrumentos cortantes contaminados para seccionar o cordão, ou pelo uso de materiais para clipagem do coto umbilical. Pode ocorrer também a contaminação pelo uso de substâncias caseiras contaminadas na ferida. A doença é causada pela toxina tetânica produzida pela bactéria que ataca principalmente o sistema nervoso central. São sintomas do tétano a rigidez muscular em todo o corpo, mas principalmente no pescoço, dificuldade para abrir a boca (trismo) e engolir, riso sardônico produzido por espasmos dos músculos da face. A contratura muscular pode atingir os músculos respiratórios e pôr em risco a vida da pessoa. O tratamento é feito pela administração de antibióticos, relaxantes musculares, sedativos e o soro antitetânico. A prevenção é feita pela vacinação com a vacina DTP ou a dupla DT (difteria e tétano) que inclui a toxina tetânica inativada, o toxóide tetânico. O Ministério da Saúde recomenda a vacinação de bebês com 2, 4 e 6 meses, com doses de reforços nas crianças em idade escolar. Recomenda, também, a vacinação de gestantes entre 5 e 7 meses de gestação (prevenção do tétano neonatal) e de certos grupos profissionais, como operários, trabalhadores agrícolas e tropas militares.

Apesar de ser altamente contagiosa, a coqueluche só se torna realmente grave quando ataca menores de um ano de idade, subnutridos ou portadores de imunodeficiências. Trata-se de uma enfermidade que agride o aparelho respiratório e é causada por várias bactérias do gênero *Bordetella*, sobretudo a *B. pertussis*, um bacilo gram-negativo aeróbico não-esporulado. O contágio se dá pelas gotículas de saliva liberadas pelo doente por meio de tosse, espirro ou fala, sendo que objetos contaminados também podem transmitir a doença. A vacina tradicional contra a coqueluche é composta pela *B. pertussis* inativada. Essa vacina

tem boa eficácia, mas apresenta efeitos adversos mais frequentes e intensos. Recentemente, foi introduzida a vacina acelular contra essa doença que é composta por partes da bactéria imunologicamente relevantes. Estima-se que a coqueluche ainda afete 40 milhões de pessoas no mundo, pois nem a imunidade natural nem a adquirida pela vacina duram a vida toda. Até 25% dos adultos com tosse prolongada podem apresentar evidências de infecção recente por *Bordetella pertussis* e a coqueluche em adolescentes e adultos age como reservatório de infecção para crianças vulneráveis. Até recentemente, a vacinação para coqueluche em indivíduos maiores de 7 anos não era recomendada devido ao elevado número de efeitos colaterais da vacina de células bacterianas inteiras. Com a introdução do antígeno vacinal acelular de *B. pertussis*, recomenda-se a vacinação de jovens e adultos que resulta em uma alta imunogenicidade e segurança com baixa reatogenicidade.

A bactéria *Haemophilus influenzae* é um dos agentes etiológicos mais comuns de doenças respiratórias e de meningites em crianças de até 6 anos. Pode causar, também, sinusite e otite média. É uma bactéria gram-negativa e apresenta seis sorotipos distintos, sendo que o subtipo b é o responsável pela maioria das infecções. A transmissão de *H. influenzae* tipo B se dá fundamentalmente pelos aerossóis produzidos pela tosse e espirros de pessoas enfermas ou portadoras da bactéria, e também pelo contato com as secreções respiratórias. Os sinais da infecção são os espirros e a coriza, acompanhados pelos sintomas típicos da pneumonia, como a febre, a tosse produtiva (com secreção) e a dificuldade respiratória. O derrame pleural (acúmulo de líquido no espaço pleural) é uma complicação comum. A vacina é preparada com o polissacarídeo capsular purificado do *Haemophilus influenzae* tipo B, ou seja, um polímero de ribose, ribitol e fosfato poliribosil, conjugado com a proteína tetânica (PRP-T). É importante lembrar que o fato de o polissacarídeo estar conjugado com a proteína tetânica não confere proteção contra o tétano. Atualmente, a vacinação contra a *H. influenzae* é feita junto às três primeiras doses da vacina DTP, ou seja, nos 2, 4 e 6 meses de vida dos bebês.

