A resposta imune

Imunidade Inata (parte I)

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa contra infecções.

A resposta a uma infecção inicial ocorre em três fases

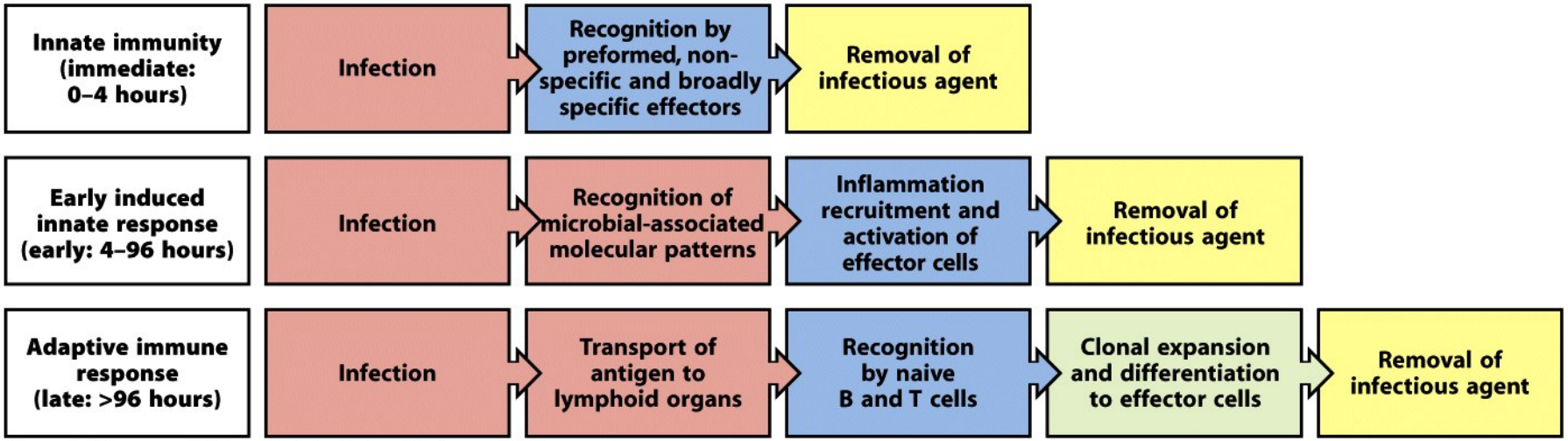


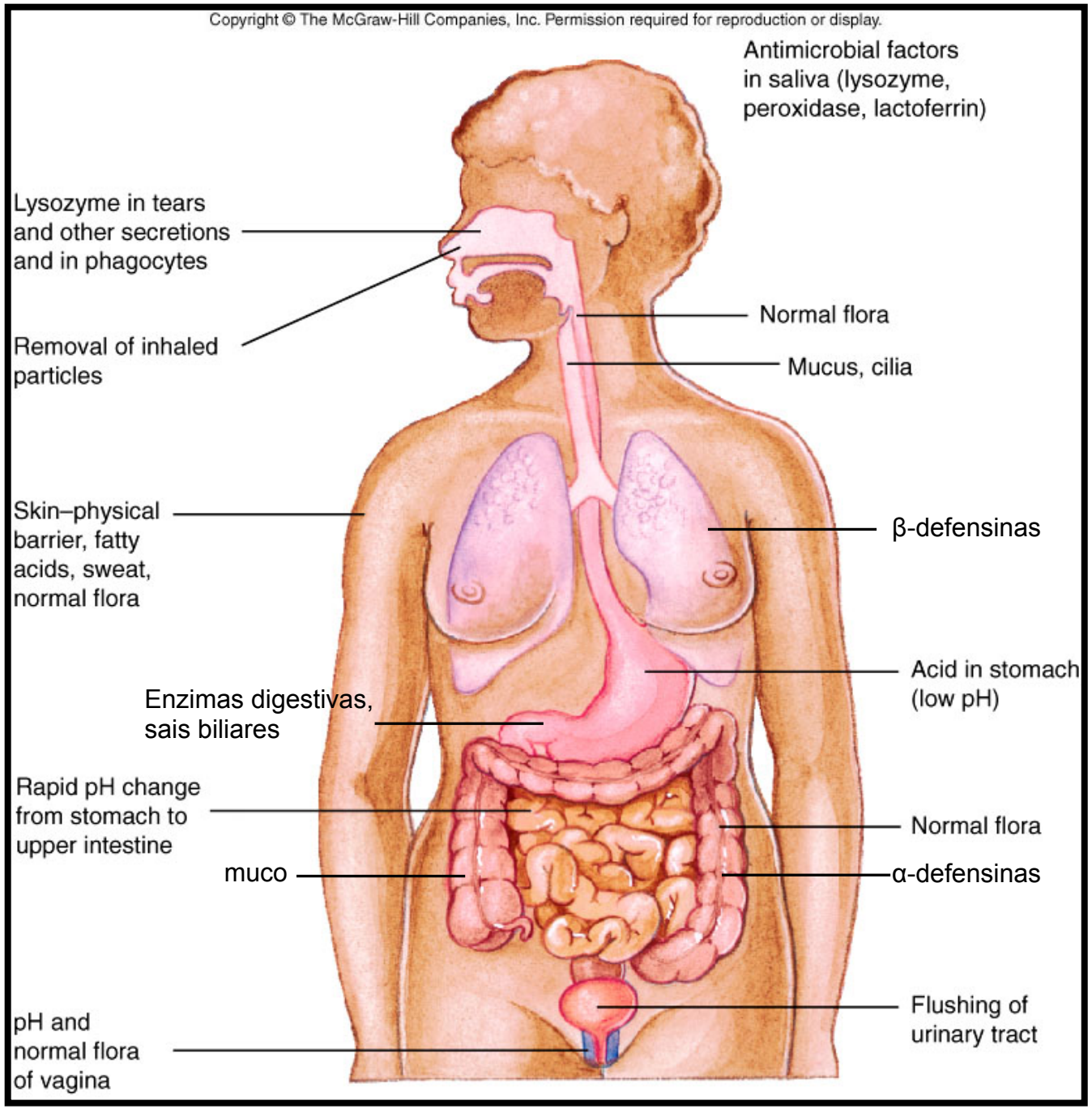
Figure 2-1 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Características

- ✓ Mecanismo universal e evolutivamente conservado de defesa contra infecções;
- ✓ Mais antigo que a resposta imune adaptativa;
- ✓ Encontrado em todos os organismos multicelulares;
- ✓ Distingue perfeitamente próprio de não-próprio;
- ✓ Reconhece estruturas que são características de patógenos e que não estão presentes em células do hospedeiro.

As superfícies epiteliais são as primeiras linhas de defesa contra infecções.

Barreiras Mecânicas, Químicas e Microbiológicas



Barreiras Mecânicas

- ✓ Pele intacta ("tight juntions");
- ✓ Cobertura das mucosas intacta ("tight juntions");
- ✓ Secreção das mucosas (mucinas);
- ✓ Reflexo de piscar e lágrimas;
- ✓ Pêlos nas narinas e movimento dos cílios nos pulmões;
- ✓ Reflexos de tosse e espirro.

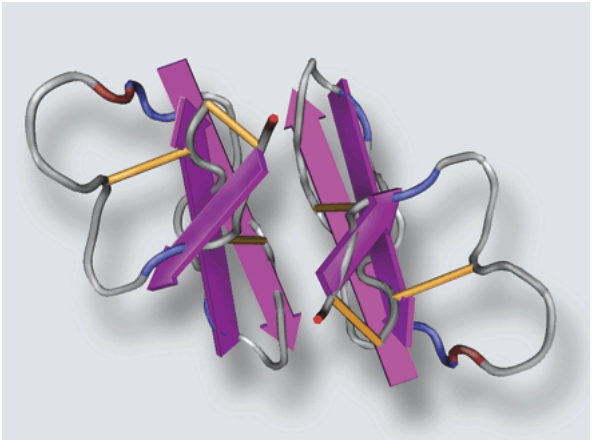
Inibidores químicos e bioquímicos

- ✓ Secreções sebáceas e suor;
- ✓ Histatinas (peptídeos ricos em histidinas) na saliva;
- ✓ HCl e enzimas digestivas no estômago;
- ✓ Lisozima e fosfolipase A nas lágrimas e saliva;
- ✓ pH ácido na vagina;
- ✓ β-defensinas produzidas pelos epitélios (pele, língua e tratos respiratório e urogenital);
- ✓ Enzimas proteolíticas e peptídeos anti-microbianos (criptocidinas ou α-defensinas) no intestino delgado.

Inibidores químicos e bioquímicos

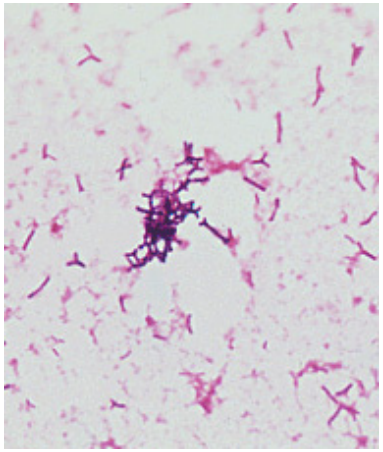
- ✓ Defensinas
  - ✓ Peptídeos ricos em cisteínas constituídos por 29-34 aminoácidos produzidos pelo epitélio e em grânulos presentes no interior dos neutrófilos;
  - ✓ Antibióticos de largo espectro que são capazes de matar grande variedade de bactérias e fungos.

Defensins to the rescue. Human neutrophils secrete the antimicrobial peptides a-defensin-1, -2, and -3 in response to bacterial infection. These peptides form dimeric structures that contain a total of six b-strands (purple arrows). The positively charged side chains of a-defensin-3 are shown in blue, negative charges in red, and disulfide bonds in orange. Tomas Gan. Science 1 November 2002: Vol. 298. no. 5595, pp. 977 - 979

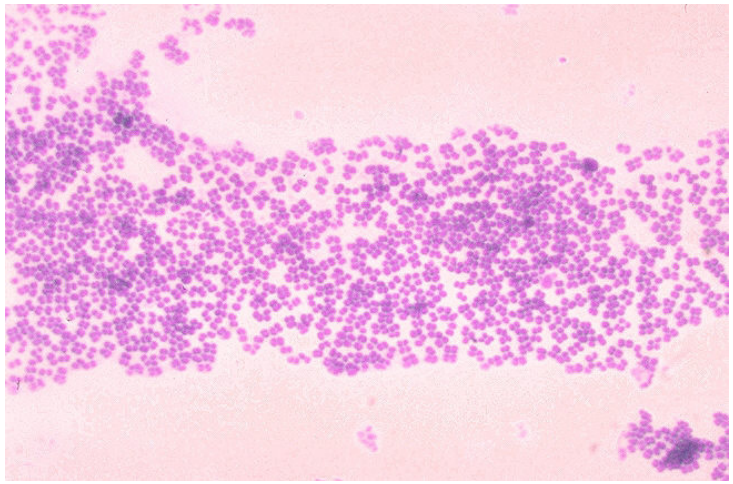


Flora Bacteriana Normal

- ✓ Competição por nutrientes essenciais;
- ✓ Competição por aderência ao epitélio;
- ✓ Produção de substâncias antimicrobianas (ex: ácido lático produzido pelos lactobacilos presentes na vagina e bactericinas).



