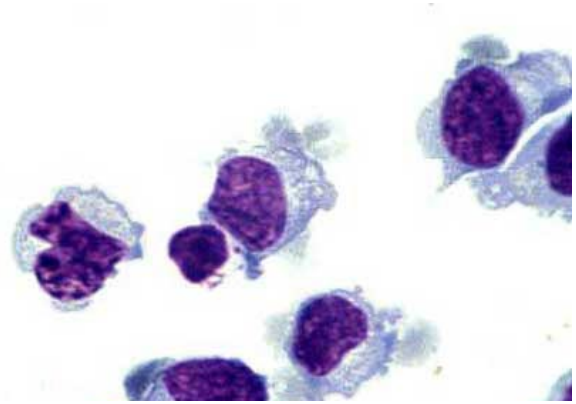


Imunidade Inata (parte II)



Natural Killer (NK)

✓ são linfócitos grandes e granulares com função citotóxica;

✓compreendem: 10-15% dos linfócitos presentes no sangue periférico e 1-2% dos linfócitos presentes no baço;

✓ são citotóxicos para células que diminuem e/ou perdem a expressão de MHC classe I:

- Células tumorais;
- Células infectadas por vírus.

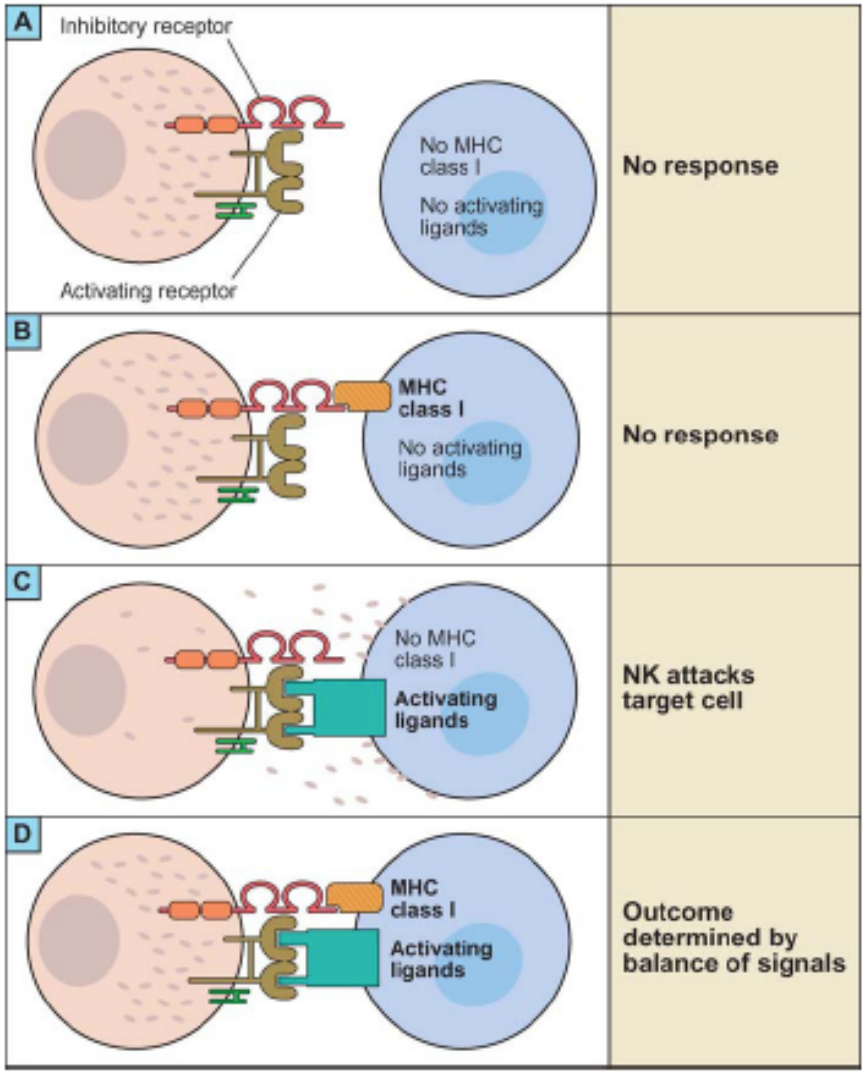


Reconhecimento de células infectadas pelas células NK.

✓ A ativação de células NK é regulada por um balanço entre sinais gerados por receptores excitatórios e inibitórios;

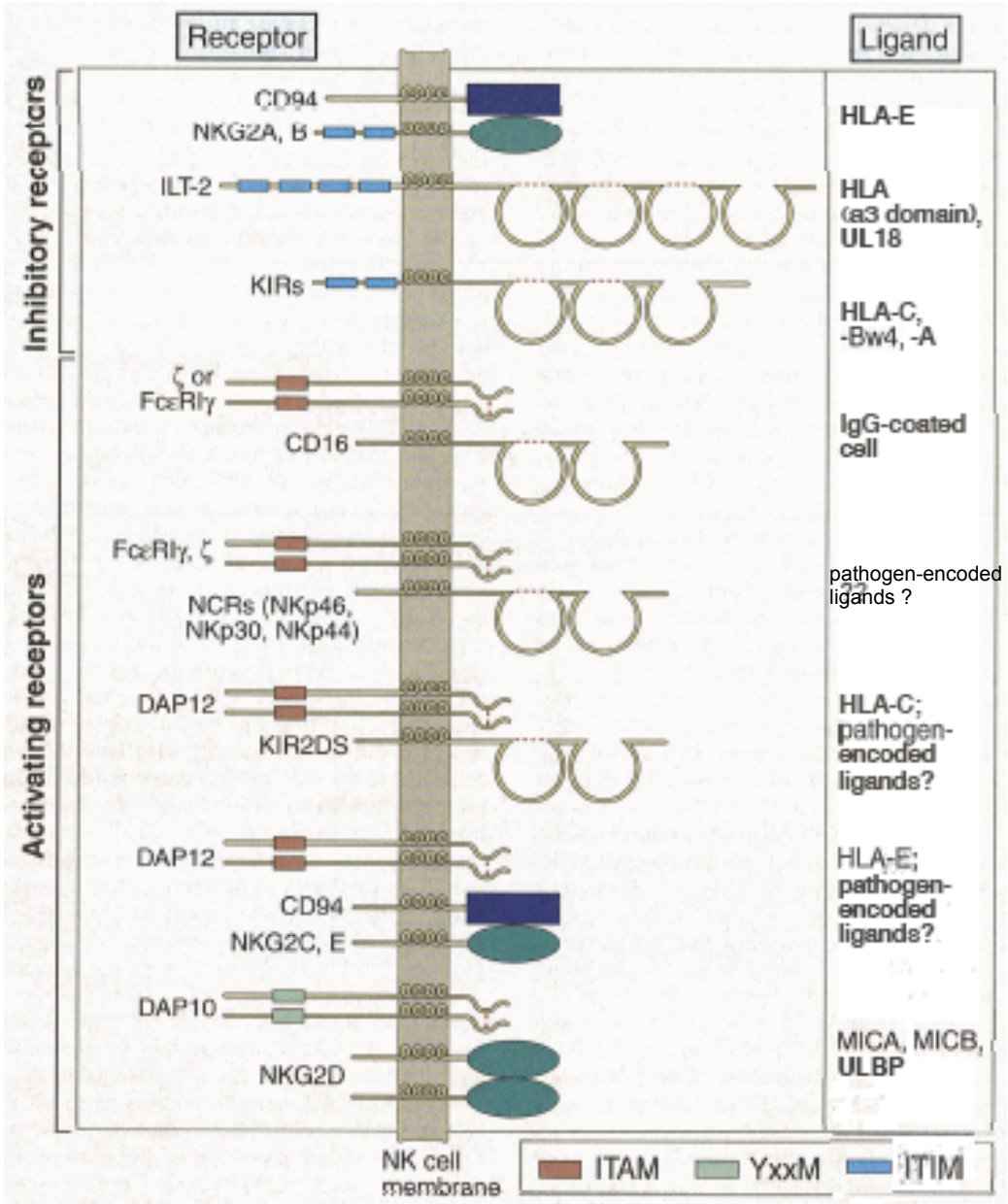
• Receptores inibitórios: reconhecem moléculas de MHC classe I;

• Receptores excitatórios: reconhecem estruturas presentes tanto em células normais quanto em células infectadas ou tumorais.



Lanier, Annu. Rev. Immunol. 2005, 23:225-274

Classes de receptores



- Receptores inibitórios: possuem motivos ITIM ("immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs") em suas caudas citoplasmáticas.

- Receptores excitatórios: possuem motivos ITAM ("immunoreceptor tyrosine-based activation motifs") em suas caudas citoplasmáticas.