VACINAS DE ORIGEM VIRAL

- **Vacina contra a hepatite B**

O vírus da hepatite B (HBV) é um vírus DNA de fita dupla, envelopado, e pertence à família Hepadnaviridae. Tem tropismo pelo fígado causando inflamação (hepatite) e se caracteriza por causar infecções persistentes com altas concentrações de partículas virais no sangue. O vírus da hepatite pode ser transmitido pelo sangue nas transfusões, por drogas injetáveis, manicures, tatuagem etc. Pode ser transmitido também pelo contato sexual. Geralmente, após a infecção pelo HBV, os sintomas da hepatite B demoram de 1 a 4 meses para aparecer. Esse prazo, porém, pode ser maior ou a doença tornar-se assintomática, ou seja, o portador do vírus da hepatite pode demorar anos para ter algum sintoma ou nunca vir a tê-los. Os principais sintomas na fase aguda são febre, dor nas articulações, náuseas, mal-estar, dor de cabeça. Em 20% ou 30% dos casos pode surgir icterícia (pele amarelada) e colúria (urina escurecida), o que facilita o diagnóstico. Após cerca de 6 meses, a fase aguda se resolve e o paciente pode ficar imune ao vírus e nunca mais se reinfectar ou pode, ainda, tornar-se portador assintomático (sem sintomas) do vírus. Neste caso, o paciente sofre danos em seu fígado e pode transmitir o vírus sexualmente ou através de seu sangue. Em alguns casos, a infecção pode evoluir para uma hepatite crônica que determina lesões em seu fígado, como cirrose (cicatrização desorganizada do tecido hepático) e hepatocarcinoma (câncer hepático). A vacina contra a hepatite B é feita com a proteína HBsAg recombinante, produzida em leveduras, como já falamos. A vacinação recomendada pelo Ministério da Saúde é a primeira dose ao nascer, a segunda dose com um mês e a terceira dose aos seis meses. Em adultos, a recomendação é de duas doses da vacina com intervalo de um mês e a terceira dose, seis meses após a primeira dose.

- **Vacina contra a poliomielite**

O agente causal da poliomielite é o poliovírus sorotipos 1, 2 e 3, pertencente ao gênero *Enterovírus*, família Picornaviridae. É um vírus RNA de fita simples não encapsulado. A principal forma de transmissão é através do contato direto com pessoas infectadas, pela via fecal-oral ou, secundariamente, por meio de aerossóis expelidos pelo doente ao falar, tossir ou espirrar. Más condições de saneamento, higiene pessoal

deficiente e o elevado número de crianças confinadas em uma mesma área favorecem a disseminação da doença. As manifestações iniciais são parecidas com as de outras doenças virais. Podem ser semelhantes às infecções respiratórias (febre e dor de garganta) ou gastrointestinais (náuseas, vômitos, dor abdominal, constipação intestinal ou, raramente, diarreia). Uma pessoa que se infecta com o poliovírus pode ou não desenvolver a doença. Quando apresenta a doença, pode desenvolver paralisia flácida (permanente ou transitória) ou, eventualmente, evoluir para o óbito. Mais de 95% das infecções são assintomáticas ou subclínicas. As vacinas disponíveis são Sabin (oral, com poliovírus sorotipos 1, 2 e 3 atenuados) e Salk (injetável, com vírus inativado). A vacina Sabin é a vacina utilizada em imunizações de rotina no Brasil. Veja no anexo I a recomendação para a vacinação infantil. A vacina oral contra a poliomielite não deve ser utilizada em pessoas com imunodeficiência (inclusive portadores assintomáticos de HIV) e nem em contactantes desses indivíduos. Os indivíduos com imunodeficiência, além do risco maior de poliomielite vacinal, podem eliminar o vírus pelas fezes por períodos prolongados (meses, anos), o que facilita a ocorrência de mutação (reversão) e constitui um risco para pessoas não vacinadas. No Brasil, a doença chegou a atingir cerca de 4 mil crianças no ano de 1975. A adoção de medidas de controle e intensa vigilância, especialmente com a ampliação da vacinação de rotina e a introdução das Campanhas Nacionais de Vacinação a partir de 1980, diminuíram o número de casos confirmados nos anos de 1987 e 1988, e culminaram, em 1989, com a notificação do último caso com isolamento do poliovírus selvagem no País. Em 1994, o Brasil recebeu o certificado de erradicação da transmissão autóctone pela Organização Mundial de Saúde.

- **Vacina combinada contra sarampo, rubéola e caxumba**

Sarampo, rubéola e caxumba são viroses de elevada transmissibilidade e que são transmitidas por via respiratória. Comumente são incluídas entre as doenças comuns da infância, mas também podem ocorrer em adultos não vacinados ou que não foram infectados quando crianças. Como regra geral, as infecções por esses vírus produzem imunidade permanente, ou seja, uma imunidade que persiste por toda ou quase toda vida. A vacina contra o sarampo, a rubéola e a caxumba é conhecida como tríplice viral ou pela sigla SRC. Essa vacina é

composta pelos três vírus atenuados. A vacinação, segundo o Ministério da Saúde, veja o anexo I, é feita em dose única aos 12 meses de idade e uma dose de reforço na idade de 4-6 anos. A vacinação é contra-indicada durante a gestação e esta deve ser evitada nos três meses que sucedem a aplicação da vacina. Como regra geral, a vacina não deve ser utilizada em imunodeficientes, exceto em situações especiais em que o risco da doença é consideravelmente superior ao imposto pela vacina, como por exemplo nos casos de indivíduos infectados pelo HIV, em áreas de elevada prevalência de sarampo.

O sarampo é uma doença infecciosa, altamente contagiosa. É causado por um vírus RNA, *Paramyxovirus*, subgrupo Morbillivirus. Antes da vacinação em massa, a população mais acometida era de crianças entre 5 a 10 anos. Atualmente, a doença vem ocorrendo mais em adolescentes e adultos jovens, pois um percentual importante desta população não teve contato com o vírus selvagem do sarampo e muitos não receberam uma segunda dose da vacina após 1 ano de idade. A doença se caracteriza pela febre, coriza, conjuntivite, tosse, e presença de enantema característico, denominado manchas de Koplik. O sarampo continua sendo uma ameaça e a forma de erradicá-lo é garantindo uma boa cobertura vacinal. O vírus do sarampo habitualmente provoca doença de maior gravidade em desnutridos, nos quais diarreia e infecções bacterianas secundárias são tão temidas quanto freqüentes. Em outras palavras, o sarampo está diretamente relacionado aos padrões de higiene, de nutrição e desenvolvimento socioeconômico das populações.