Bifidobacterium bifidum.

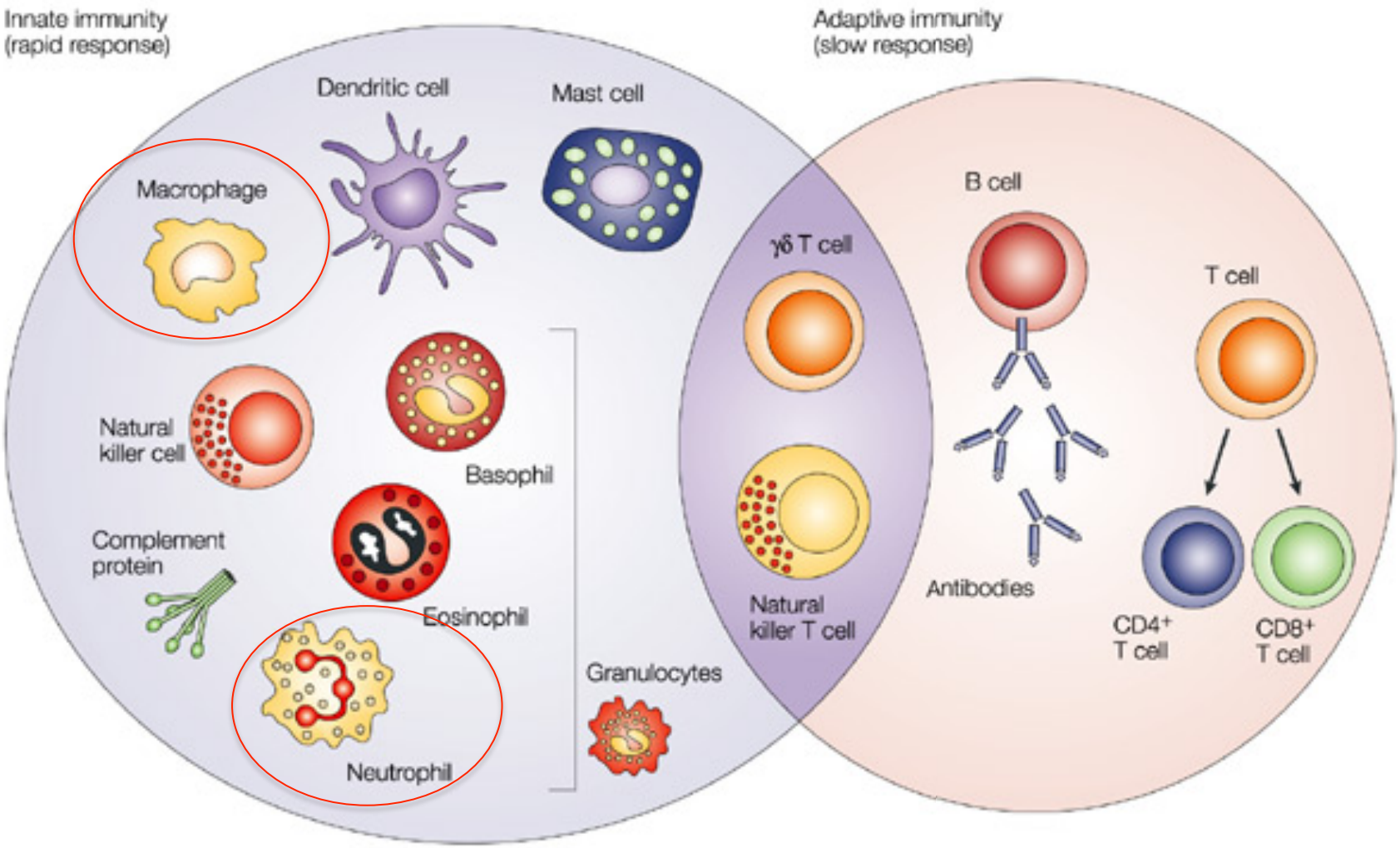


Espécie de Micrococcus, comumentemente isolados da pele e de mucosas nasais de seres humanos.

Muitos patógenos são reconhecidos, ingeridos e mortos pelos fagócitos logo após entrarem nos tecidos.

Células do Sistema Imune Inato

Componentes da imunidade



Nature Reviews | Cancer

Todas as células do sangue, incluindo as células do sistema imune originam-se de células hematopoiéticas pluripotentes provenientes da medula óssea.

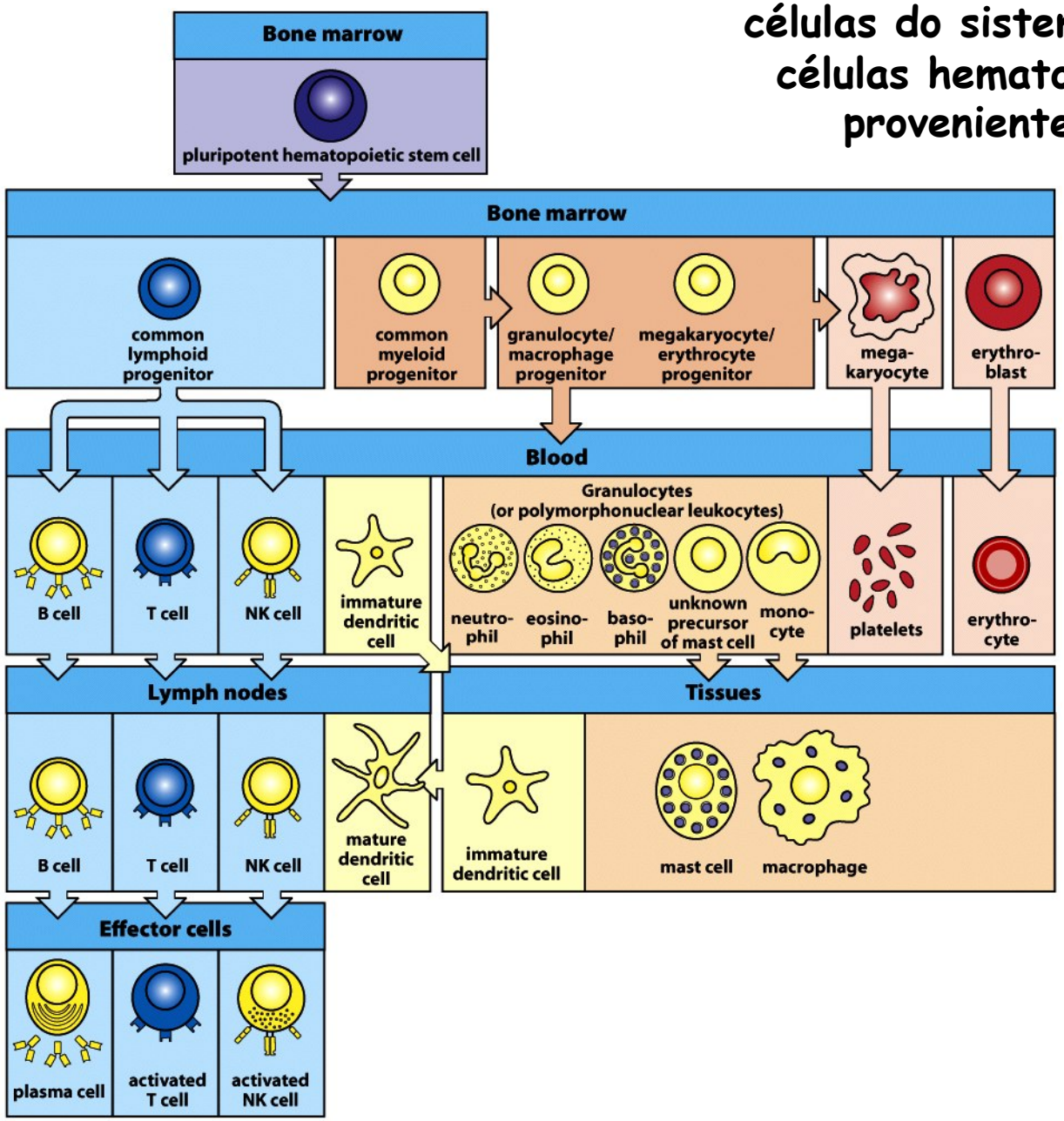
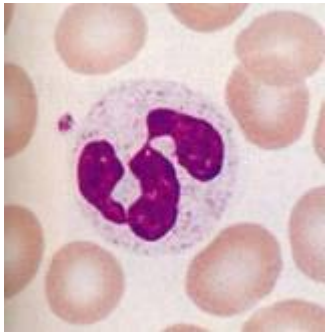


Figure 1-3 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Células

Fagócitos

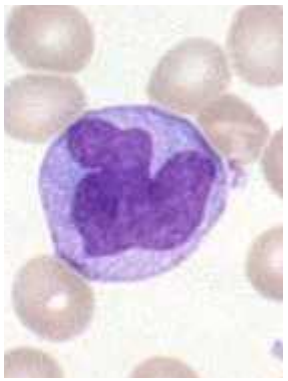
✓ são células especializadas na captura, ingestão e destruição de microorganismos.

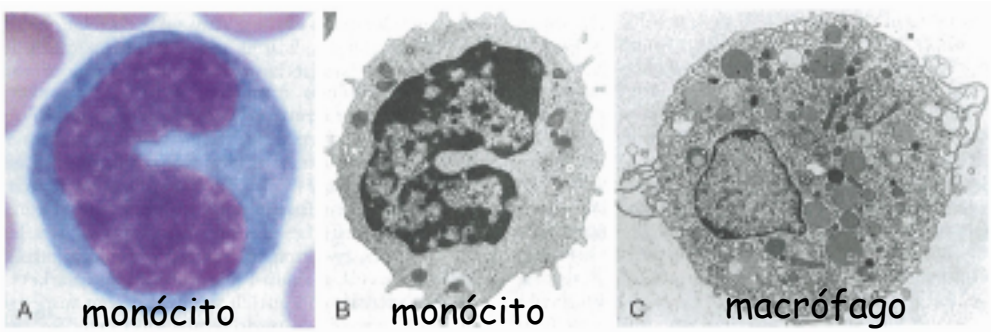


➢ Neutrófilos (Células polimorfonucleares)

➢ Células Mononucleares

- Monócitos no sangue
- Macrófagos nos tecidos





- ✓ <u>Monócitos</u> no sangue (imaturos)
  - originam-se na medula óssea
  - núcleo em forma de feijão

- ✓ <u>Macrófagos</u> nos tecidos (maduros)
  - residem em todos os órgãos e tecidos conectivos
    - no sistema nervoso central: micróglia
    - no fígado e sinusóides vasculares: células de Kupffer
    - nos pulmões: macrófagos alveolares
    - nos ossos: osteoclastos (macrófagos multinucleados)
    - são recrutados ativamente aos sítios de infecção onde fagocitam os patógenos e também produzem citocinas, quimiocinas e fatores mediadores de <u>inflamação</u>

A infecção estimula os macrófagos a liberarem citocinas e quimiocinas que iniciam uma resposta inflamatória.