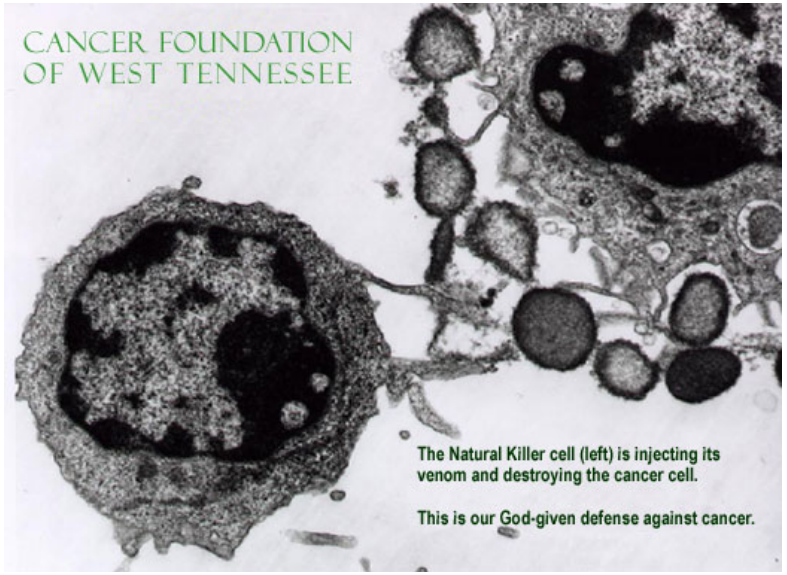
Expressos em resposta ao estresse celular

Outras características das células NK

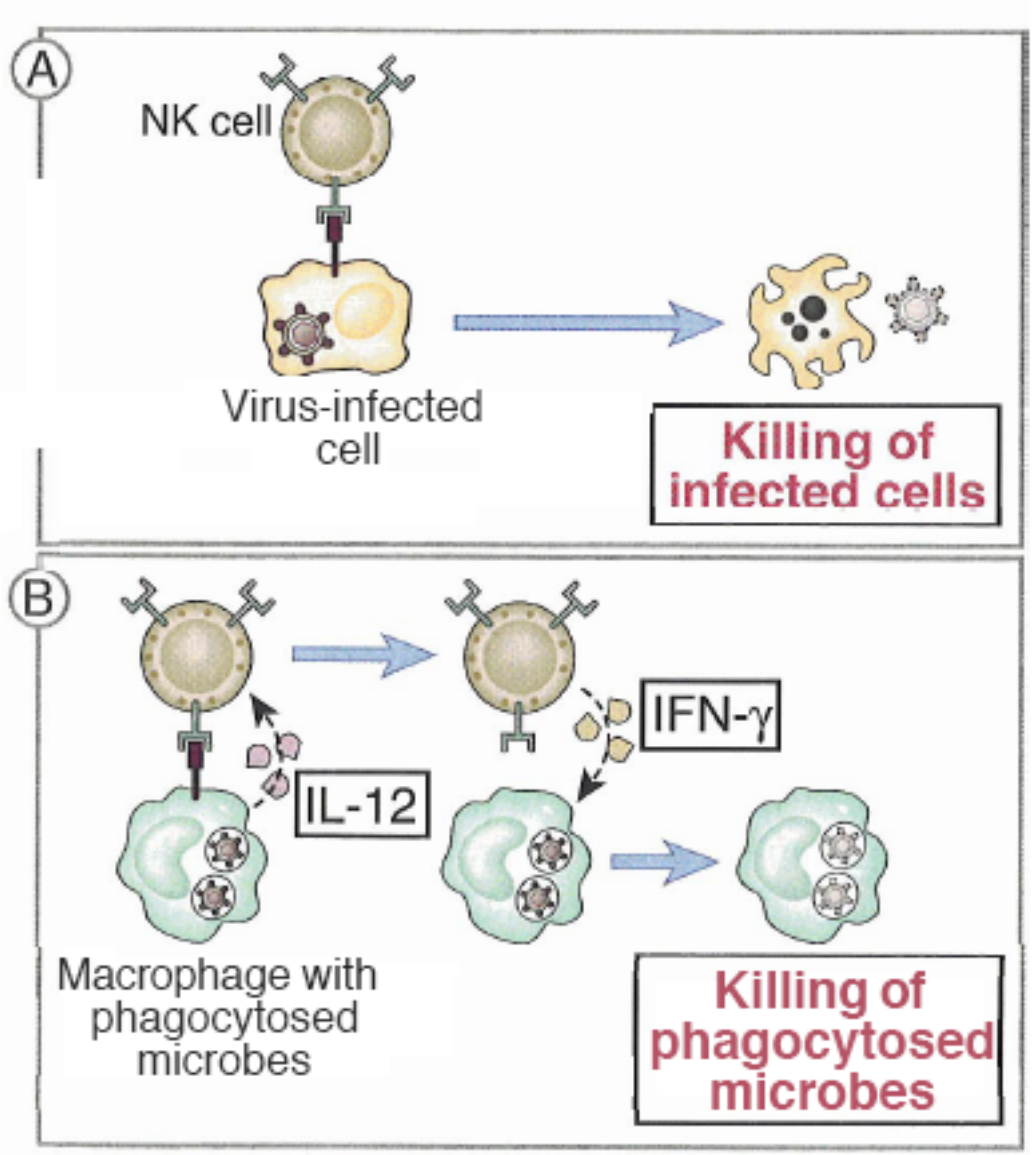
✓ também responsáveis pelo fenômeno de citotoxicidade mediada por anticorpos;

✓ secretam citocinas, principalmente IFN-γ;

✓ expansão e funções são estimuladas principalmente pelas citocinas IL-12, IL-15 e interferons do tipo I.



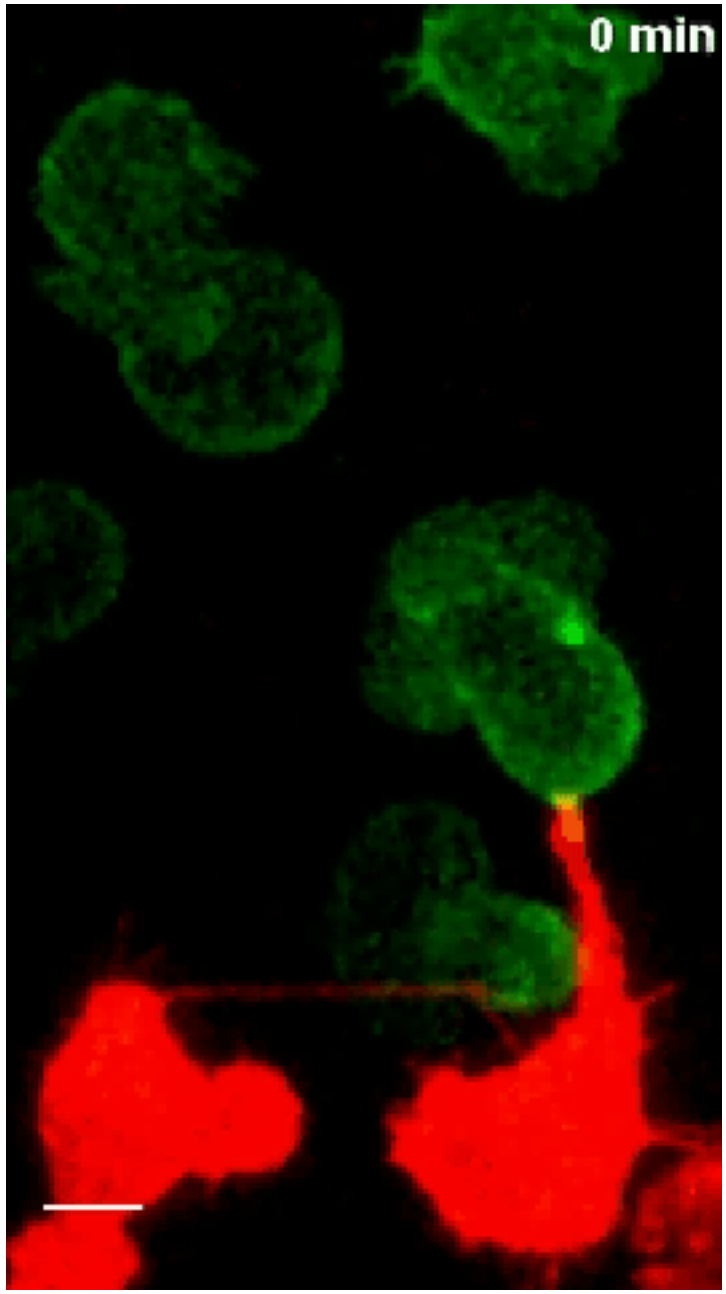
Funções efetoras das células NK



✓ Células NK matam células infectadas por citólise.

✓ Possuem grânulos contendo:
- perforina
  (faz poros na membrana da célula alvo)
- granzimas
  (induzem apoptose da célula alvo)

✓ Produzem IFN-γ que ativa macrófagos a matarem patógenos fagocitados.