A rubéola é causada por um vírus do gênero *Rubivirus*, família Togaviridae. É constituído de RNA altamente sensível ao calor, a pH extremo e a um número variável de agentes químicos. A infecção por rubéola, na sua forma adquirida, em geral, manifesta-se como uma enfermidade leve, sem grandes repercussões. No entanto, na forma congênita, principalmente quando acomete a gestante no primeiro trimestre, pode ocasionar graves malformações congênitas, denominadas síndrome da rubéola congênita, que incluem anomalias oftalmológicas (catarata, retinopatia e glaucoma congênito), cardíacas (persistência de canal arterial-PCA, estenose arterial pulmonar, defeito de septo atrial ou ventricular), auditivas (surdez sensorineural), e neurológicas (microcefalia, meningoencefalite e retardo mental).

A caxumba é uma enfermidade contagiosa causada pelo vírus da família Paramyxoviridae, gênero *Rubulavirus*. É uma infecção aguda, contagiosa, caracterizada por aumento e dor, uni ou bilateral das glândulas salivares, com predileção pelas parótidas, mas podendo atingir qualquer tecido glandular e nervoso. É uma virose que acomete principalmente crianças na idade escolar e adolescentes, de evolução muitas vezes “benigna”, mas sendo eventualmente grave, determinando a hospitalização do doente e, ocasionalmente, culminando com a morte.

- **Vacina contra a gripe**

A influenza ou gripe é uma doença infecciosa aguda que acomete o trato respiratório. É causada pelo *Myxovirus influenzae*, também denominado vírus influenza. Os vírus influenza são partículas envelopadas de RNA, de fita simples, contendo 8 segmentos, e são subdivididos nos tipos A, B e C, sendo que somente os do tipo A e B têm relevância clínica em humanos. Os vírus influenza A apresentam maior variabilidade e, portanto, são divididos em subtipos de acordo com as diferenças de suas glicoproteínas de superfície, denominadas hemaglutinina (H) e neuraminidase (N). Atualmente são conhecidas várias hemaglutininas, sendo as H1, H2 e H3 as mais prevalentes, e duas neuraminidasas (N1 e N2) presentes nos vírus influenza do tipo A, adaptados para infectar seres humanos. O tipo A de influenza inclui o vírus H5N1, o agente etiológico da pneumonia asiática, também conhecida com gripe do frango e pela sigla SARS (do inglês – *Severe Acute Respiratory Syndrome*). Devido a sua alta virulência tem sido alvo de grandes preocupações das autoridades mundiais em saúde. As variantes do tipo A sofrem alterações a cada dois ou três anos, ao passo que as do tipo B são mais estáveis. Com base nos dados coletados ao redor do mundo, um comitê de especialistas reúne-se na OMS duas vezes ao ano para formalizar a recomendação das cepas do vírus influenza a serem utilizadas na composição da vacina, para que se tenha uma formulação adequada para a próxima temporada de gripe. Desde 1977, a recomendação para a composição da vacina contra a gripe tem incluído três cepas virais: duas do tipo A, respectivamente dos subtipos H1N1 e H3N2, e uma do tipo B.

A infecção pelo vírus influenza é caracterizada por febre, calafrios, cefaléia, tosse seca, dor de garganta, congestão nasal, coriza, mialgia, anorexia e fadiga. Em adultos e crianças saudáveis, a doença dura cerca

de uma a duas semanas, e as conseqüências da mesma geralmente são moderadas. Entretanto, o impacto da doença em idosos ou indivíduos portadores de doenças crônicas ou de imunodeficiências pode ser mais grave, resultando muitas vezes no desenvolvimento de pneumonia viral e bacteriana. No Brasil, como na América do Norte e Europa Ocidental, encontram-se licenciados dois tipos de vacinas inativadas contra influenza: a vacina do tipo *split*, obtida pela fragmentação da partícula viral por detergente e purificada de forma a conter os antígenos de superfície do vírus e algumas nucleoproteínas; e as vacinas subunitárias, as quais contêm apenas as proteínas de superfície hemaglutinina e neuraminidase do vírus. De uma forma geral, as vacinas do tipo *split* e as vacinas subunitárias induzem à resposta imunológica semelhante.

ATIVIDADE



3. Com relação às vacinas, marque (C) para as afirmativas corretas e (E) para as erradas. Justifique as erradas. Ao concluir esta atividade, você terá atingido o terceiro objetivo desta aula.

a. () As vacinas vivas atenuadas, geralmente não necessitam de várias doses, pois são mais imunogênicas. Entretanto, a vacina Sabin contra a poliomielite é uma exceção, pois o vírus vacinal atenuado ao ser administrado pela via oral é inativado no estômago.

b. () A vacina Hib contra o *H. influenzae* é composta de polissacarídeos da cápsula bacteriana associada à proteína tetânica para que o polissacarídeo fique mais estável.

c. () As cepas vacinais que compõem a vacina da gripe podem ser substituídas, anualmente, para que a vacina possa conferir proteção contras as cepas presentes no ambiente, responsáveis pela doença.

d. () A vacina tríplice viral pode ser administrada a todos os indivíduos, incluindo pessoas com imunodeficiências e gestantes.