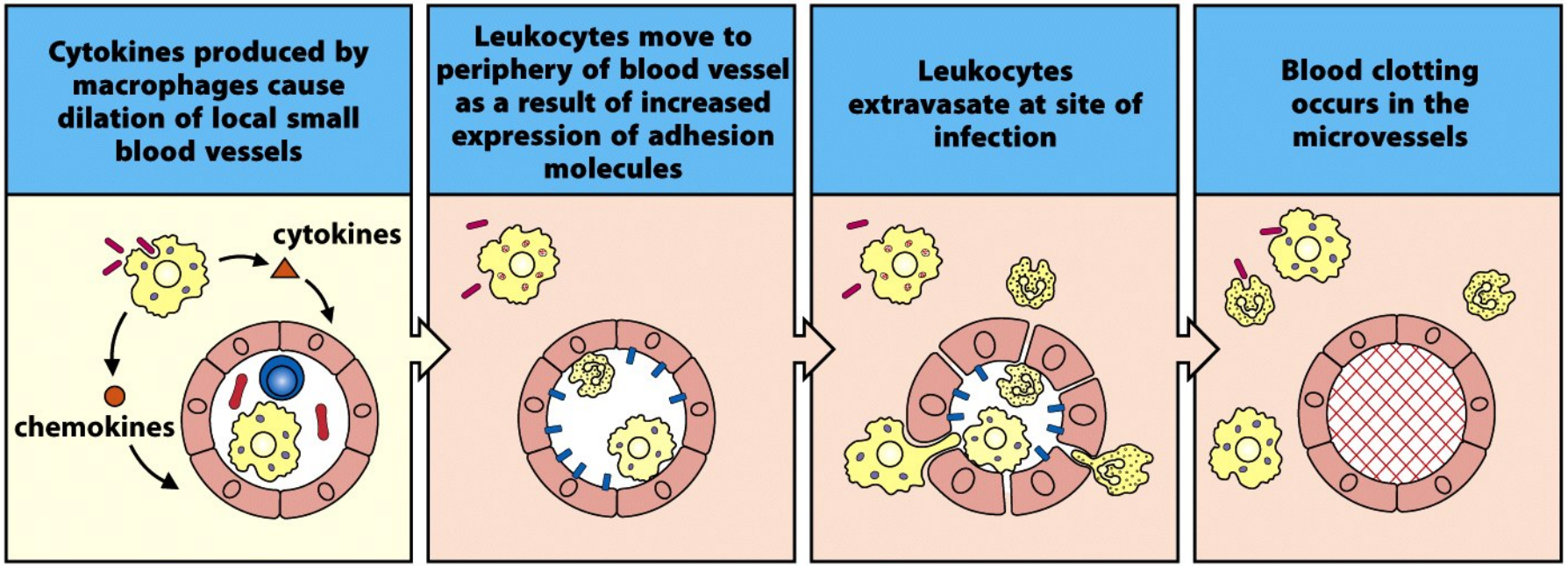


Figure 2-11 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Citocinas/quimiocinas secretadas pelos macrófagos em resposta a produtos bacterianos

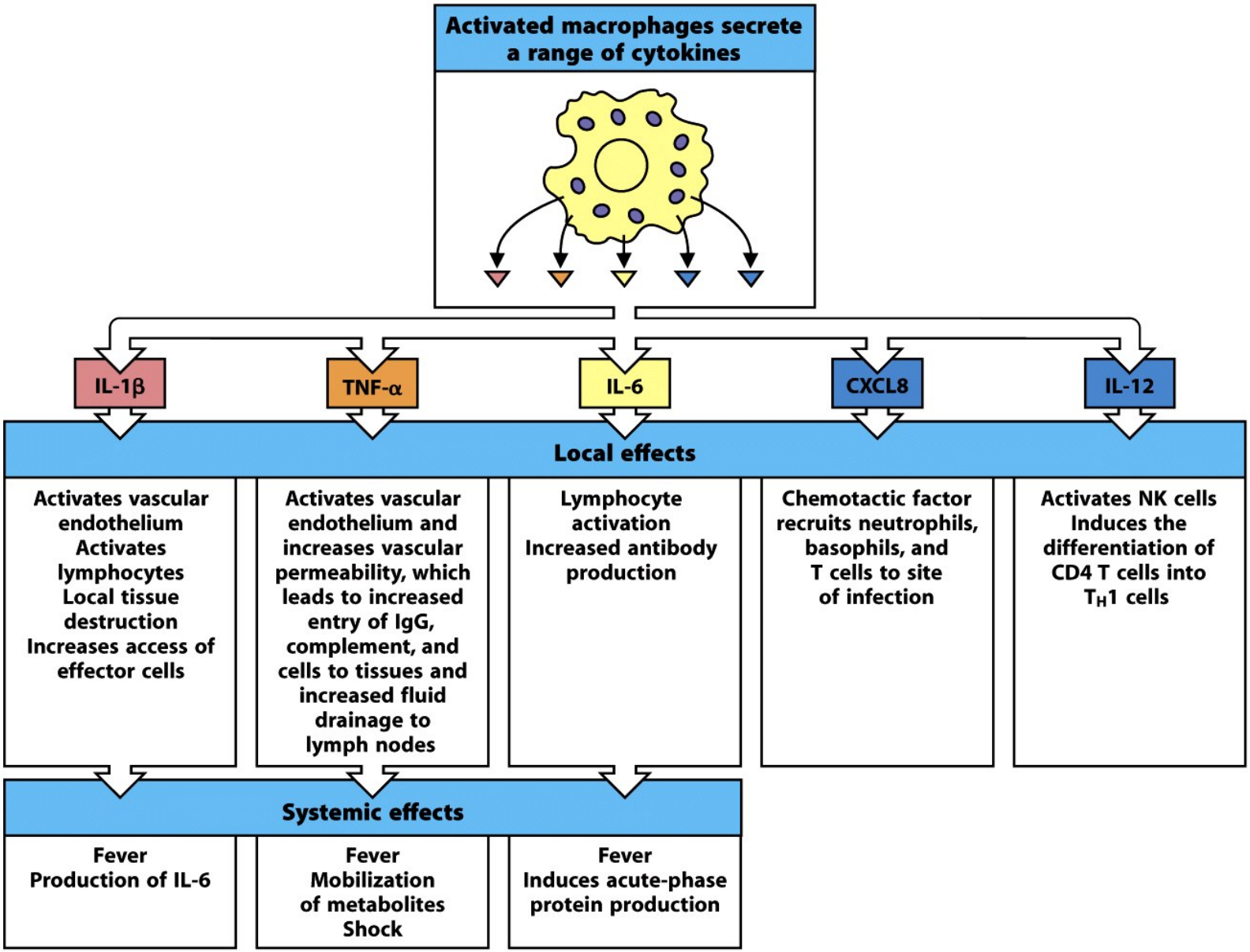


Figure 2-44 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

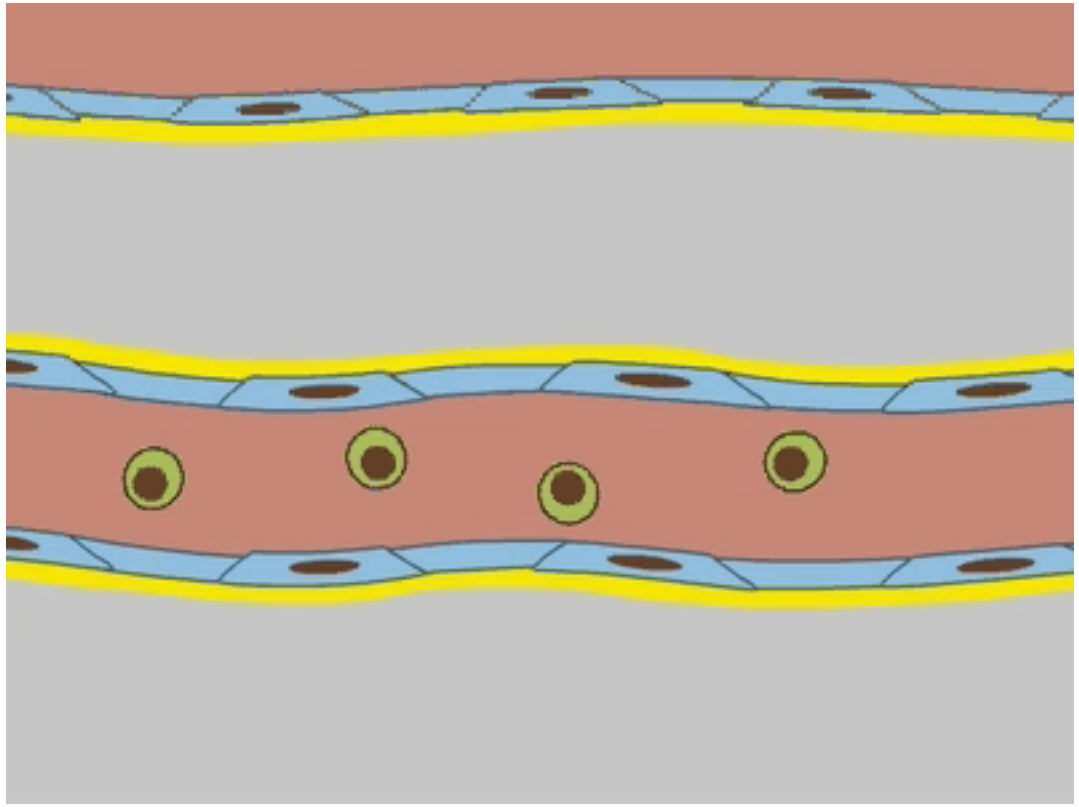
Neutrófilos

✓ Neutrófilos (Células polimorfonucleares)

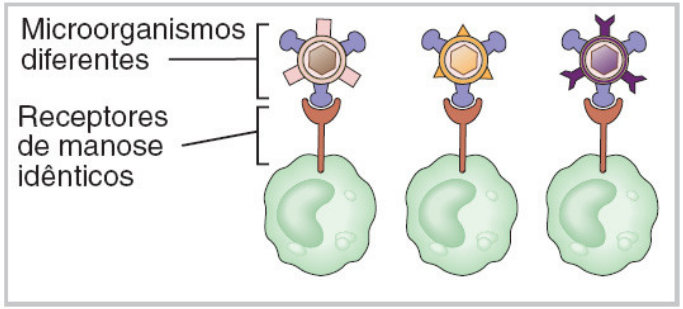
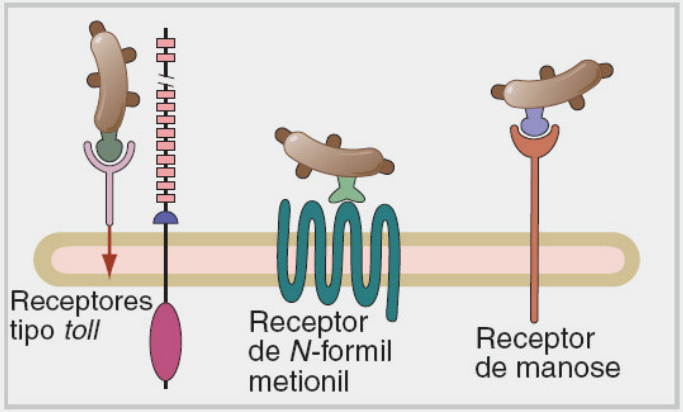
- núcleos segmentados (3-5 lóbulos conectados)
- são as células brancas circulantes mais abundantes
- são recrutados ativamente aos sítios de infecção onde fagocitam os patógenos
- citoplasma contém grânulos de dois tipos
  - grânulos específicos: contêm lisozima, colagenase e elastase
  - grânulos azurofílicos: são lisossomos que contêm enzimas
- são produzidos 10^{11} neutrófilos diariamente que vivem cerca de 6 horas

Expressão de moléculas de adesão faz com que os leucócitos migrem para os tecidos em caso de infecção.