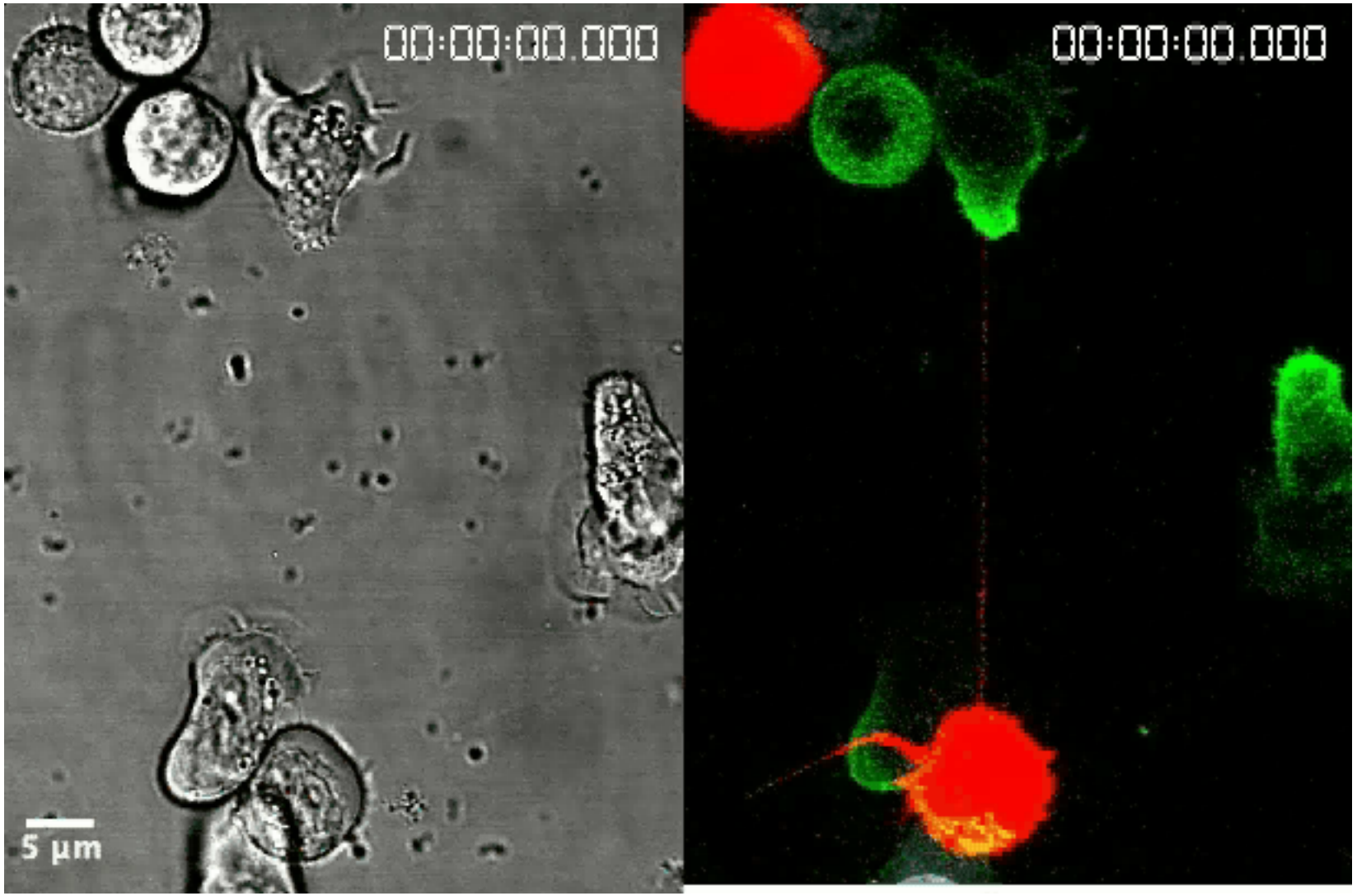


Nanotubos de membrana facilitam a interação de longa distância entre as células NK e as células alvo.

Vermelho: células NK
Verde: células alvo

Chauveau et al. 2010. *PNAS, vol. 107 no. 12 5545-5550*

Nanotubos de membrana frequentemente causam a lise das células alvo.



Vermelho: células NK
Verde: células alvo

Chauveau et al. 2010. *PNAS, vol. 107 no. 12 5545-5550*

"Innate-like lymphocytes" (ILLs)

Linfócitos semelhantes ao inato

Innate-like lymphocytes		
B-1 cells	**Epithelial γ:δ cells**	**NK T cells**
Make natural antibody, protect against infection with *Streptococcus pneumoniae*	**Produce cytokines rapidly**	**Produce cytokines rapidly**

Apresentam receptores relativamente invariáveis, mas precisam sofrer rearranjo gênico para produzí-los.

- ✓ **Linfócitos B do subtipo B-1**
  - localizados nas cavidades peritoneal e pleural;
  - expressam o marcador CD5;
  - produzem anticorpos da classe IgM que são chamados de "anticorpos naturais";
  - IgM específicas para polissacarídeos e lipídeos bacterianos e para alguns antígenos próprios.

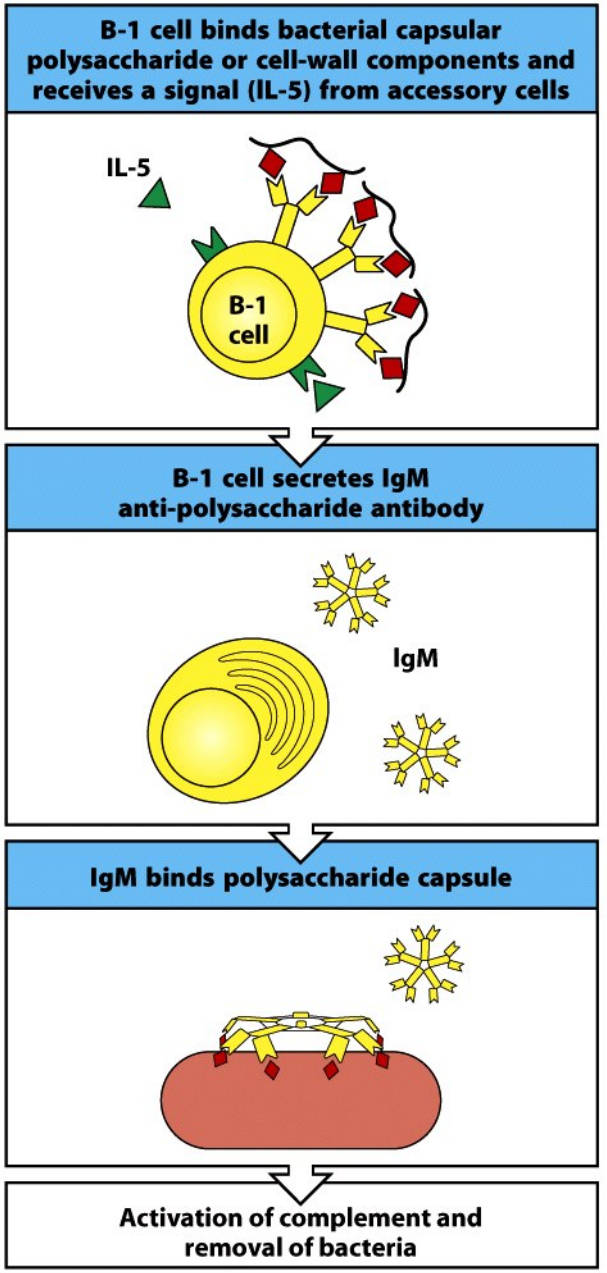


Figure 2-62 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

✓ **Linfócitos γδ intraepiteliais**

- presentes na epiderme e na mucosa epitelial;
- expressam diversidade limitada de receptores (especialmente γδ);
- parecem reconhecer ligantes presentes no epitélio que somente são expressos quando as células tornam-se infectadas.

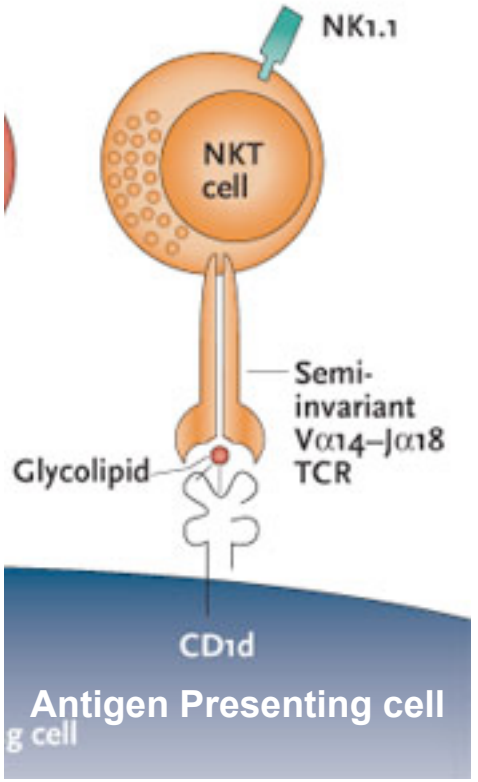
✓ Células NKT

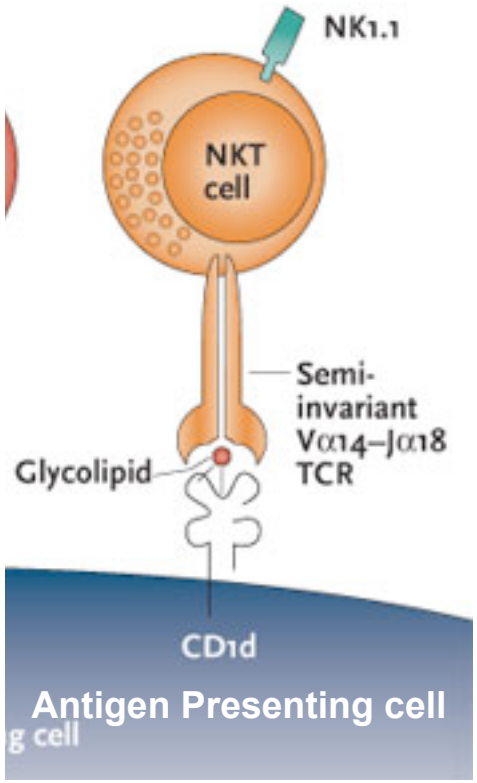
• localizadas no timo e em órgãos linfoides periféricos;

• combinam características das respostas imunes inata e adaptativa pois tem TCR mas respondem muito rapidamente quando em contato com sinais de perigo ou com citocinas pró-inflamatórias;

• expressam vários receptores presentes em células NK;

• reconhecem glicolipídeos no contexto de moléculas CD1d (moléculas semelhantes a MHC I).