RESPOSTA COMENTADA

Se você respondeu a. (E); b. (E); c. (C); d. (E) você acertou! Parabéns! Mas será que você justificou corretamente? Então, vamos conferir? O item (a) está errado porque a necessidade de várias doses da vacina antipoliomielite se deve ao fato de que essa vacina é composta de 3 sorotipos de vírus vacinal e, no ciclo de replicação viral no intestino, há a predominância de uma cepa sobre as outras cepas. Assim, na primeira imunização, uma cepa predomina em relação às outras duas e se replica em grande quantidade induzindo a uma resposta imune eficaz contra ela. Na próxima vacinação, a cepa que predominou anteriormente é inibida pela IgA específica, presente na mucosa. Então, ocorre a proliferação de uma das duas cepas que não proliferou antes. A cepa que prolifera induz a uma resposta imune específica contra ela. Da mesma forma, na terceira imunização as duas cepas que induziram à resposta imune são inibidas e a terceira cepa prolifera e induz a uma resposta imune contra ela. Assim, ao final de três imunizações o indivíduo estará imune contra as três cepas vacinais de poliovírus. A afirmação (b) está errada porque a conjugação da proteína tetânica ao polissacarídeo da vacina contra H. influenzae é para torná-la mais imunogênica. Lembra-se da aula sobre ativação de linfócitos? Lá comentamos que os antígenos polissacarídeos são antígenos timo independente, ou seja, ativam diretamente linfócitos B sem a cooperação de linfócitos Th. Nesses casos, a resposta permanece no nível primário. Assim, a proteína tetânica conjugada ao polissacarídeo de Hib torna esse antígeno mais imunogênico, fazendo com que células Th participem dessa resposta, o que resulta em uma resposta secundária contra o antígeno vacinal. O item (d) está errado porque a vacina tríplice viral não é recomendada a indivíduos imunodeficientes e nem a gestantes, por ser uma vacina constituída por vírus atenuados. Por conter o vírus da rubéola atenuado, essa vacina é contra-indicada para gestantes. Mulheres imunizadas com essa vacina devem evitar a gravidez durante os três meses seguintes após a vacinação, pois existe o risco de acontecer algum tipo de má formação fetal devido à presença do vírus da rubéola. Se você justificou corretamente, parabéns! Mas se você errou na justificativa, esperamos que estes comentários tenham sido esclarecedores. Mas se você ainda tiver dúvidas, não deixe de procurar a tutoria da disciplina.

CONCLUSÃO

Uma das grandes vitórias da saúde pública nos últimos séculos foi a descoberta de vacinas seguras e efetivas contra várias doenças infecciosas. Várias doenças que causaram grandes epidemias e milhares de mortes ao longo da história da humanidade, podem, hoje, ser controladas por vacinas. O principal exemplo é a varíola que hoje está mundialmente erradicada e, talvez, a poliomielite seja a próxima doença a ser erradicada do globo terrestre. Como você viu nesta aula, existem poucas doenças que podem ser prevenidas por vacinas em comparação com número de doenças infecto-contagiosas conhecidas. Dá para concluir de imediato que não é fácil desenvolver uma vacina e vários fatores contribuem para isso, como por exemplo as características genéticas dos organismos, a complexa relação parasita-hospedeiro, interferências ambientais etc. Várias doenças continuam acometendo milhares de pessoas anualmente, dentre elas a AIDS, malária, Chagas, tuberculose, leishmaniose etc. Apesar dos avanços nas pesquisas em várias áreas da Ciência, ainda não se tem uma vacina aprovada para essas doenças. Existem várias vacinas em fase de estudos clínicos, e esperamos que venham a ser aprovadas e que possam ser utilizadas em programas de vacinação em massa.

ATIVIDADE FINAL

Vamos ampliar um pouco mais os conhecimentos acerca do tema vacina? Faça uma pesquisa na internet sobre uma vacina contra uma doença que não comentamos nesta aula, ou sobre uma doença contra a qual ainda não temos uma vacina aprovada para uso em saúde pública. Faça um resumo breve e comente com seus amigos do curso de Biologia ou com os tutores da disciplina.

RESPOSTA COMENTADA

Se você tiver dificuldades entre no site www.google.com.br e faça uma busca com a palavra vacina (ou vaccine em inglês) ou procure nos sites:

<http://www.vacinas.org.br/>

<http://www.casadevacinasgsk.com.br/>

<http://www.cva.ufrj.br/doencas/>

<http://www.niaid.nih.gov/publications/vaccine.htm>

Você pode também, fazer uma busca nesses sites digitando a palavra vacina ou vaccine e o nome de algumas doenças, tais como AIDS,

pneumonia asiática, malária etc. Você vai se surpreender com a quantidade de informações acerca desses temas. Você vai ver que existe uma quantidade enorme de pesquisas sendo desenvolvidas em busca de vacinas para esses males. Além disso, você encontrará pesquisas de vacinas que não visam à prevenção de doenças infecciosas, tais como vacinas curativas contra alguns tipos de tumores, vacinas antifertilidade etc. Se você tiver dificuldade para entender a sua pesquisa, procure a tutoria da disciplina ou nos mande um e-mail.