Recrutamento de neutrófilos e macrófagos para os sítios de infecção.



Reconhecimento do Antígeno

	Imunidade inata
Especificidade	Para estruturas que são parte de classes de microorganismos ("padrões moleculares") 
Receptores	Codificados na linha do germe; diversidade limitada 
Distribuição dos receptores	Não-clonal; receptores idênticos em todas as células de mesma linhagem
Discriminação entre próprio e não-próprio	Sim; células do hospedeiro não são reconhecidas ou elas podem expressar moléculas que previnem reações imunológicas inatas

Reconhecimento dos patógenos pelo sistema imune inato

✓ Reconhece estruturas que são compartilhadas por classes de microorganismos ("Pathogen-associated molecular patterns" - PAMPs) e que não estão presentes nas células do hospedeiro.

✓ Os receptores que os reconhecem são conhecidos como PRR ("pattern recognition receptors").

✓ Os PAMPs são essenciais para a sobrevivência e infectividade dos microorganismos.

Organização da parede celular das bactérias gram-positivas e gram-negativas.

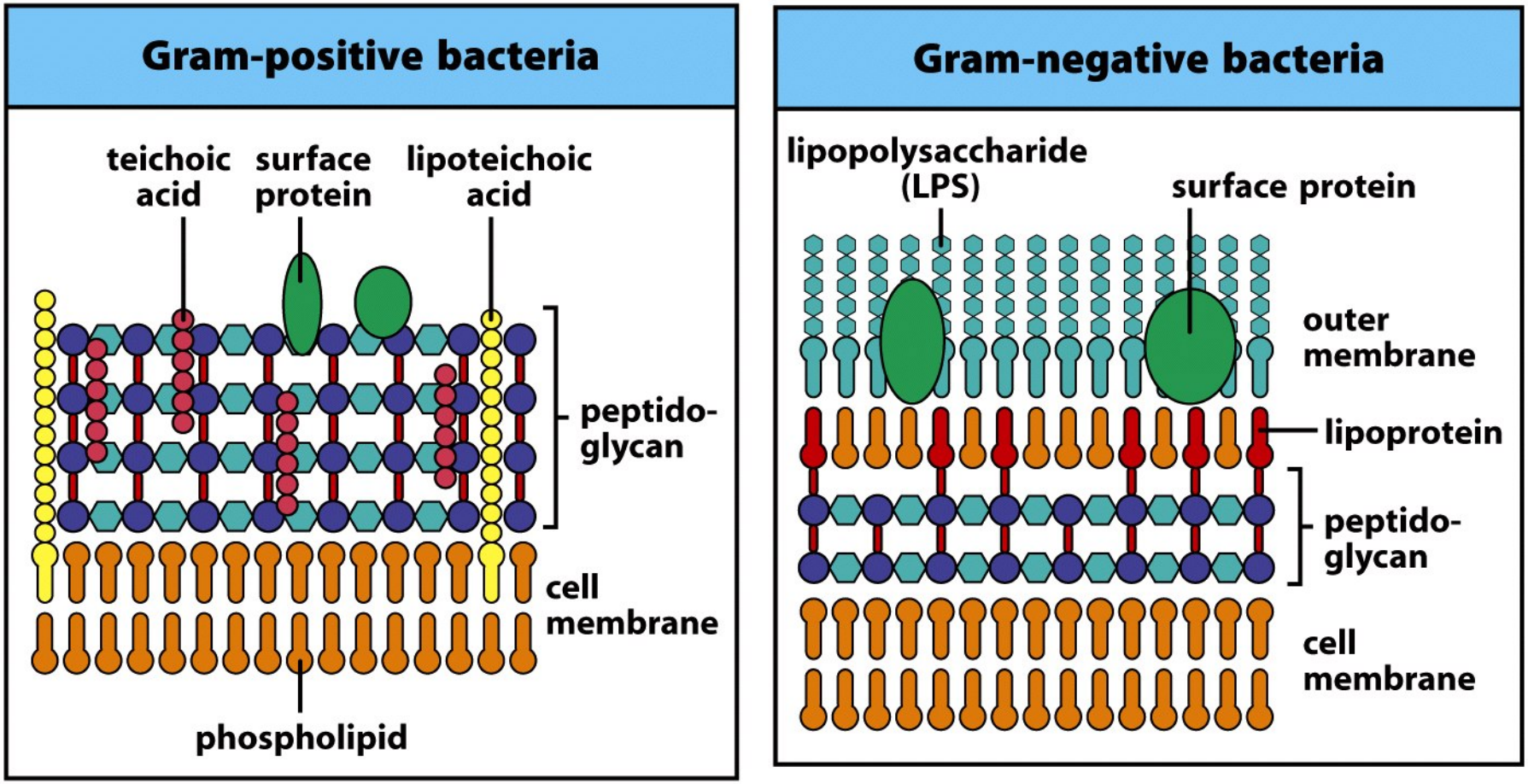


Figure 2-14 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Os receptores de reconhecimento de patógenos

Um receptor solúvel no plasma.

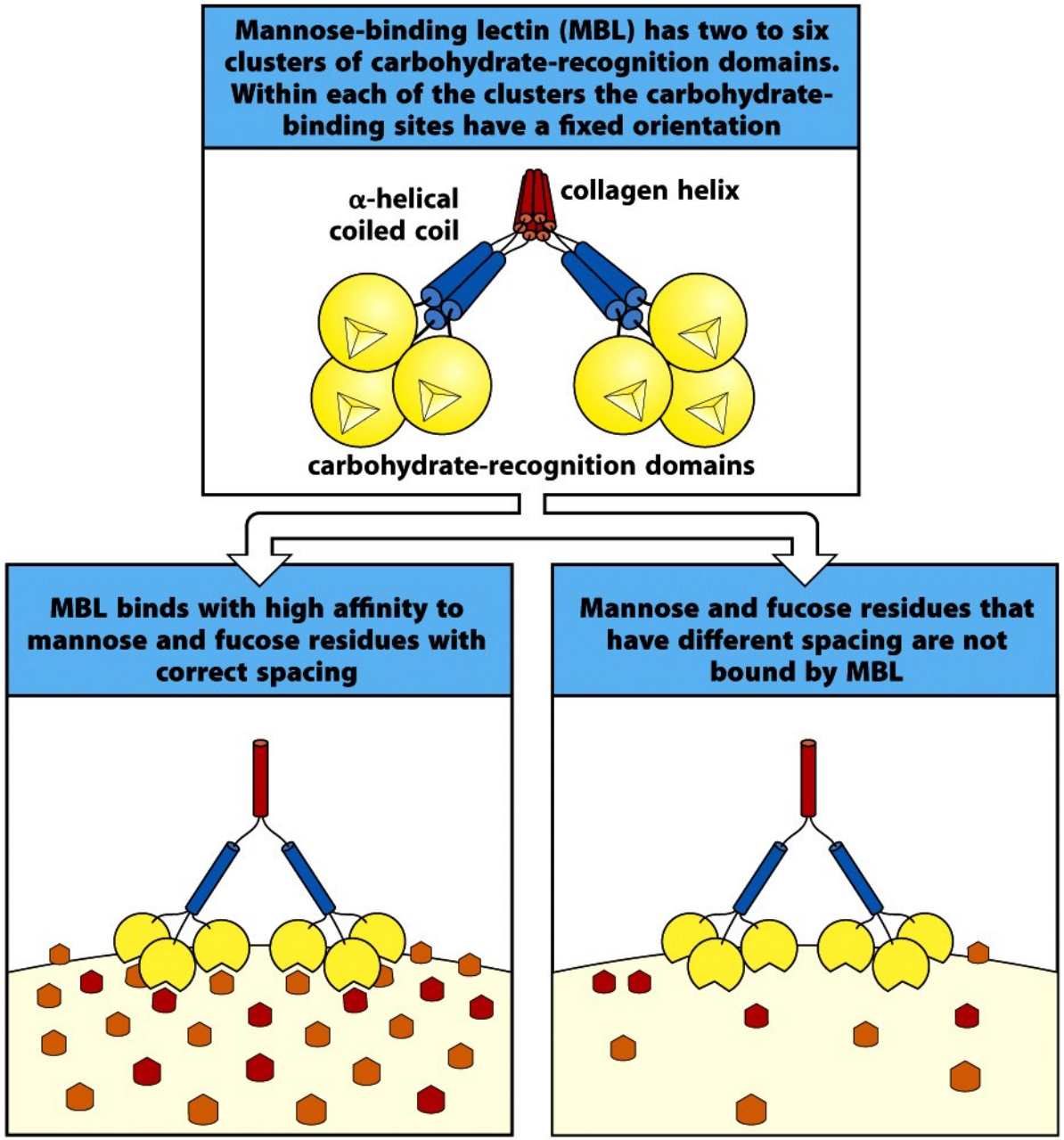
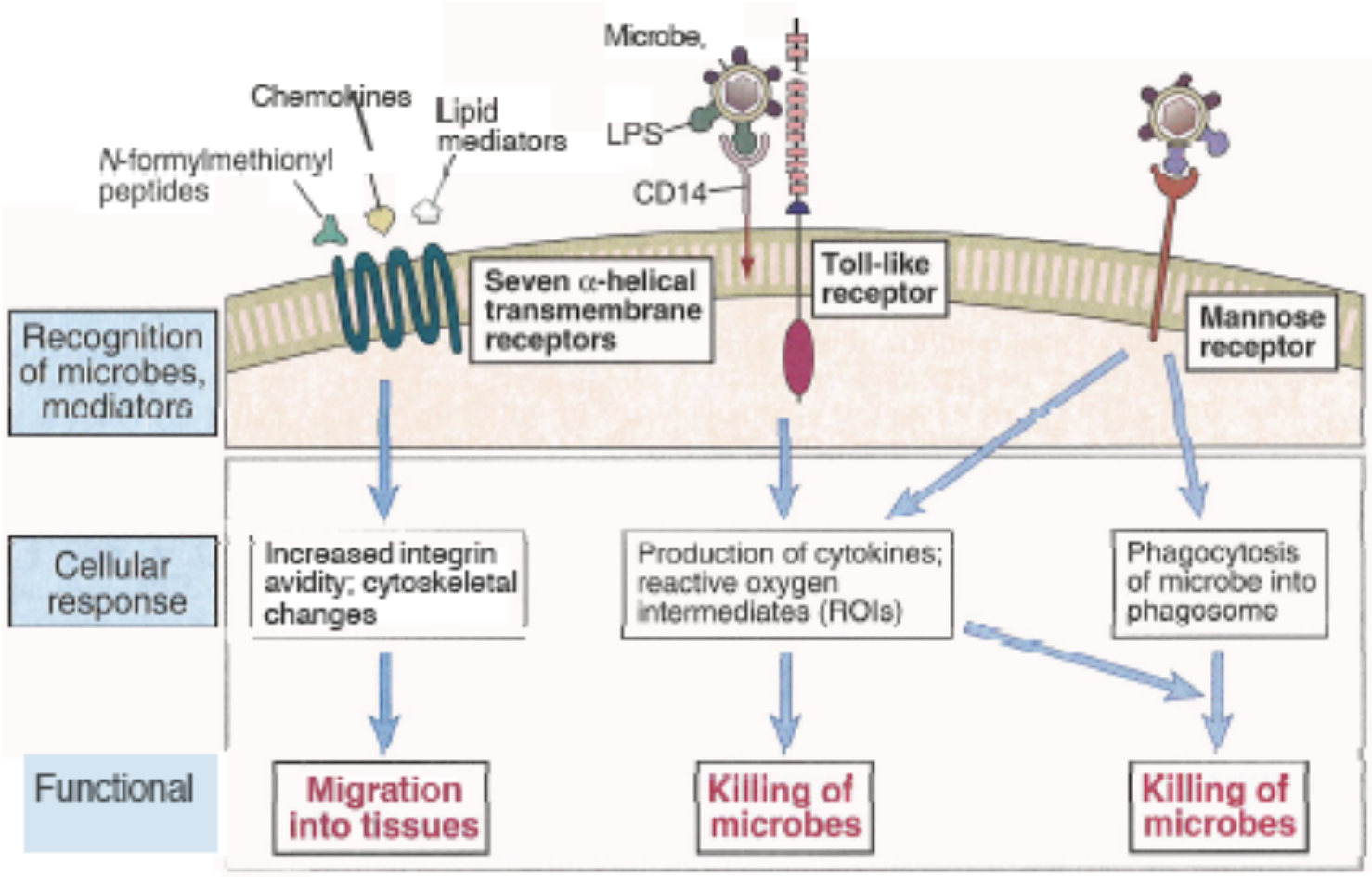