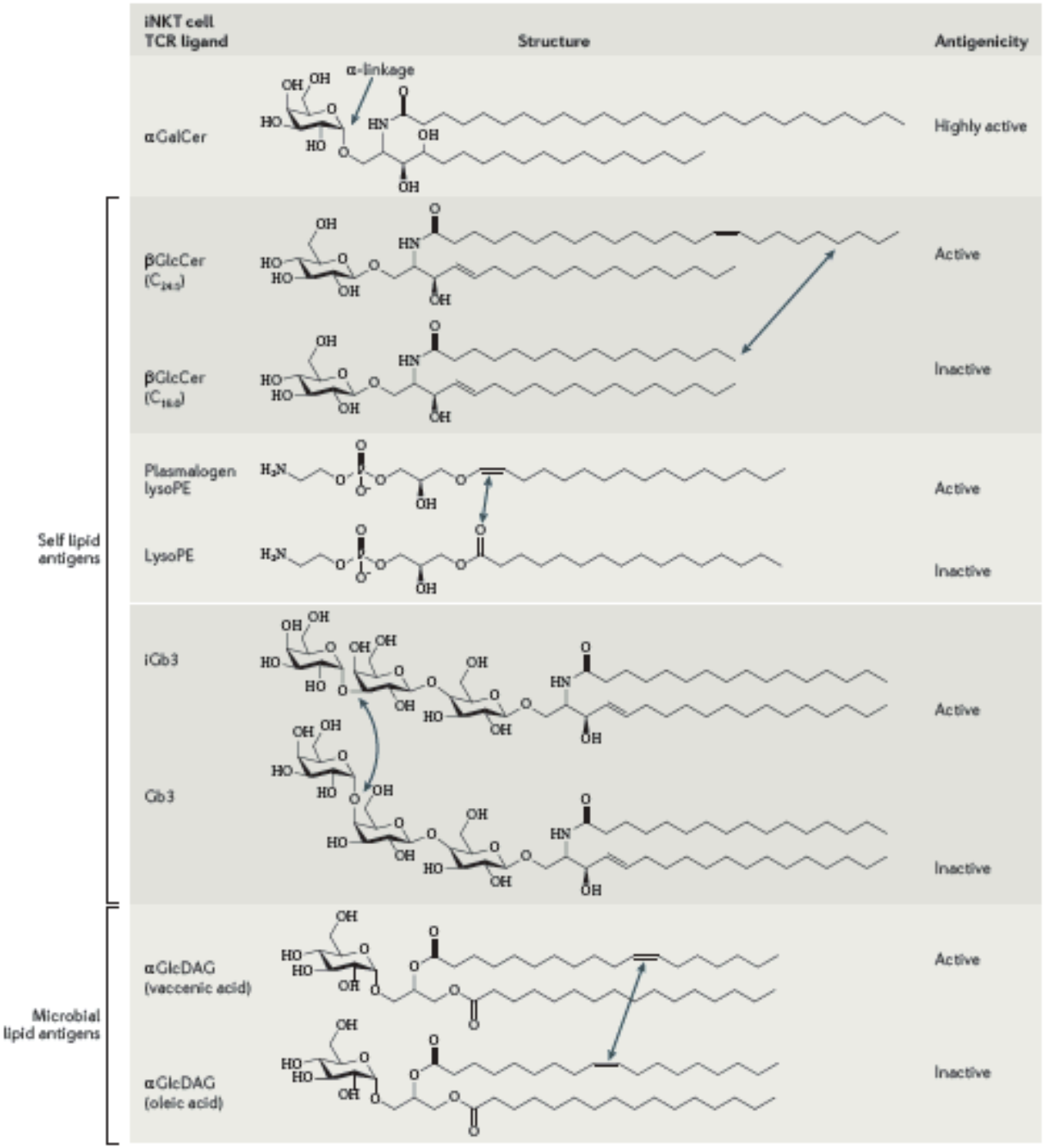
✓ Células NKT

- há 2 tipos:

➢ iNKT ("invariant NKT"): possuem a cadeia α do TCR invariante (Vα14Jα18 em camundongos e Vα24Jα18 em humanos);

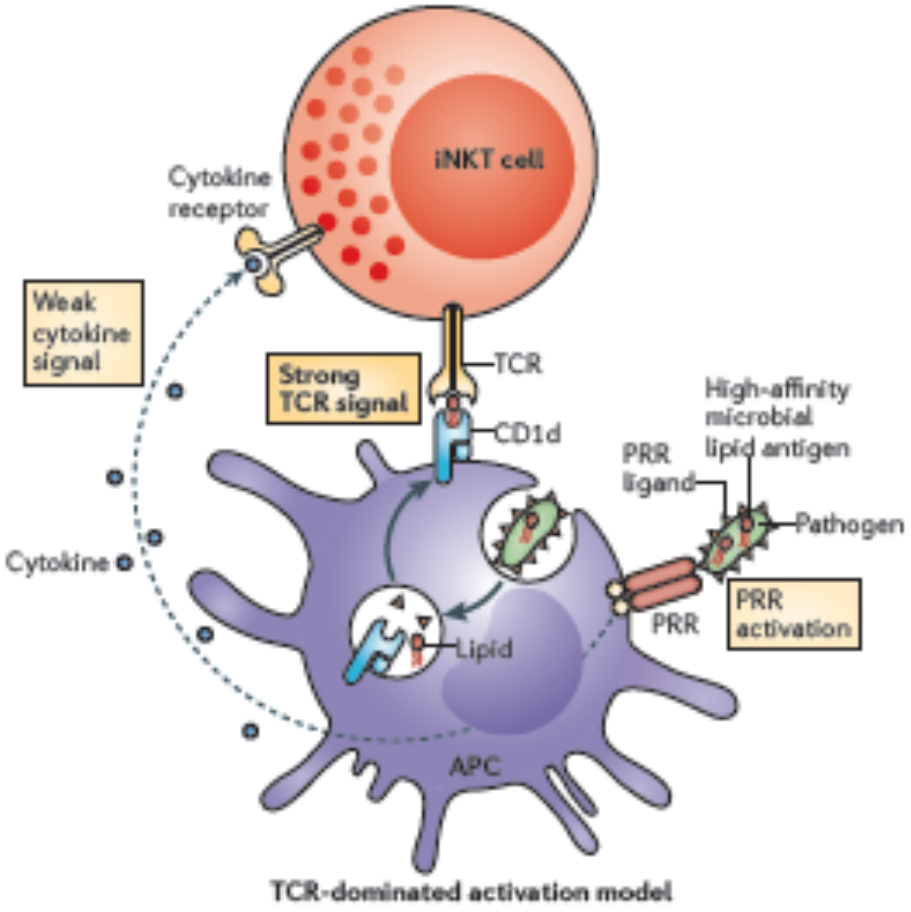
➢ dNKT ("diverse NKT"): expressam diferentes cadeias α e β do TCR.

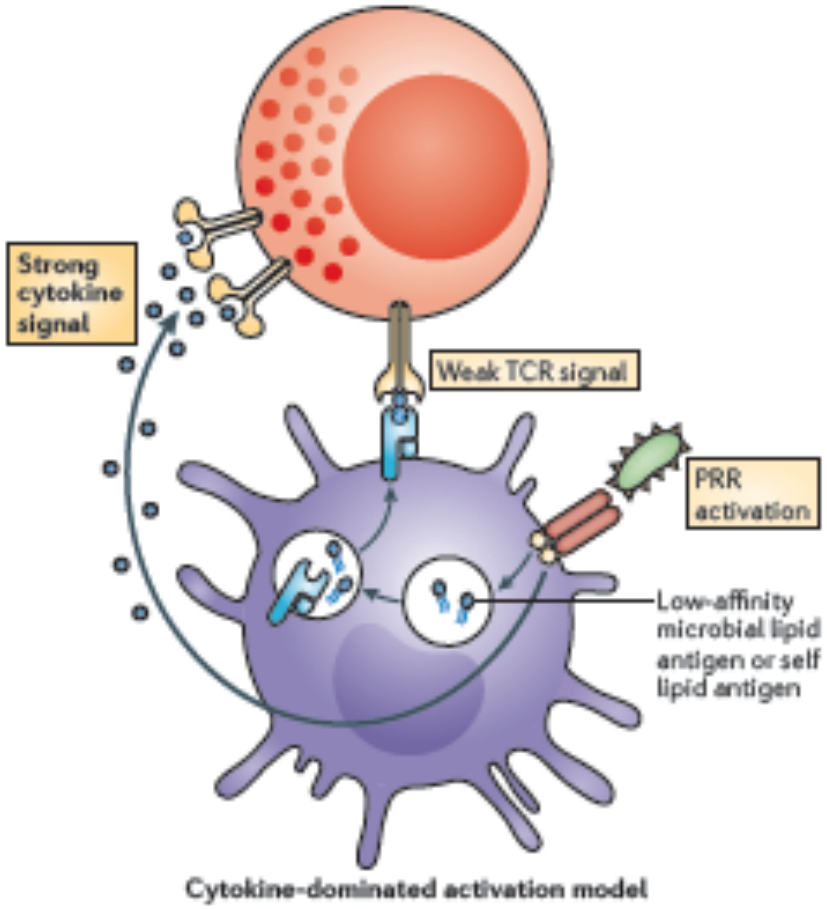
✓ Glicolipídeos reconhecidos pelas células iNKT.