RESUMO

A vacina é um produto originado de um agente etiológico que, ao ser administrado a um indivíduo sadio, induz a uma imunidade de longa duração capaz de proteger esse indivíduo contra uma infecção posterior causada por esse agente. A vacina pode ser constituída de organismos mortos ou atenuados; por componentes purificados do agente infeccioso, ou obtidos por síntese ou como proteína recombinante e por genes ou fragmentos gênicos derivados do patógeno.

A imunização passiva produz uma resistência temporária por meio de transferência de anticorpos de um indivíduo imune para outro não imune, e confere uma proteção imediata e específica contra o agente infeccioso em questão. A imunização ativa envolve a administração do antígeno no indivíduo de forma que ele elabore uma resposta imune protetora contra o agente infeccioso.

As vacinas podem ser do tipo integrais constituídas por organismos atenuados ou organismos mortos; ou do tipo macromoléculas constituídas por toxóides, antígenos recombinantes e polissacarídeos da cápsula bacteriana. Atualmente existem várias vacinas de uso corrente no Brasil que previnem contra doenças de origem bacteriana ou viral.

INFORMAÇÃO SOBRE A PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, faremos uma atividade presencial que será um estudo dirigido referente às Aulas 11 a 19. Não deixe de comparecer, pois é uma ótima oportunidade para você esclarecer as suas dúvidas e também aprender com as dúvidas dos seus colegas.

ANEXO

Calendário de vacinações instituído pelo Ministério da Saúde pela Portaria nº 597, de 8 de abril de 2004.

ANEXO I

CALENDÁRIO BÁSICO DE VACINAÇÃO

Idade	Vacinas	Dose	Doenças evitadas
ao nascer	BCG-ID	dose única	Formas graves da tuberculose
	contra hepatite B ¹	1ª dose	Hepatite B
1 mês	contra hepatite B	2ª dose	Hepatite B
2 meses	Tetraivalente (DTP + Hib) ²	1ª dose	Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções por <i>Haemophilus influenzae</i> Tipo B
	VOP (vacina oral contra a Pólio)	1ª dose	Poliomielite ou paralisia infantil
4 meses	Tetraivalente (DTP + Hib)	2ª dose	Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções por <i>Haemophilus influenzae</i> Tipo B.
	VOP (vacina oral contra a pólio)	2ª dose	Poliomielite ou paralisia infantil
6 meses	Tetraivalente (DTP + Hib)	3ª dose	Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções por <i>Haemophilus influenzae</i> Tipo B.
	VOP (vacina oral contra a pólio)	3ª dose	Poliomielite ou paralisia infantil
	contra hepatite B	3ª dose	Hepatite B
9 meses	contra febre amarela ³	dose única	Febre amarela

12 meses	SRC (tríplice viral)	dose única	Sarampo, caxumba e rubéola
15 meses	DTP (tríplice bacteriana)	1º reforço	Difteria, tétano, coqueluche
	VOP (vacina oral contra a pólio)	reforço	Poliomielite ou paralisia infantil
4 - 6 anos	DTP (tríplice bacteriana)	2º reforço	Difteria, tétano, coqueluche
	SRC (tríplice viral)	reforço	Sarampo, caxumba e rubéola
6 - 10 anos	BCG-ID ⁴	reforço	Formas graves da tuberculose
10 anos	contra febre amarela	reforço	Febre amarela

¹ A primeira dose da vacina contra hepatite B deve ser administrada na maternidade, nas primeiras 12 horas de vida do recém-nascido. O esquema básico se constitui de três doses, com intervalos de 30 dias da primeira para a segunda dose e 180 dias da primeira para a terceira dose.

² O esquema de vacinação atual é feito aos 2, 4 e 6 meses de idade com a vacina Tetravalente e dois reforços com a tríplice bacteriana (DTP). O primeiro reforço aos 15 meses e o segundo, entre 4 e 6 anos.

³ A vacina contra febre amarela está indicada para crianças a partir dos 9 meses de idade, que residam ou que irão viajar para área endêmica (estados: AP, TO, MA, MT, MS, RO, AC, RR, AM, PA, GO e DF), área de transição (alguns municípios dos estados: PI, BA, MG, SP, PR, SC e RS) e área de risco potencial (alguns municípios dos estados BA, ES e MG). Se viajar para áreas de risco, vacinar contra febre amarela dez dias antes da viagem.

⁴ Em alguns estados, esta dose não foi implantada. Aguardando conclusão de estudos referentes à efetividade da dose de reforço.