Figure 2-15 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

- ✓ A lectina ligadora de manose (MBL) reconhece a superfície bacteriana por seu particular espaçamento entre os resíduos de carboidratos.

Reconhecimento de micróbios pelos neutrófilos, macrófagos e células dendríticas.

✓ Dá-se através de receptores presentes nestas células



Receptores que promovem fagocitose

✓ Receptor de manose

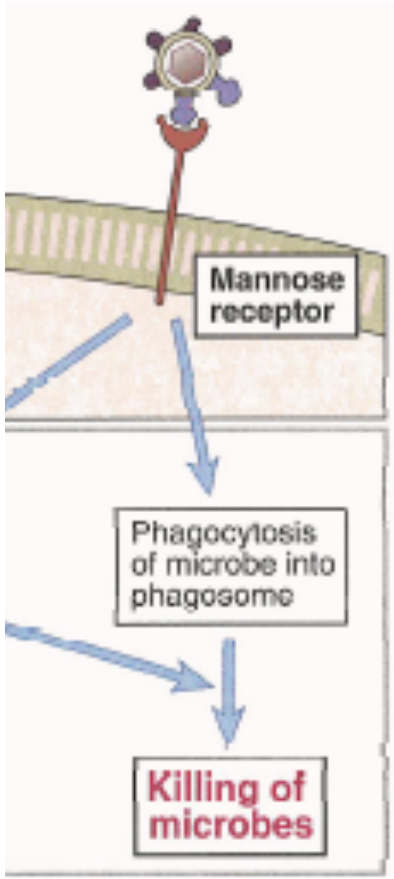
- liga-se a resíduos de manose e fucose presentes em glicoproteínas e glicolipídeos microbianos

✓ Receptores "scavenger" (receptores de varredura)

- ligam-se a proteínas de baixa densidade que estejam acetiladas ou oxidadas e a polímeros aniônicos

✓ Receptores para opsoninas

- ligam-se a micróbios envolvidos por várias proteínas (ex: anticorpos, complemento e lectinas)



Receptores que ativam os fagócitos porém não participam nos processos de fagocitose

- ✓ **TLRs (Toll like receptors)** - extracelulares e intracelulares
- ✓ **NLRs (NOD like receptors)** – intracelulares (NOD, NALP, NAIP)
- ✓ **RIG-I**, MDA5 e RAI - intracelulares

Receptores que ativam os fagócitos porém não participam nos processos de fagocitose

✓ Receptores do tipo Toll (TLRs)

- ligam-se a diferentes componentes dos micróbios

Innate immune recognition by Toll-like receptors	
Toll-like receptor	**Ligand**
TLR-1:TLR-2 heterodimer	Peptidoglycan Lipoproteins Lipoarabinomannan (mycobacteria) GPI (*T. cruzi*) Zymosan (yeast)
TLR-2:TLR-6 heterodimer	
TLR-3	dsRNA
TLR-4 dimer (plus MD-2 and CD14)	LPS (Gram-negative bacteria) Lipoteichoic acids (Gram-positive bacteria)
TLR-5	Flagellin
TLR-7	ssRNA
TLR-8	G-rich oligonucleotides
TLR-9	Unmethylated CpG DNA

Figure 2-16 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

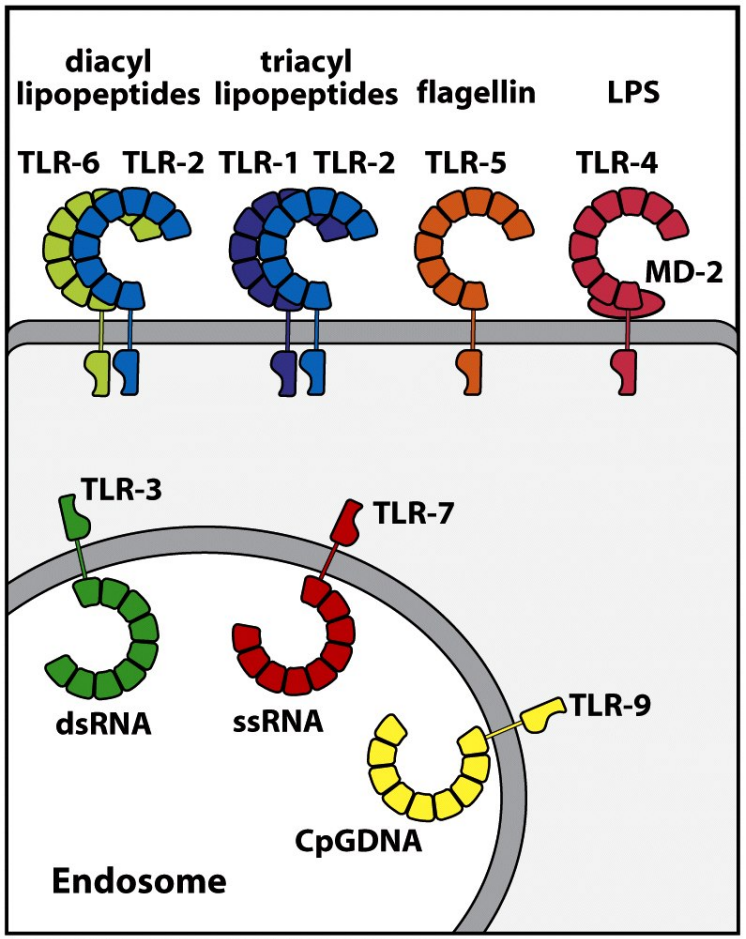


Figure 2-17 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Tanto receptores ligados à membrana quanto proteínas intracelulares agem como sensores bacterianos, reconhecendo proteoglicanos e ativando NFκB a induzir a expressão de genes pró-inflamatórios.