Brennan et al. 2013. *NRI, vol. 13:* 101-117

✓ Ativação de células iNKT pelo TCR ou através da ação de citocinas





Expressam receptores para IL-12, IL-18, IL-23 e IL-25

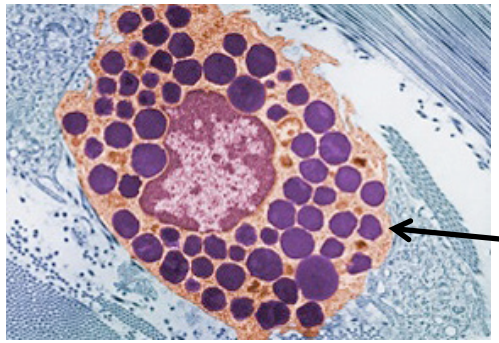
Brennan et al. 2013. *NRI, vol. 13:* 101-117

✓ Células NKT

• localização: baço, fígado, trato gastrintestinal, medula óssea e pele;

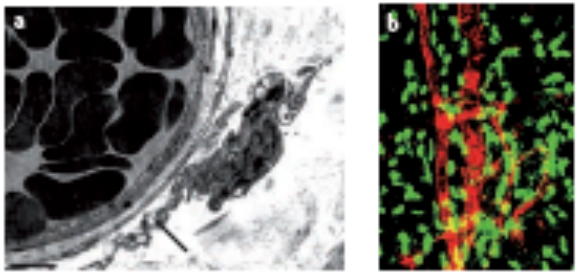
• a flora intestinal comensal parece exercer efeito sobre o número de iNKTs;

• secretam citocinas muito rapidamente: TNFα, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17, IL-21, GM-CSF e IFN-γ.



✓Mastócitos

grânulos elétrondensos →

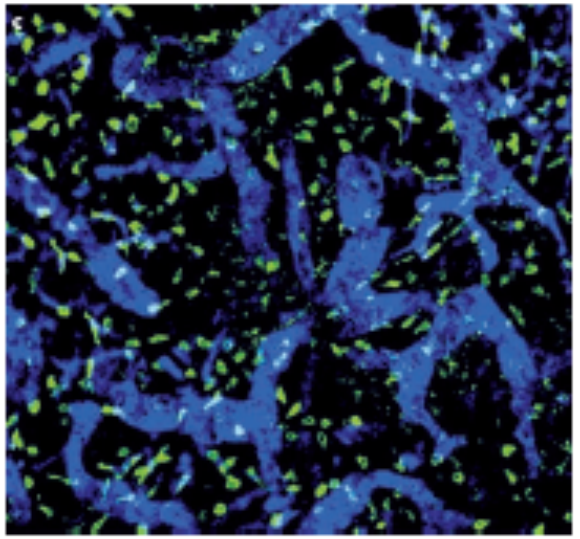


- são células residentes de pele, mucosas e tecidos conectivos (fazem contato com o ambiente);

- associadas com condições patológicas tais como asma, alergias e anafilaxia;

- indispensáveis ao organismo (não há relatos de humanos que não possuem mastócitos);

- há muitas evidências de que os mastócitos tem importante papel no controle de infecções parasitárias, bacterianas e virais.



A: mastócito degranulando (orelha de camundongo);
B: mastócitos em verde e vasos sanguíneos em vermelho;
C: mastócitos em verde e vasos linfáticos em azul.
Obs: orelhas de camundongos tratadas com PMA)

Abraham & John 2010. *NRI, vol. 10:* 440-452

✓Mastócitos

- tem vida longa, apesar de serem altamente diferenciados;
- tem capacidade de proliferação;
- são altamente heterogêneas e fenotipicamente maleáveis;
- os principais componentes dos grânulos são proteases (triptases e quimases);
- durante uma infecção, os mastócitos conseguem responder rapidamente degranulando e/ou produzindo citocinas;
- são também capazes de repor os grânulos durante ou após a resolução da infecção.

✓Mastócitos

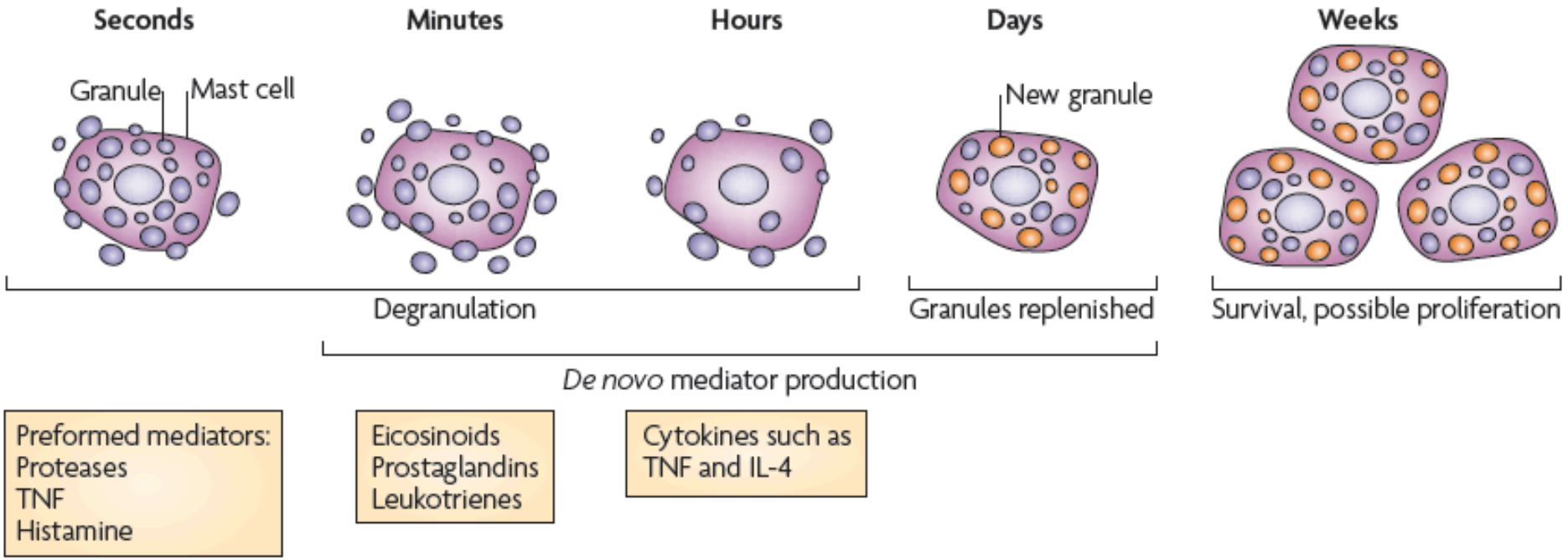
- expressam TLRs, receptores para porção Fc dos anticorpos, receptores para proteínas inflamatórias, receptores para complemento, etc.;

- podem sofrer degranulação quando:

1. em contato direto com os patógenos (através dos TLRs);
2. os receptores Fc ligam anticorpos (principalmente IgE e IgG); ou superantígenos (como proteína A de *S. aureus*);
3. em contato com substâncias patogênicas como veneno de vespa, abelha ou saliva de mosquitos.
4. em contato com diferentes peptídeos endógenos ou produtos liberados durante a reação inflamatória.