ANEXO II

CALENDÁRIO DE VACINAÇÃO DO ADOLESCENTE ¹

Idade	Vacinas	Dose	Doenças evitadas
de 11 a 19 anos (na primeira visita ao serviço de saúde)	Hepatite B	1ª dose	contra hepatite B
	dT ²	1ª dose	contra difteria e tétano
	FA ³	dose inicial	contra febre amarela
	SCR ⁴	dose única	Sarampo, caxumba e rubéola
1 mês após a 1ª dose contra hepatite B	Hepatite B	2ª dose	contra hepatite B
6 meses após a 1ª dose contra hepatite B	Hepatite B	3ª dose	contra hepatite B
2 meses após a 1ª dose contra difteria e tétano	dT	2ª dose	contra difteria e tétano
4 meses após a 1ª dose contra difteria e tétano	dT	3ª dose	contra difteria e tétano
a cada 10 anos por toda vida	dT ⁵	reforço	contra difteria e tétano
	FA	reforço	contra febre amarela

¹ Adolescente que não tiver comprovação de vacinação anterior, seguir este esquema. Se apresentar documentação com esquema incompleto, completar o esquema já iniciado.

² Adolescente que já recebeu anteriormente três doses ou mais das vacinas DTP, DT ou dT, aplicar uma dose de reforço. São necessárias doses de reforço da vacina a cada dez anos. Em ferimentos graves, antecipar a dose de reforço para 05 anos após a última dose. O intervalo mínimo entre as doses é de 30 dias.

³ Adolescente que resida ou que irá viajar para área endêmica (estados: AP, TO, MA, MT, MS, RO, AC, RR, AM, PA, GO e DF), área de transição (alguns municípios dos estados PI, BA, MG, SP, PR, SC e RS) e área de risco potencial (alguns municípios dos estados BA, ES e MG). Em viagem para essas áreas, vacinar dez dias antes da viagem.

⁴ Adolescente que tiver duas doses da vacina tríplice viral (SCR) devidamente comprovada no cartão de vacinação não precisa receber esta dose.

⁵ Adolescentes grávidas, que estejam com a vacina em dia, mas receberam sua última dose há mais de cinco anos, precisam receber uma dose de reforço. Em caso de ferimentos graves, a dose de reforço deve ser antecipada para cinco anos após a última dose.

ANEXO III

CALENDÁRIO DE VACINAÇÃO DO ADULTO E DO IDOSO

IDADE	VACINAS	DOSE	DOENÇAS EVITADAS
a partir de 20 anos	dT ¹	1ª dose	contra difteria e tétano
	FA ²	dose inicial	contra febre amarela
	SR e/ou SCR ³	dose única	Sarampo, caxumba e rubéola
2 meses após a 1ª dose contra difteria e tétano	dT	2ª dose	contra difteria e tétano
4 meses após a 1ª dose contra difteria e tétano	dT	3ª dose	contra difteria e tétano
a cada dez anos por toda vida	dT ⁴	reforço	contra difteria e tétano
	FA	reforço	contra febre amarela
60 anos ou mais	Influenza ⁵	dose anual	contra influenza ou gripe
	Pneumococo ⁶	dose única	contra pneumonia causada pelo pneumococo

¹ A partir dos vinte anos, gestantes, não-gestantes, homens e idosos que não tiverem comprovação de vacinação anterior, seguir o esquema acima de três doses. Apresentando documentação com esquema incompleto, completar o esquema já iniciado. O intervalo mínimo entre as doses é de 30 dias.

² Adulto/Idoso que resida ou que irá viajar para área endêmica (estados AP, TO, MA, MT, MS, RO, AC, RR, AM, PA, GO e DF), área de transição (alguns municípios dos estados PI, BA, MG, SP, PR, SC e RS) e área de risco potencial (alguns municípios dos estados BA, ES e MG). Em viagem para essas áreas, vacinar 10 (dez) dias antes da viagem.

³ A vacina dupla viral – SR (sarampo e rubéola) – e/ou a vacina tríplice viral – SCR (sarampo, caxumba e rubéola) – deve ser administrada em mulheres de 12 a 49 anos que não tiverem comprovação de vacinação anterior e em homens até 39 anos.

⁴ Mulher grávida, que esteja com a vacina em dia, mas recebeu sua última dose há mais de cinco anos, precisa receber uma dose de reforço. Em caso de ferimentos graves em adultos, a dose de reforço deverá ser antecipada para cinco anos após a última dose.

⁵ As vacinas contra Influenza são oferecidas anualmente durante a Campanha Nacional de Vacinação do Idoso.

⁶ A vacina contra pneumococos é aplicada, durante a Campanha Nacional de Vacinação do Idoso, nos indivíduos que convivem em instituições fechadas, tais como casas geriátricas, hospitais, asilos, casas de repouso, com apenas um reforço cinco anos após a dose inicial.

Fonte: <http://dtr2001.saude.gov.br/svs/imu/imu00.htm> acesso em 1/10/2005

<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-597.htm> acesso em 1/10/2005.

SITES RECOMENDADOS

<http://www.historiadelamedicina.org/calmette.html>.

<http://dtr2001.saude.gov.br/svs/imu/imu00.htm>

<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-597.htm>

<http://www.vacinas.org.br/>

<http://www.casadevacinasgsk.com.br/> ; <http://www.cva.ufrj.br/doencas/>

<http://www.casadevacinasgsk.com.br/>

<http://www.cva.ufrj.br/doencas/>

<http://www.niaid.nih.gov/publications/vaccine.htm>.