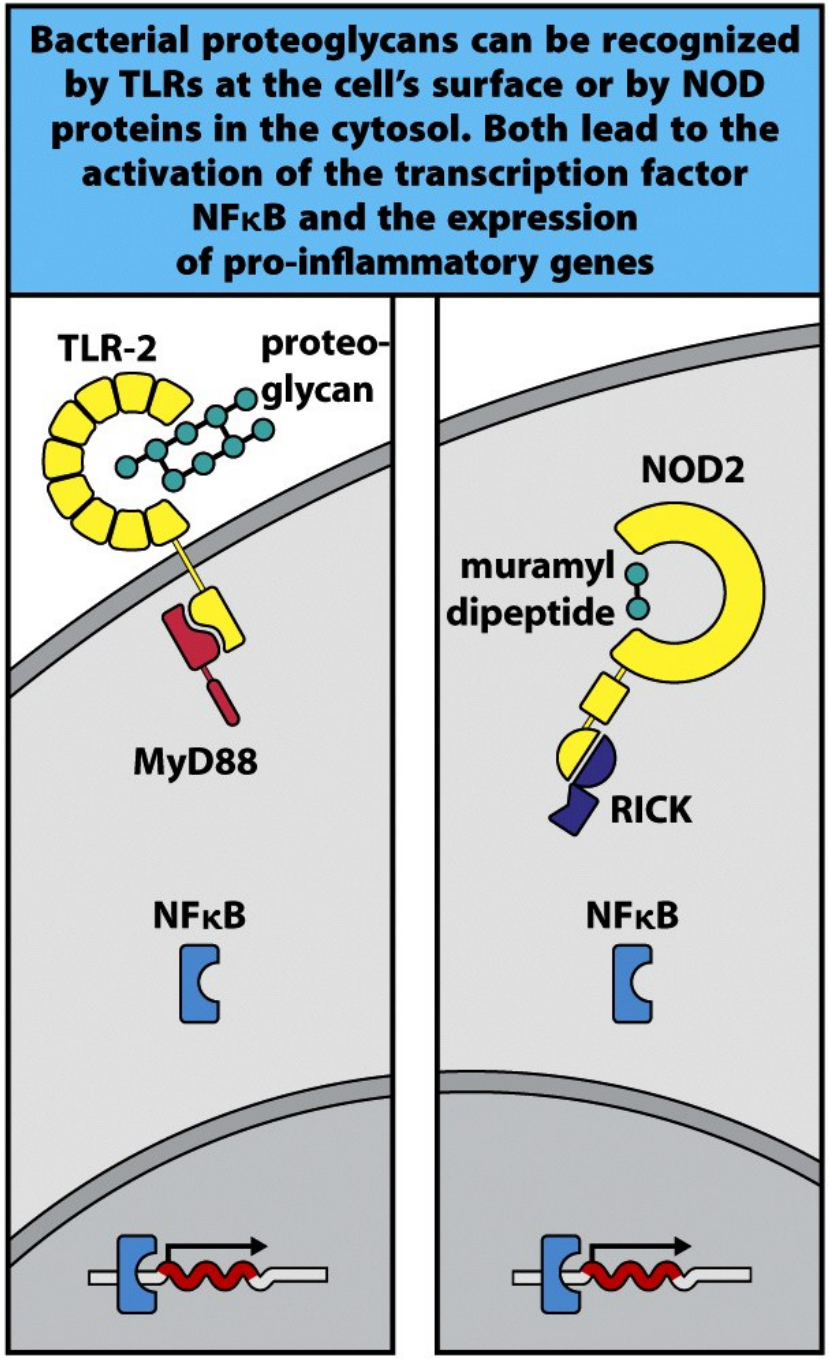


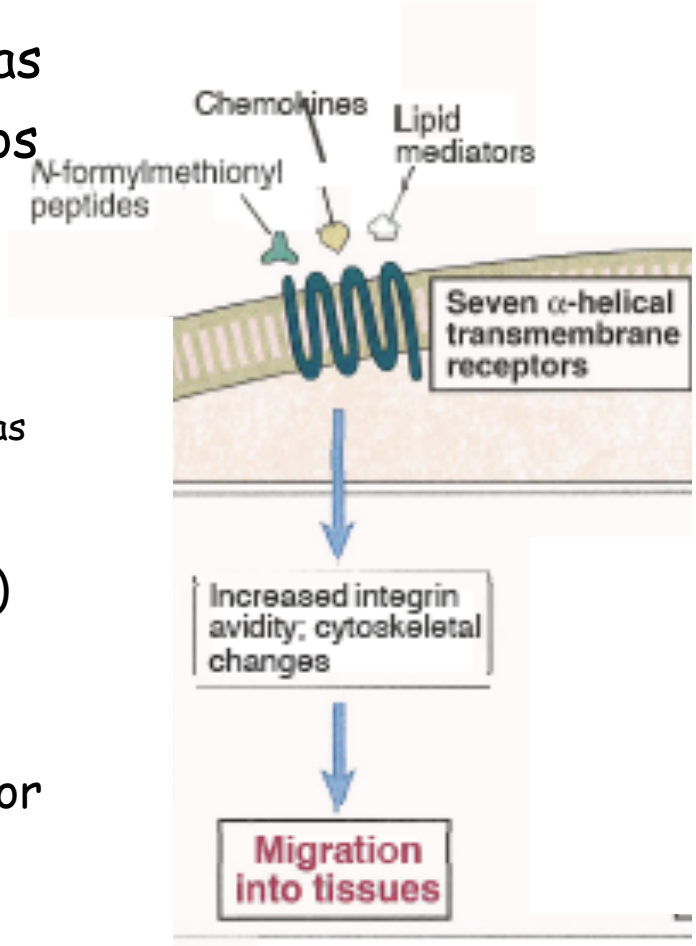
Figure 2-20 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

NOD: nucleotide oligomerization domain protein

Receptores que ativam os fagócitos porém não participam nos processos de fagocitose

✓ Receptores acoplados a proteínas G

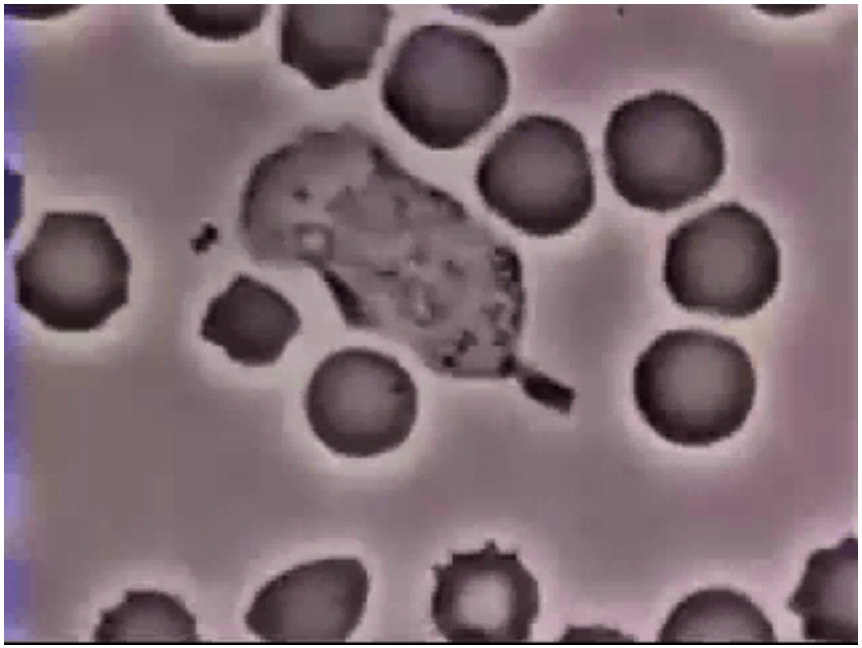
- possuem sete α-hélices trans-membrânicas
- estimulam a migração de leucócitos para os sítios de infecção
- diferentes classes:
  - reconhecem pequenos peptídeos contendo resíduos de N-formil-metionil (presentes em todas as bactérias e somente em proteínas de mamíferos sintetizadas dentro das mitocôndrias)
  - reconhecem quimiocinas como CXCL8 (IL-8)
  - produtos proteolíticos da cascata do complemento
  - mediadores lipídicos da inflamação (ex: fator ativador de plaquetas, prostaglandina E e leucotrieno B_4)



Fagocitose

- ✓ processo dependente do citoesqueleto

Fagocitose



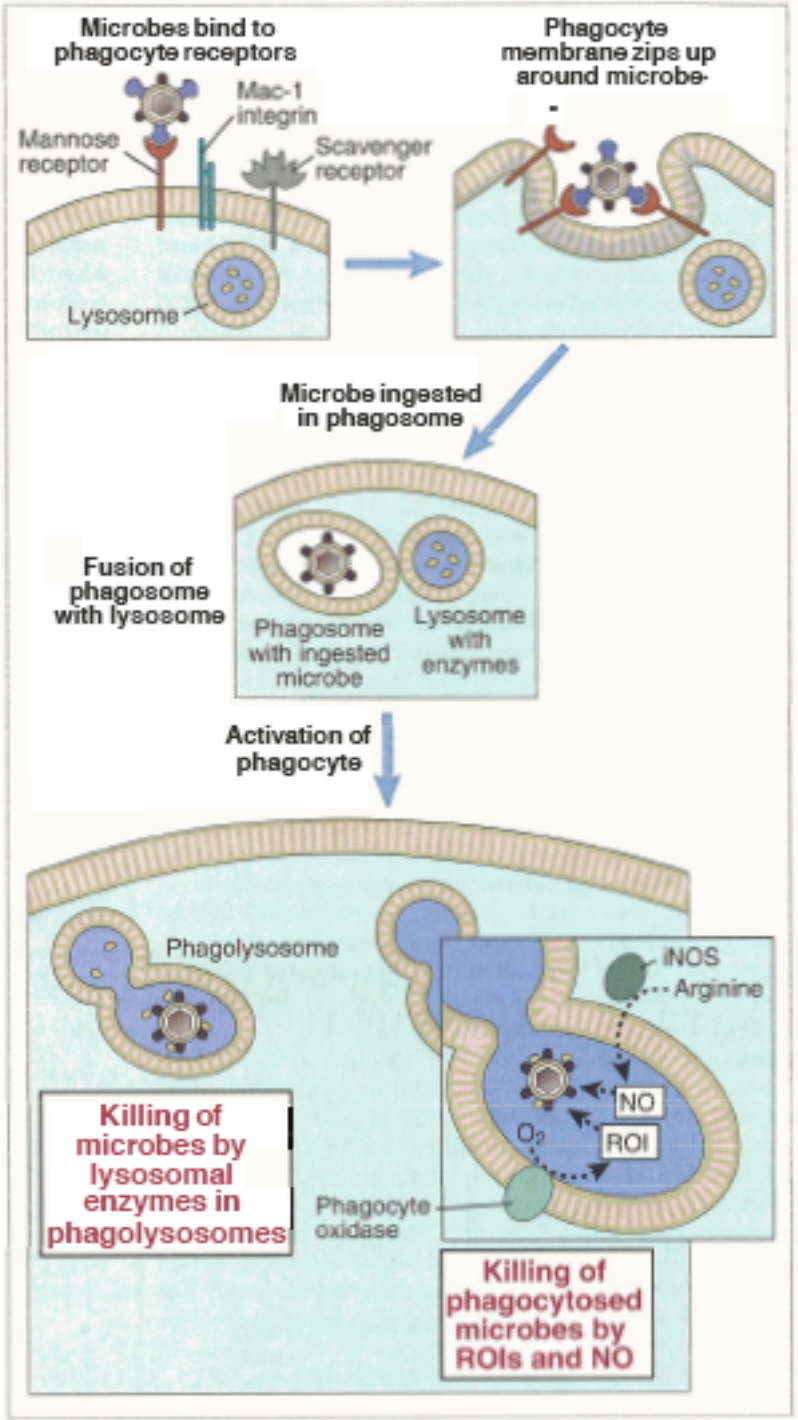
Eliminação de patógenos fagocitados

- ✓ Formação do fagolisossoma e sua acidificação

- ✓ "Burst" respiratório: conversão de oxigênio em intermediários reativos de oxigênio (ROIs)

- ✓ Mecanismos independentes de O_2

- ✓ Intermediários reativos de nitrogênio (principalmente óxido nítrico) produzidos pelos macrófagos


Microbes bind to phagocyte receptors
Mac-1 integrin
Mannose receptor
Scavenger receptor
Lysosome
Phagocyte membrane zips up around microbe
Microbe ingested in phagosome
Fusion of phagosome with lysosome
Phagosome with ingested microbe
Lysosome with enzymes
Activation of phagocyte
Phagolysosome
Killing of microbes by lysosomal enzymes in phagolysosomes
iNOS
Arginine
NO
ROI
O2
Phagocyte oxidase
Killing of phagocytosed microbes by ROIs and NO

"Burst" Respiratório

Reações dependentes de O_2 e independentes da mieloperoxidase

$$\text{Glicose} + NADP^+ \xrightarrow{\text{G-6-P-desidrogenase}} \text{Pentose-P} + NADPH$$

$$NADPH + O_2 \xrightarrow[\text{Citocromo B}]{\text{NADPH oxidase}} NADP^+ + O_2^-$$

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superóxido dismutase}} H_2O_2 + {}^1O_2$$

$$2O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow OH^* + OH^- + {}^1O_2$$

Compostos Tóxicos: anion superóxido O_2^-, peróxido de hidrogênio H_2O_2, oxigênio singlet ${}^1O_2$, radical hidroxila OH^*