✓Mastócitos

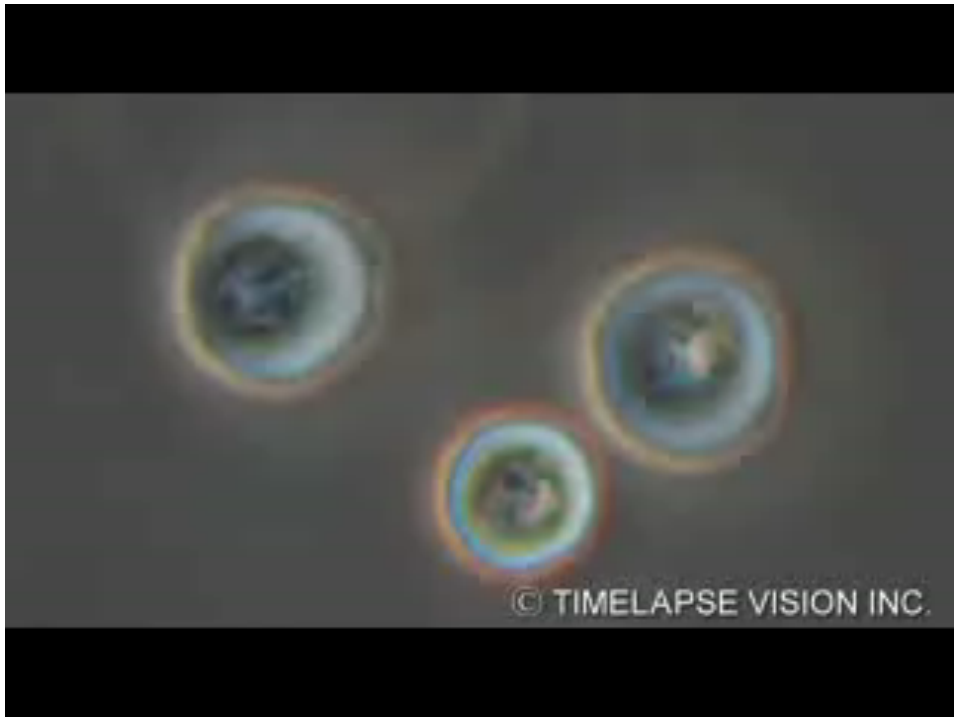
Tempo de resposta aos patógenos



Abraham & John 2010. *NRI, vol. 10:* 440-452

✓Mastócitos

Degranulação

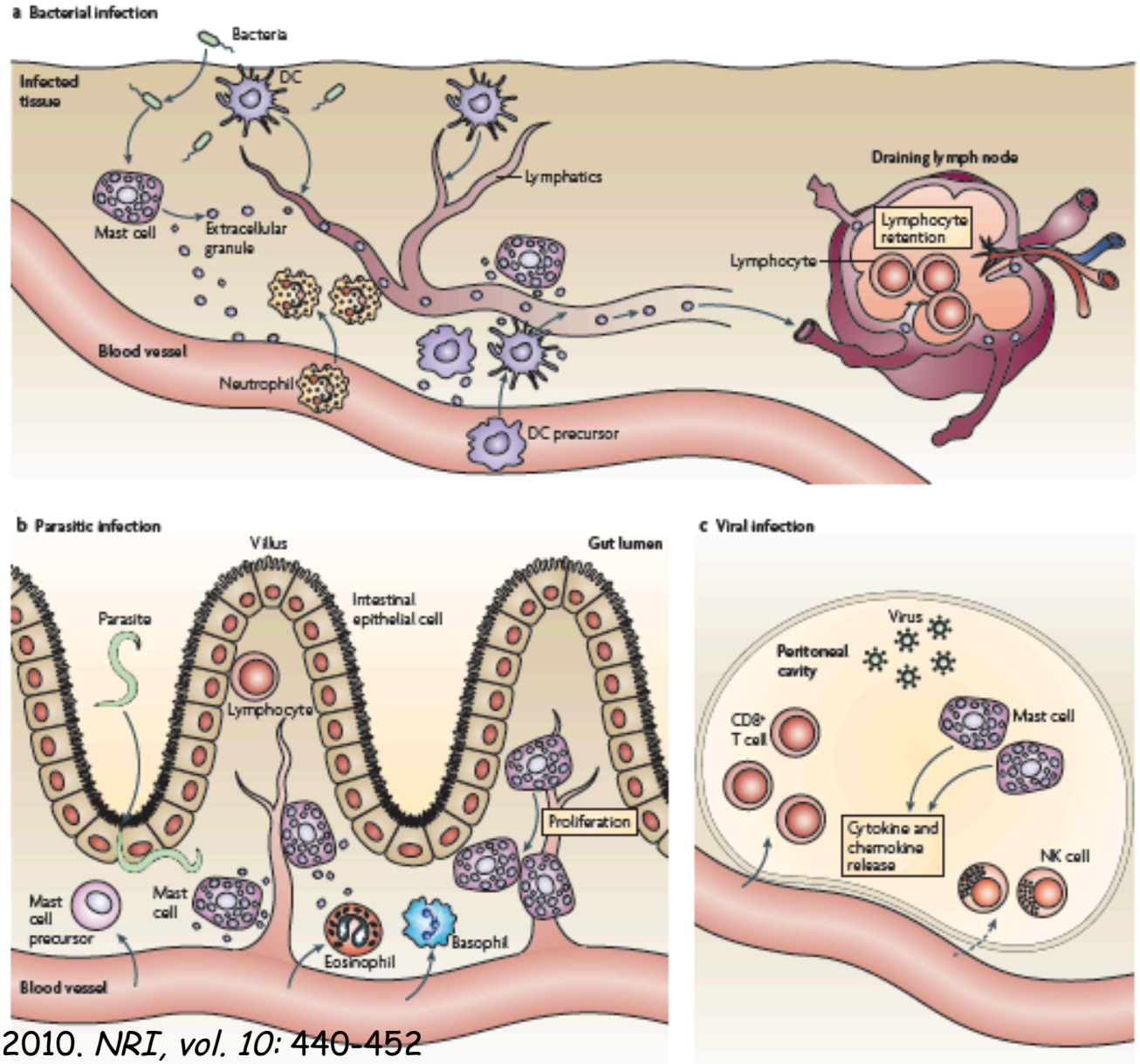


- os grânulos contém proteases (carregadas positivamente) associadas a carboidratos como heparina ou condroitin sulfato (carregados negativamente);

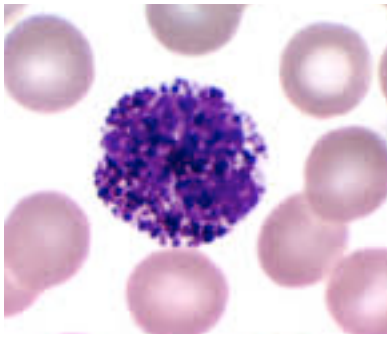
- liberam também citocinas (TNFα, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13) e eicosanóides (mediadores lipídicos como leucotrienos, por ex.).

- liberam também peptídeos com atividade antimicrobiana e espécies reativas de oxigênio.

Tráfego celular induzido ou aumentado pelos mediadores liberados por mastócitos



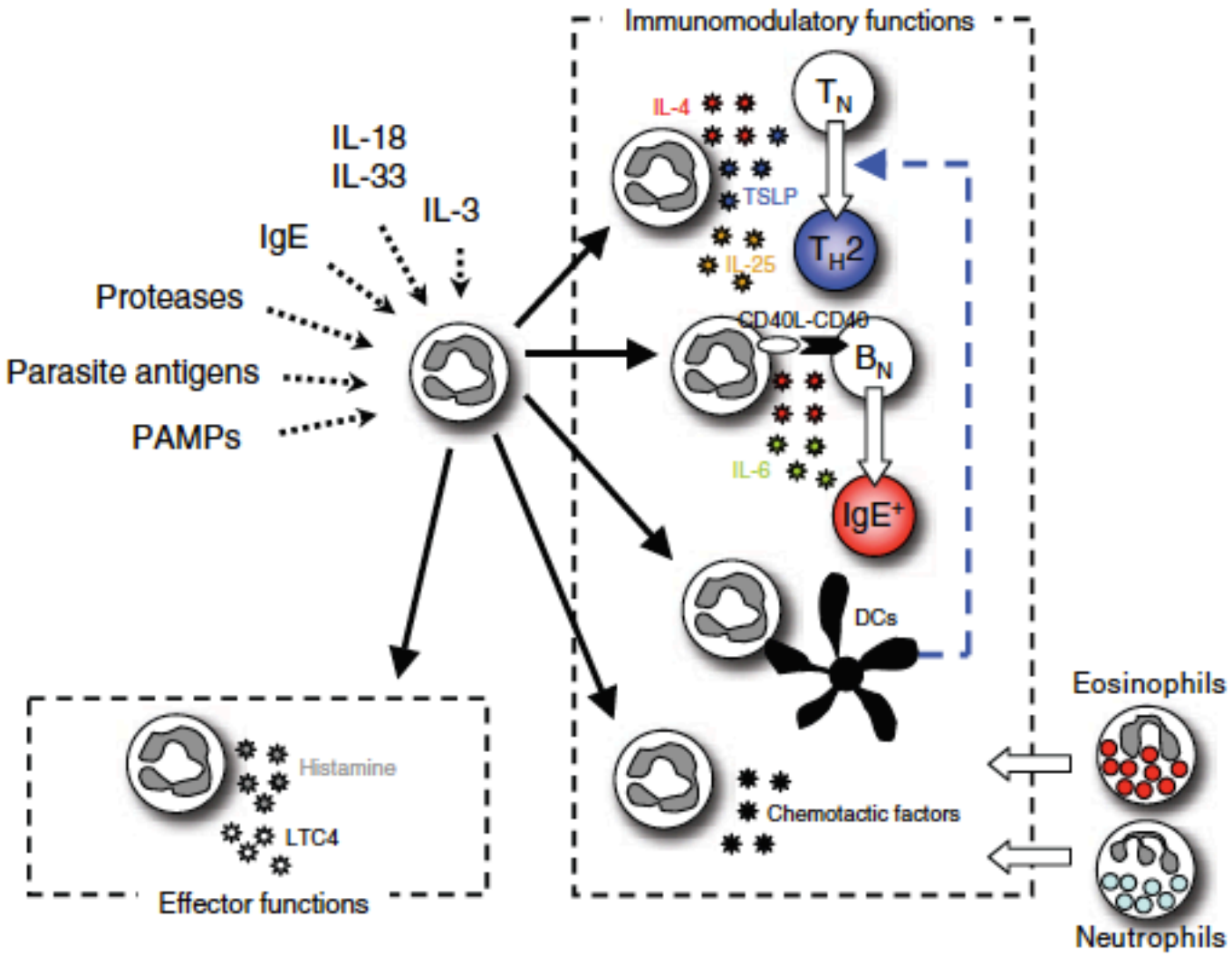
Abraham & John 2010. *NRI, vol. 10:* 440-452