Imunologia

Referências

Aula 11

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 260p.

JANEWAY, A. C. et al. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. 634p.

KUBY, Janis. *Immunology*. 5. ed. New York: Freeman, 2003. 551p.

PARSLOW, T G et al. *Imunologia Médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 684p.

PAUL, William E. *Fundamental Immunology*. 4. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. 1589p.

Aula 12

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 260p.

KUBY, Janis. *Immunology*. 4. ed. New York: Freeman, 2000. 664p.

MAAS, A.; HENDRIKS, R. W. Role of Bruton's tyrosine kinase in B cell development. *Dev. Immunol*, v. 8, n. 3-4, p. 171-181, 2001.

NISITANI, S. et al. Preferential localization of human CD5+ B cells in the peritoneal cavity. *Scand J Immunol*, v. 46, n. 6, p. 541-545, dec. 1997.

PENNINGTON, D. J.; SILVA-SANTOS, B.; HAYDAY, A. C. Gammadelta T cell development-having the strength to get there. *Curr Opin Immunol*, v. 17, n. 2, p. 108-115, abr. 2005.

YOUINOU, P.; JAMIN, C.; LYDYARD, P. M. CD5 expression in human B-cell populations. *Immunol Today*, v. 20, n. 7, p. 312-316, jul. 1999.

SITES RECOMENDADOS

MICHIGAN IMMUNODEFICIENCY FOUNDATION. Information on DiGeorge Syndrome. Disponível em: <http://www.midf.org/michigan_immunodeficiency_foundation_DiGeorge_Syndrome.htm>. Acesso em: 15 fev. 2006.

Aula 13

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

DYKSTRA, Michelle et al. Location is everything: lipid rafts and immune cell signaling. *Annual Review of Immunology*, v. 21, p. 457-481, 2003.

HUPPA, J. B. et al. Continuous T cell receptor signaling required for synapse maintenance and full effector potential. *Nat Immunol*, v. 5, n. 2, p. 117, feb. 2004.

Aula 14

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

DYKSTRA, Michelle et al. Location is everything: lipid rafts and immune cell signaling. *Annual Review of Immunology*, v. 21, p. 457-481, 2003.

JOHNSON, G. L.; LAPADAT, R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, v. 298, n. 5600, p. 1911-1912, dec. 2002.

SCHAAN, Beatriz D. O papel da proteína quinase C no desenvolvimento das complicações vasculares do diabetes. *Mellitus Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, v. 47, n. 6, dec. 2003.

STEL, Alja J. et al. The Role of B Cell-Mediated T Cell Costimulation in the Efficacy of the T Cell Retargeting Bispecific Antibody BIS20x3. *The Journal of Immunology*, v. 173, p. 6009-6016, 2004.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562 p.

ANDERSON, W. French. Gene Therapy: the best of times, the worst of times. *Science*, v. 288, p. 627-629, 2000.

BALABANIAN, K. et al. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem.*, 17 aug. 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16107333>. Acesso em: 7 out. 2005.

BATTAGLIA, M. et al. IL-10-Producing T Regulatory Type 1 Cells and Oral Tolerance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, n. 1029, p. 142-153, 2004.

BLAESE, R. Michael et al. T Lymphocyte-Directed Gene Therapy for ADA SCID: initial trial results after 4 years. *Science*, v. 270, n. 5235, p. 475-480, 20 oct. 1995.

CAVAZZANA-CALVO, M. et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science*, v. 288, n. 5466, p. 627-629, 28 abr. 2000.

DUNBAR, C. et al. Amendment to Clinical Research Project. Project 90-C-195. April 1, 1993. Treatment of severe combined immunodeficiency disease (SCID) due to adenosine deaminase deficiency with autologous lymphocytes transduced with a human ADA gene. *Hum Gene Ther*, v. 10, n. 3, p. 477-488, feb. 1999.

ENK, A. H. Dendritic cells in tolerance induction. *Immunol Lett*, v. 99, n. 1, p. 8-11, 2005.

GALVANI, A. P.; NOVEMBRE, J. The evolutionary history of the CCR5-Delta32 HIV-resistance mutation. *Microbes Infect*, v. 7, n. 2, p. 302-309, feb. 2005.

NOWAK, R. Bubble boy' paradox resolved. *Science*, v. 262, n. 5141, p. 1818, 17 dec. 1993.

SAMSON, M. et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*, v. 382, n. 6593, p. 722-725, aug. 1996.

SITES RECOMENDADOS

AMERICAN SOCIETY OF GENE THERAPY: history. Disponível em: <<http://www.asgt.org/history.shtml>>. Acesso em: 10 out. 2005.

IMMUNE Deficiency Foundation. Disponível em: <<http://www.primaryimmune.org>>. Acesso em: 10 out. 2005.

MURDOCH, Craig; FINN, Adam. *Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases*. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/cgi/reprint/95/10/3032>>. Acesso em: 10 out. 2005.

SEVERE Combined Immunodeficiency. Disponível em: <<http://www.scid.net/pressrelease.htm>>. Acesso em: 10 out. 2005.