"Burst" Respiratório

Reações dependentes de O_2 e da mieloperoxidase

$$H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{\text{mieloperoxidase}} OCl^- + H_2O$$

$$2OCl^- + H_2O \longrightarrow {}^1O_2 + Cl^- + H_2O$$

Compostos Tóxicos: hipoclorito OCl^-, oxigênio singlet ${}^1O_2$

"Burst" Respiratório

Reações de Detoxificação

$$O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superóxido dismutase}} H_2O_2 + O_2$$

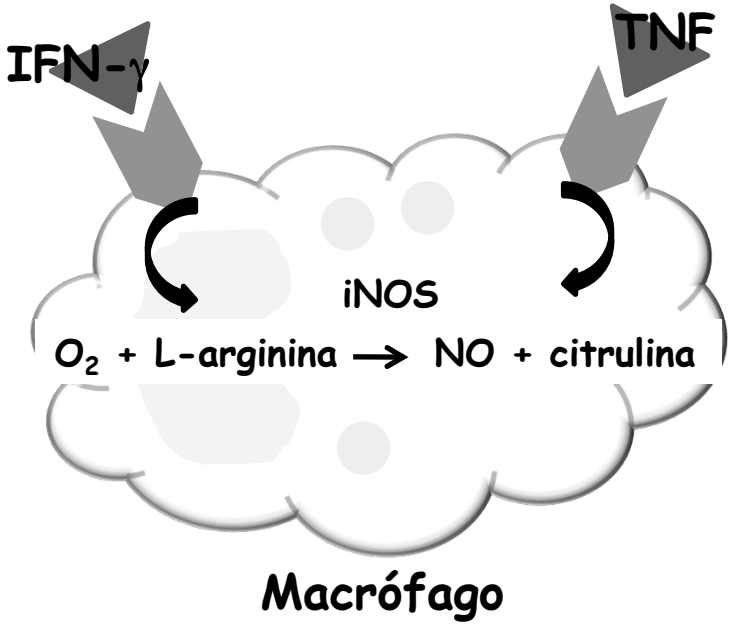
$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} H_2O + O_2$$

“Burst” Respiratório

Mecanismos independentes de O_2

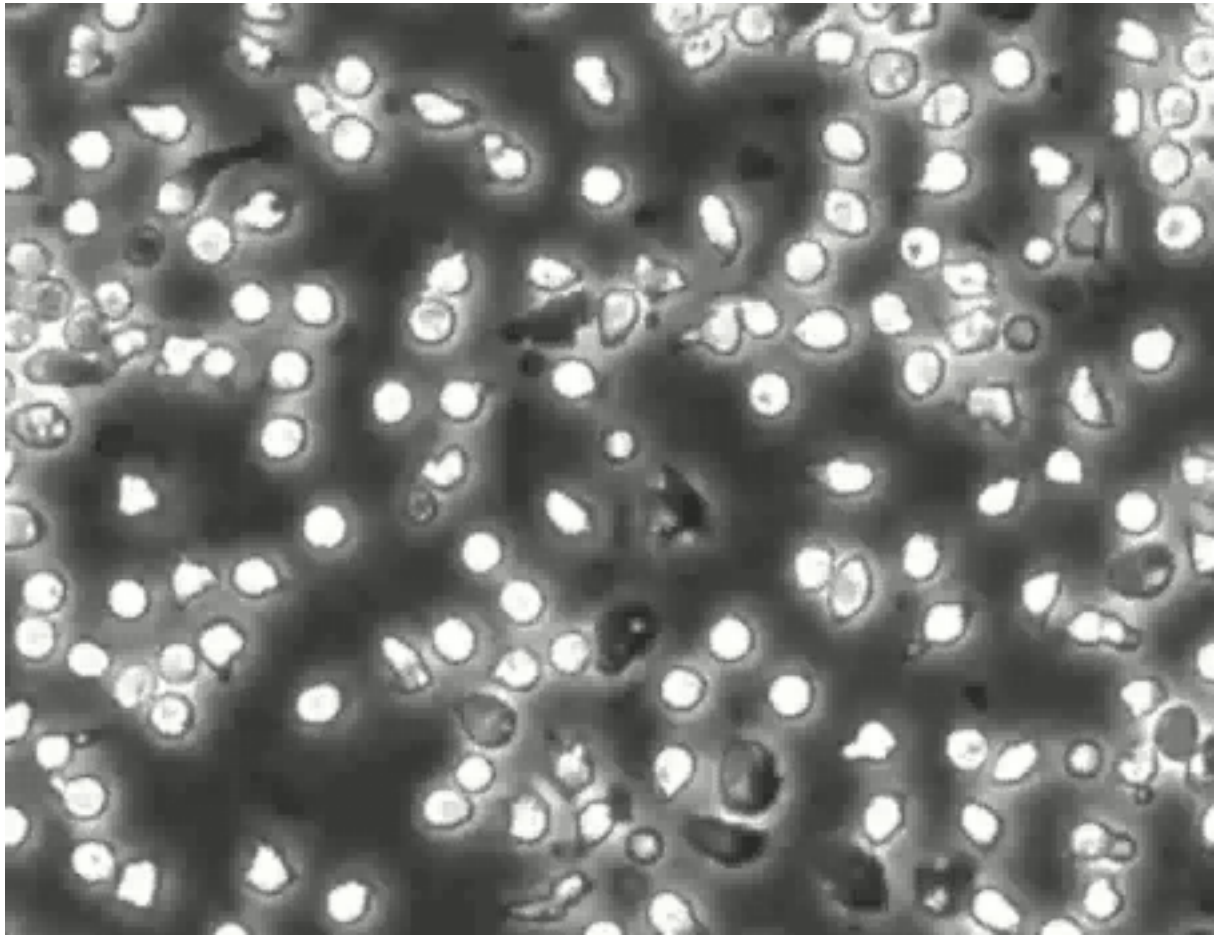
Molécula efetora	Função
Proteínas catiônicas (catepsinas)	Danificam as membranas dos patógenos
Lisozima	Hidrolisa mucopeptídeos da parede celular
Lactoferrina	Priva os patógenos de ferro
Enzimas hidrolíticas (proteases)	Digerem os patógenos mortos

Mecanismo dependente de Óxido Nítrico

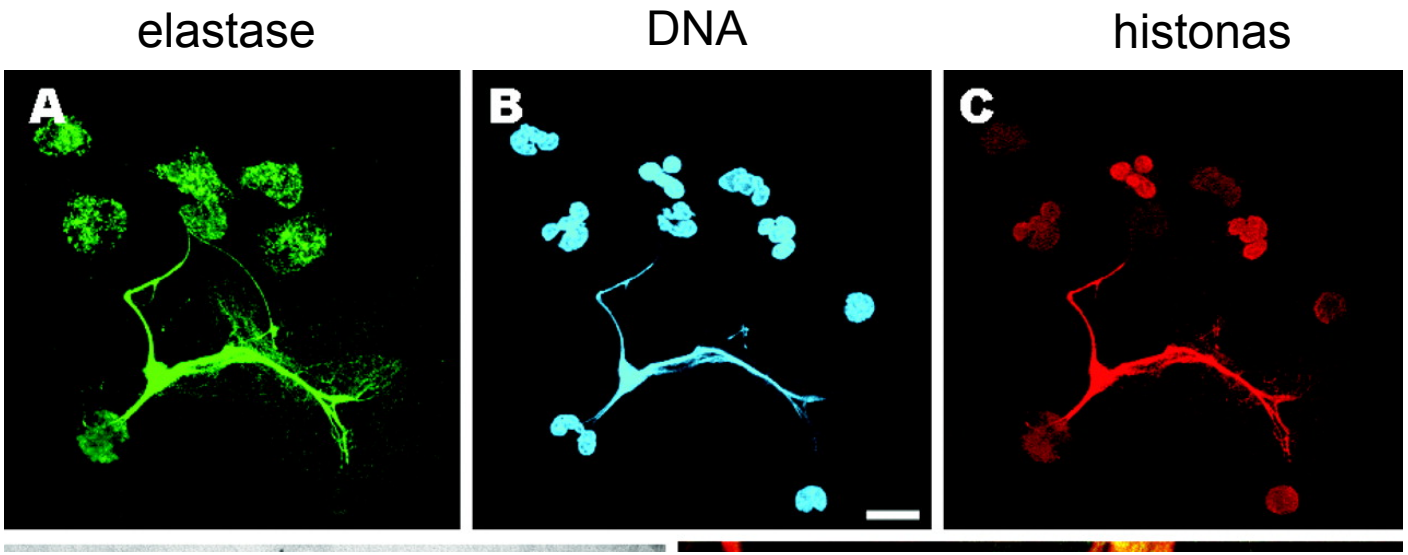


- ✓ Bactérias ligam-se aos macrófagos
- ✓ Produção de TNF-α
- ✓ Regulação positiva da NO sintetase indutível (iNOS)
- ✓ Liberação de NO
- ✓ NO é tóxico para células infectadas próximas do macrófago

Neutrófilos formam redes extracelulares capazes de matar bactérias gram-negativas e gram-positivas.



Neutrófilos foram ativados com 10 ng de IL-8 por 30 min e corados para elastase derivada de neutrófilos (A), DNA (B) e para histonas (C).



V Brinkmann et al. Science 2004;303:1532-1535

Published by AAAS

Fatores Solúveis

✓ Citocinas

- são proteínas pequenas que induzem respostas através da ligação a seus receptores.
- produzidas por:
  - neutrófilos
  - macrófagos
  - células NK
  - células endoteliais
  - células epiteliais (ex: queratinócitos)
  - mastócitos
  - basófilos
  - eosinófilos
- duas famílias principais (semelhantes estruturalmente)
  - família das hematopoietinas (ex: IL-6)
  - família do TNF (ex: TNF-α)