✓ Basófilos

- deixam a medula óssea já totalmente maduros;
- tem vida curta (aproximadamente alguns dias);
- expressam receptor Fc para IgE;
- produzem citocinas (principalmente IL-4) e liberam histamina e mediadores lipídicos assim como os mastócitos;
- são células efetoras em resposta a infecções parasitárias e em casos de alergias. Além de terem importante papel na rejeição de carrapatos.

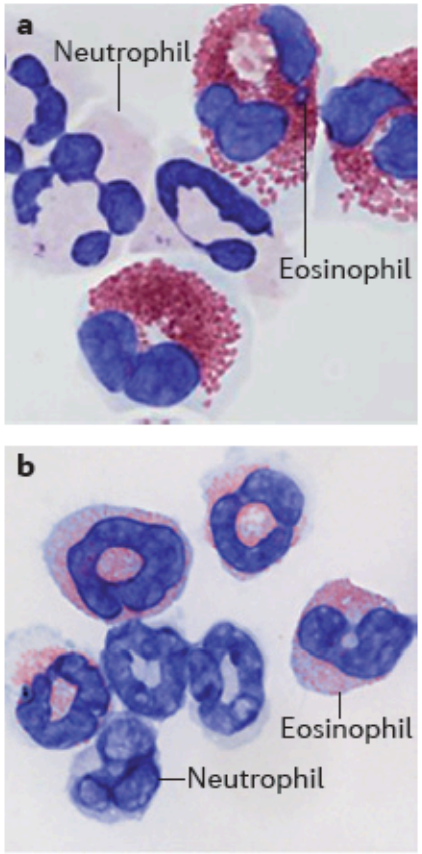
✓ Funções dos Basófilos



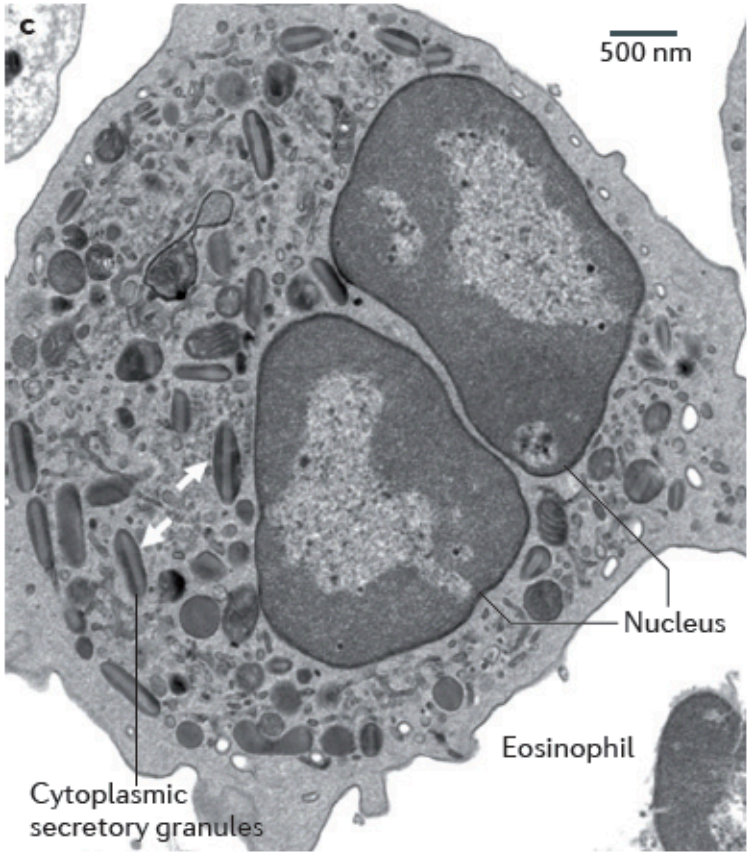
Min 2008. *Nat Immunol, vol. 9:* 1333-1339

✓ Eosinófilos

Humano



Camundongo



- possuem núcleo bilobado e grânulos específicos;

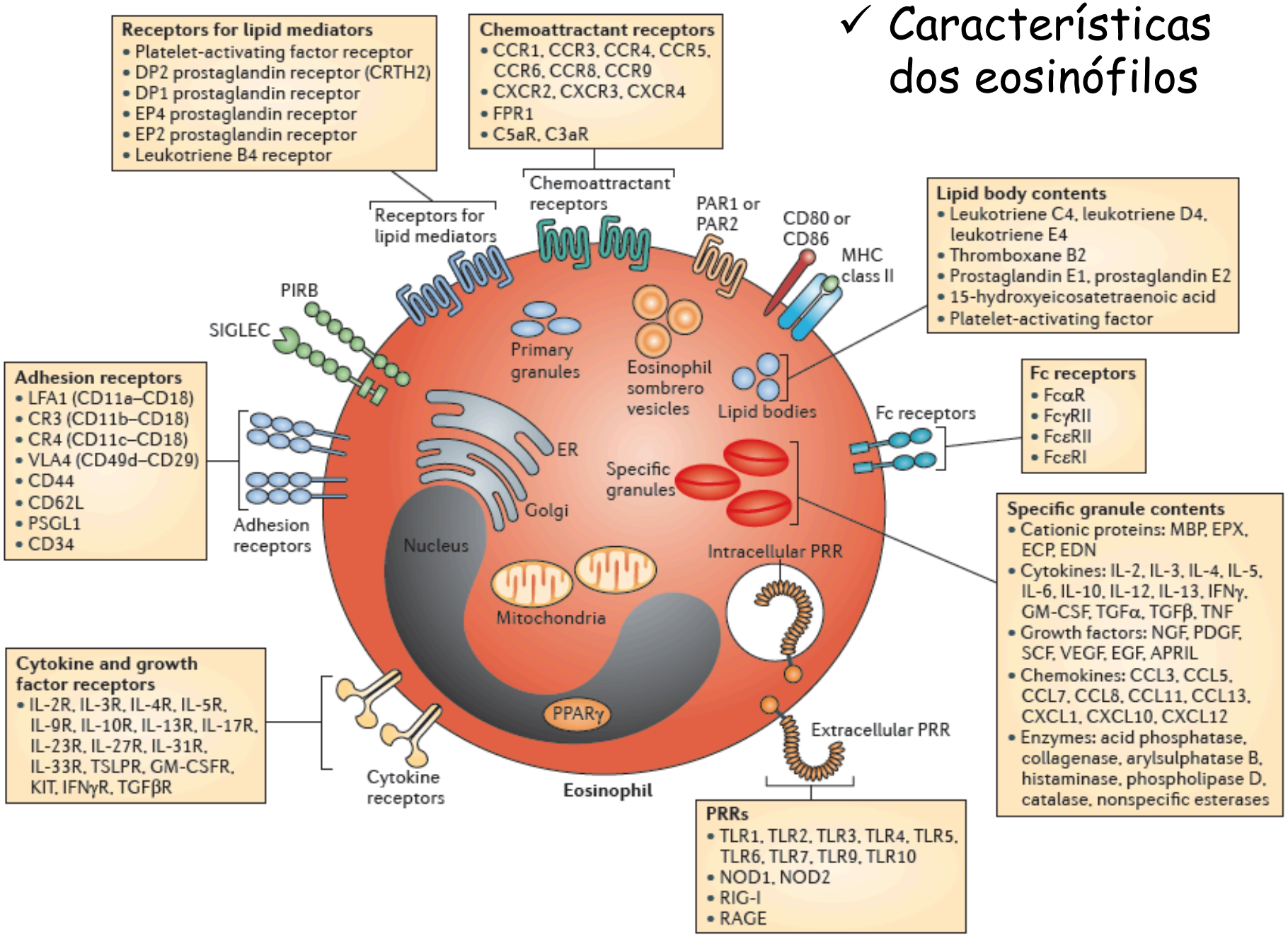
- os grânulos contém: peroxidase, major basic protein (MBP), ribonucleases eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil-derived neurotoxin (EDN). Também contém citocinas, enzimas e fatores de crescimento.