TEIXEIRA, Leonardo Augusto Karam. *Terapia gênica*. Disponível em: <<http://www.ghente.org/ciencia/terapia/index.htm>>. Acesso em: 10 out. 2005.

VOSS, Stephan D.; HONG, Richard; SONDEL, Paul M. *Severe Combined Immunodeficiency, Interleukin-2 (IL-2), and the IL-2 receptor: experiments of nature continue to point the way*. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/cgi/reprint/83/3/626>>. Acesso em: 10 out. 2005.

Aula 16

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 260p.

JANEWAY, A. C. et al. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. 634p

KUBY, Janis. *Immunology*. 4. ed. New York: Freeman, 2000. 664 p.

Aula 17

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and Molecular Immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

KUBY, Janis. *Immunology*. 5. ed. New York: Freeman, 2003. 551 p.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001. 260 p.

JANEWAY, A. C. et al. *Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001. 634 p.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and molecular immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

BALKOW, S. et al. Concerted action of the FasL/Fas and perforin/granzyme A and B pathways is mandatory for the development of early viral hepatitis but not for recovery from viral infection, *J Virol*, v. 75, n. 18, p. 8781-8791, 2001 sept.

BREST, P. et al. Escherichia coli cytotoxic necrotizing factor 1 inhibits intestinal epithelial wound healing in vitro after mechanical injury. *Infect Immun*, v. 72, n. 10, p. 5733-40, 2004 oct.

GARNER, R. et al. Characterization of a granule-independent lytic mechanism used by CTL hybridomas. *J Immunol*, v. 153, n. 12, p. 5413-5421, 1994 dec. 15.

HART, O. M. et al. TLR7/8-mediated activation of human NK cells results in accessory cell-dependent IFN-gamma production. *J Immunol*, v. 175, n. 3, p. 1636-1642, 2005 aug.

SIRIANNI, M. C et al. Downregulation of the major histocompatibility complex class I molecules by human herpesvirus type 8 and impaired natural killer cell activity in primary effusion lymphoma development. *Br J Haematol*, v. 130, n. 1, p. 92-95, 2005 jul.

STACK, J. Vaccinia virus protein A46R targets multiple Toll-like-interleukin-1 receptor adaptors and contributes to virulence. *J Exp Med*, v. 201, n. 6, p. 1007-1018, Epub 2005.

VALYI-NAGY, T.; DERMODY, T. S. Role of oxidative damage in the pathogenesis of viral infections of the nervous system. *Histol Histopathol*, v. 20, n. 3, p. 957-67, 2005 jul.

SITES RECOMENDADOS

BALKOW, S. et al. Concerted action of the FasL/Fas and perforin/granzyme A and B pathways is mandatory for the development of early viral hepatitis but not for recovery from viral infection. *J Virol*, v. 75, n. 18, p. 8781-8791, 2001 sep. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11507223> . Acesso em: 16 dez. 2005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. *Anthrax*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/anthrax_g.htm> . Acesso em: 16 dez. 2005.

HENAHAN, Sean. Biologists on Front Lines vs. Bioterror. *Science News* : Anthrax. Disponível em: <http://www.accessexcellence.org/WN/SU/anthrax.html> >. Acesso em: 16 dez. 2005.

PAVLIN, Julie A. *Epidemiology of Bioterrorism*. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no4/pavlin.htm>>. Acesso em: 15 dez. 2005.

Aula 19

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Cellular and molecular immunology*. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2003. 562p.

FORLEO-NETO, E. et al. Influenza. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 2, p. 267-274, mar./abr. 2003.

KUBY, Janis. *Immunology*. 5. ed. New York: Freeman, 2003. 551p.

PAUL, William E. *Fundamental immunology*. 4. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1999. 1589 p.

TIZARD, R. Ian. *Veterinary immunology: an introduction*. 7. ed. Elsevier: Saunders, 2004. 494 p.

WALDMANN, T. A.; LEVY, R.; COLLER, B. S. Emerging therapies: spectrum of application of monoclonal antibody therapy. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, v. 1, p. 394-408, 2000. Disponível em: <<http://www.asheducationbook.org/cgi/reprint/2000/1/394>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

SITES RECOMENDADOS

A CASA DE VACINAS GSK. Disponível em: <<http://www.casadevacinasgsk.com.br/>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Imunizações: controle de doenças imunopreveníveis*. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/svs/imu/imu00.htm>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

BRASIL. Portaria nº 597/GM em 8 de abril de 2004. Institui, em todo território nacional, os calendários de vacinação. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-597.htm>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

CENTRO DE VACINAÇÃO DE ADULTOS. *Doenças imunopreveníveis*. Disponível em: <<http://www.cva.ufrj.br/doencas/>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

HISTORIA de la medicina. *Albert Calmette (1863-1933): vacuna de bacilo Calmette-Guerin (BCG)*. Disponível em: <<http://www.historiadelamedicina.org/calmette.html>>. Acesso em: 16 fev.

NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASES. Disponível em: <<http://www.niaid.nih.gov/publications/vaccine.htm>>. Acesso em: 16 fev. 2006.

ISBN 85-7648-241-X



9 788576 482413



UENF
Universidade Estadual
do Norte Fluminense



Universidade Federal Fluminense



SECRETARIA DE
CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministério
da Educação