Citocinas secretadas pelos macrófagos em resposta a produtos bacterianos

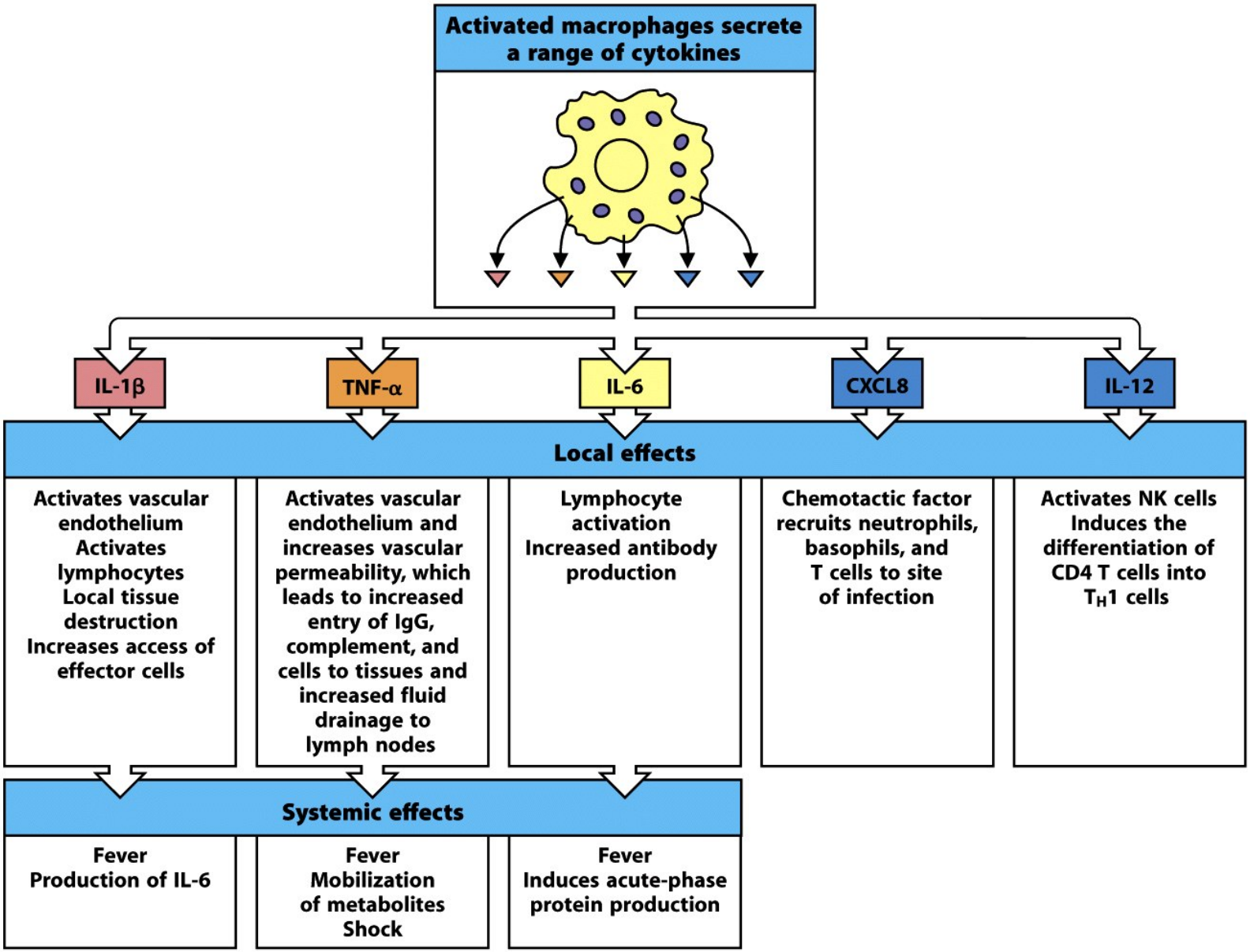


Figure 2-44 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Interferons-α e -β (do tipo I) controlam infecções virais

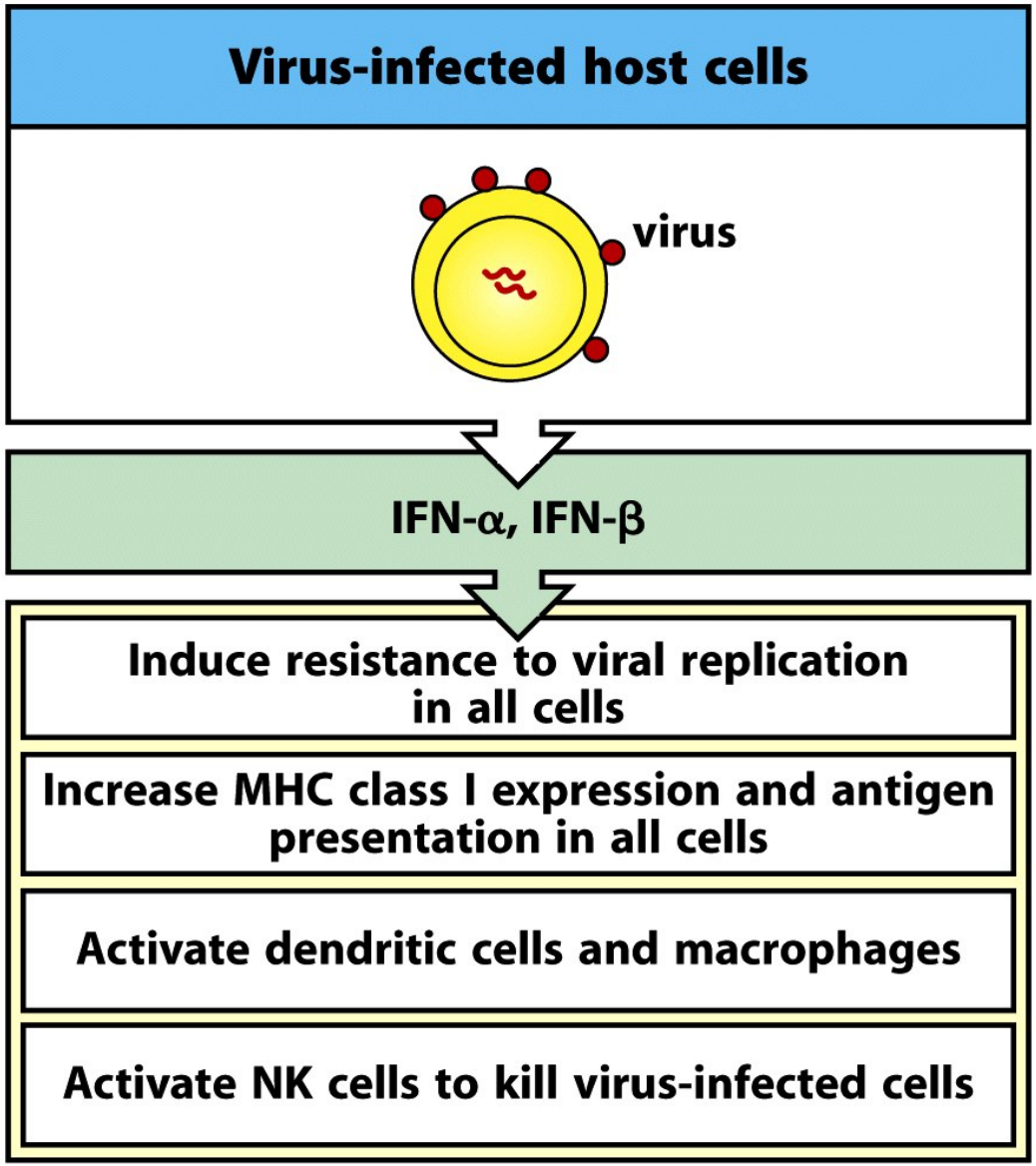


Figure 2-54 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Cytokines secreted by macrophages and dendritic cells

Cytokine	Main producer	Acts upon	Effect
IL-1	Macrophages Keratinocytes	Lymphocytes	Enhances responses
		Liver	Induces acute-phase protein secretion
IL-6	Macrophages Dendritic cells	Lymphocytes	Enhances responses
		Liver	Induces acute-phase protein secretion
CXCL8 (IL-8)	Macrophages Dendritic cells	Phagocytes	Chemoattractant for neutrophils
IL-12	Macrophages Dendritic cells	Naive T cells	Diverts immune response to T_H1, pro-inflammatory, cytokine secretion
TNF-α	Macrophages Dendritic cells	Vascular endothelium	Induces changes in vascular endothelium (expression of cell-adhesion molecules (E- and P-selectin), changes in cell–cell junctions with increased fluid loss, local blood clotting)

Figure 2-21 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Receptores para citocinas

Fatores Solúveis

- ✓ Quimiocinas
  - são proteínas pequenas que induzem quimiotaxia (atraem células próximas)
  - tem sequência de aminoácidos semelhantes
  - todos seus receptores possuem sete α-hélices trans-membrânicas e são acoplados a proteínas G
  - algumas funcionam como estimuladoras do desenvolvimento de linfócitos e outras são angiogênicas
  - duas famílias principais
    - quimiocinas do tipo CC
    - quimiocinas do tipo CXC
  - agem em diferentes grupos de receptores
    - receptores para quimiocinas do tipo CC (CCR) – CCR1-9
    - receptores para quimiocinas do tipo CXC (CXCR) – CXCR1-6

Class	Chemokine	Produced by	Receptors	Cells attracted	Major effects
CXC	CXCL8 (IL-8)	Monocytes Macrophages Fibroblasts Keratinocytes Endothelial cells	CXCR1 CXCR2	Neutrophils Naive T cells	Mobilizes, activates and degranulates neutrophils Angiogenesis
	CXCL7 (PBP, β-TG NAP-2)	Platelets	CXCR2	Neutrophils	Activates neutrophils Clot resorption Angiogenesis
	CXCL1 (GROα) CXCL2 (GROβ) CXCL3 (GROγ)	Monocytes Fibroblasts Endothelium	CXCR2	Neutrophils Naive T cells Fibroblasts	Activates neutrophils Fibroplasia Angiogenesis
	CXCL10 (IP-10)	Keratinocytes Monocytes T cells Fibroblasts Endothelium	CXCR3	Resting T cells NK cells Monocytes	Immunostimulant Antiangiogenic Promotes T_H1 immunity
	CXCL12 (SDF-1)	Stromal cells	CXCR4	Naive T cells Progenitor ($CD34^+$) B cells	B-cell development Lymphocyte homing Competes with HIV-1
	CXCL13 (BLC)	Stromal cells	CXCR5	B cells	Lymphocyte homing

Figure 2-46 part 1 of 2 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Class	Chemokine	Produced by	Receptors	Cells attracted	Major effects
CC	CCL3 (MIP-1α)	Monocytes T cells Mast cells Fibroblasts	CCR1, 3, 5	Monocytes NK and T cells Basophils Dendritic cells	Competes with HIV-1 Antiviral defense Promotes T_H1 immunity
	CCL4 (MIP-1β)	Monocytes Macrophages Neutrophils Endothelium	CCR1, 3, 5	Monocytes NK and T cells Dendritic cells	Competes with HIV-1
	CCL2 (MCP-1)	Monocytes Macrophages Fibroblasts Keratinocytes	CCR2B	Monocytes NK and T cells Basophils Dendritic cells	Activates macrophages Basophil histamine release Promotes T_H2 immunity
	CCL5 (RANTES)	T cells Endothelium Platelets	CCR1, 3, 5	Monocytes NK and T cells Basophils Eosinophils Dendritic cells	Degranulates basophils Activates T cells Chronic inflammation
	CCL11 (Eotaxin)	Endothelium Monocytes Epithelium T cells	CCR3	Eosinophils Monocytes T cells	Role in allergy
	CCL18 (DC-CK)	Dendritic cells	?	Naive T cells	Role in activating naive T cells
C	XCL1 (Lymphotactin)	CD8>CD4 T cells	CXCR1	Thymocytes Dendritic cells NK cells	Lymphocyte trafficking and development
CXXXC (CX_3C)	CX3CL1 (Fractalkine)	Monocytes Endothelium Microglial cells	CX_3CR1	Monocytes T cells	Leukocyte–endothelial adhesion Brain inflammation

Figure 2-46 part 2 of 2 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Receptores para quimiocinas

Gradiente de Quimiocinas