Rosenberg et al 2013. *NRI, vol. 13:* 9-22

✓ Eosinófilos

- deixam a medula óssea já totalmente maduros;
- tem vida curta na corrente sanguínea (aprox. 18hs);
- migram para o timo e o trato gastrintestinal;
- respondem principalmente a IL-5 e a quimiocina CCL-11 (conhecida como eotaxina);
- produzem citocinas, quimiocinas e outros fatores que ativam outras células do sistema imune;
- são células efetoras em resposta a infecções parasitárias, bacterianas e virais.

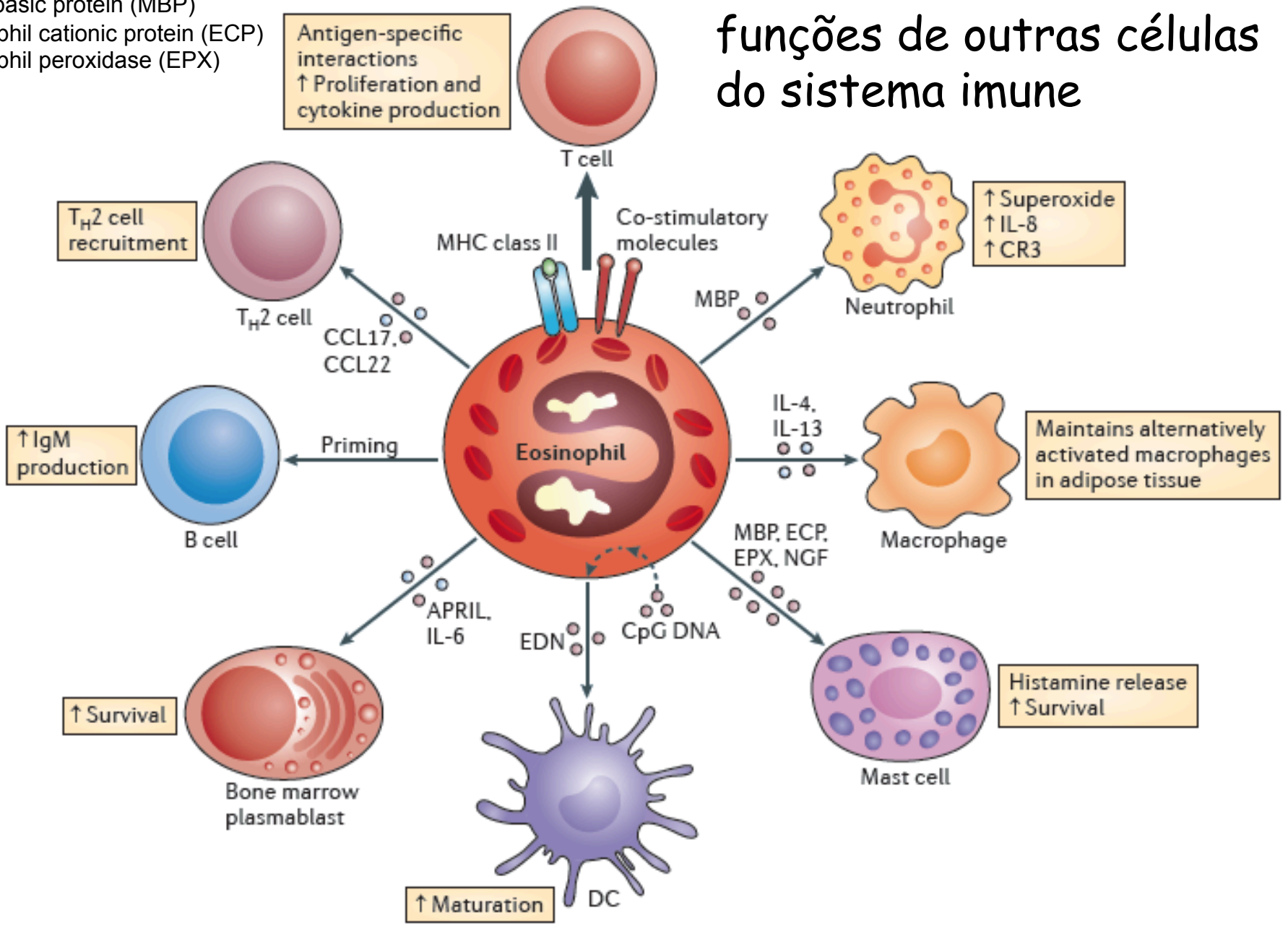
✓ Características dos eosinófilos



Rosenberg et al 2013. *NRI, vol. 13:* 9-22

proliferation-inducing ligand (APRIL)
eosinophil-derived neurotoxin (EDN)
major basic protein (MBP)
eosinophil cationic protein (ECP)
eosinophil peroxidase (EPX)

✓ Eosinófilos modulam as funções de outras células do sistema imune



Rosenberg et al 2013. *NRI, vol. 13:* 9-22

Fatores Solúveis

- ✓ Citocinas e quimiocinas

- ✓Sistema Complemento (consiste de várias proteínas plasmáticas que são ativadas por patógenos e levam a destruição dos mesmos e a inflamação)
  - via clássica (mediada por anticorpos)
  - via da lectina (ativada por proteínas da família da MBL)
  - via alternativa (ativada pelo reconhecimento direto do patógeno)

- ✓ Proteínas de fase aguda
  - lectina ligadora de manose (MBL)
  - proteína C reativa (CRP)
  - fibrinogênio
  - fatores da coagulação

✓ Sistema Complemento

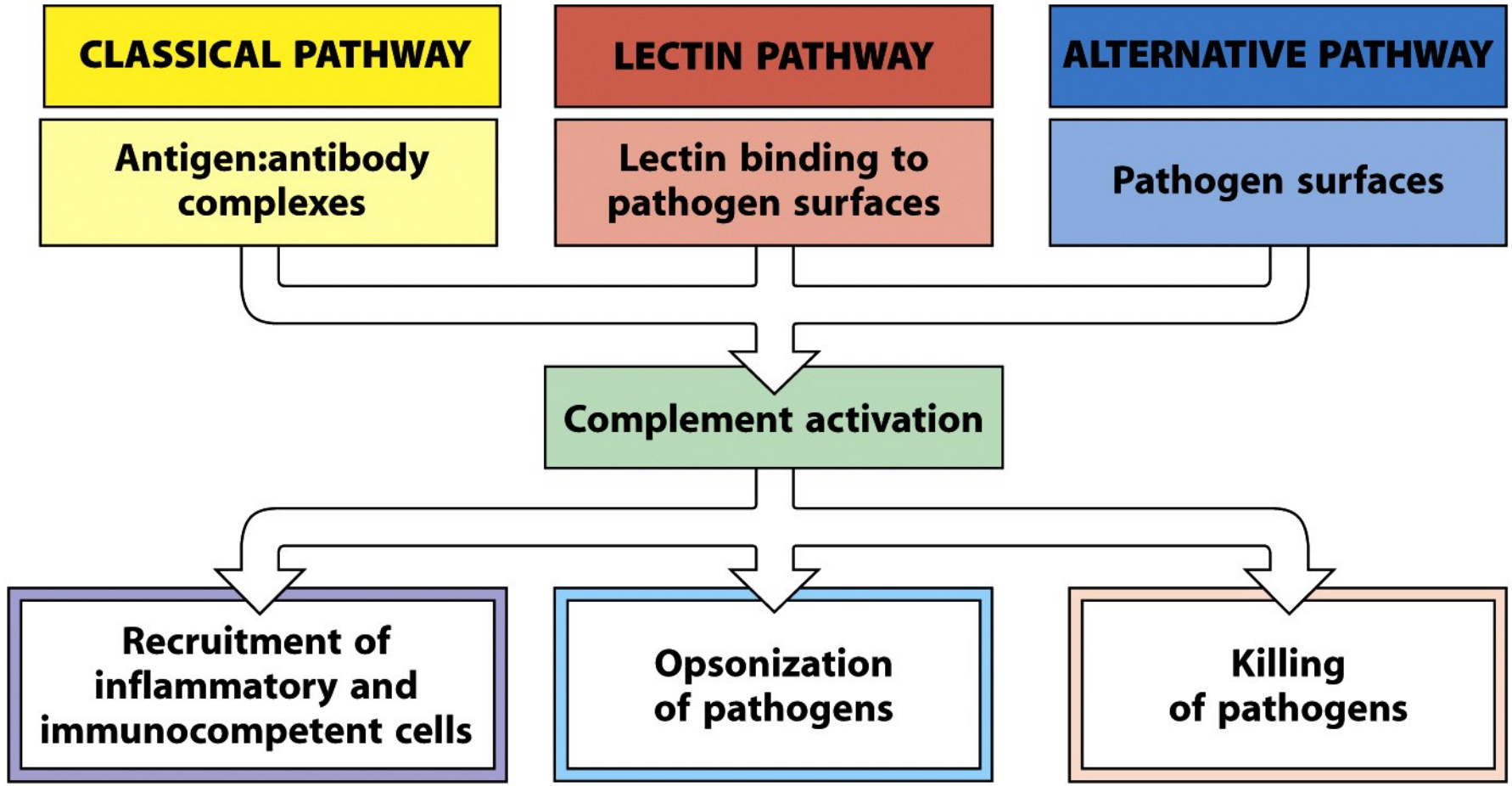


Figure 2-24 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

✓ Sistema Complemento

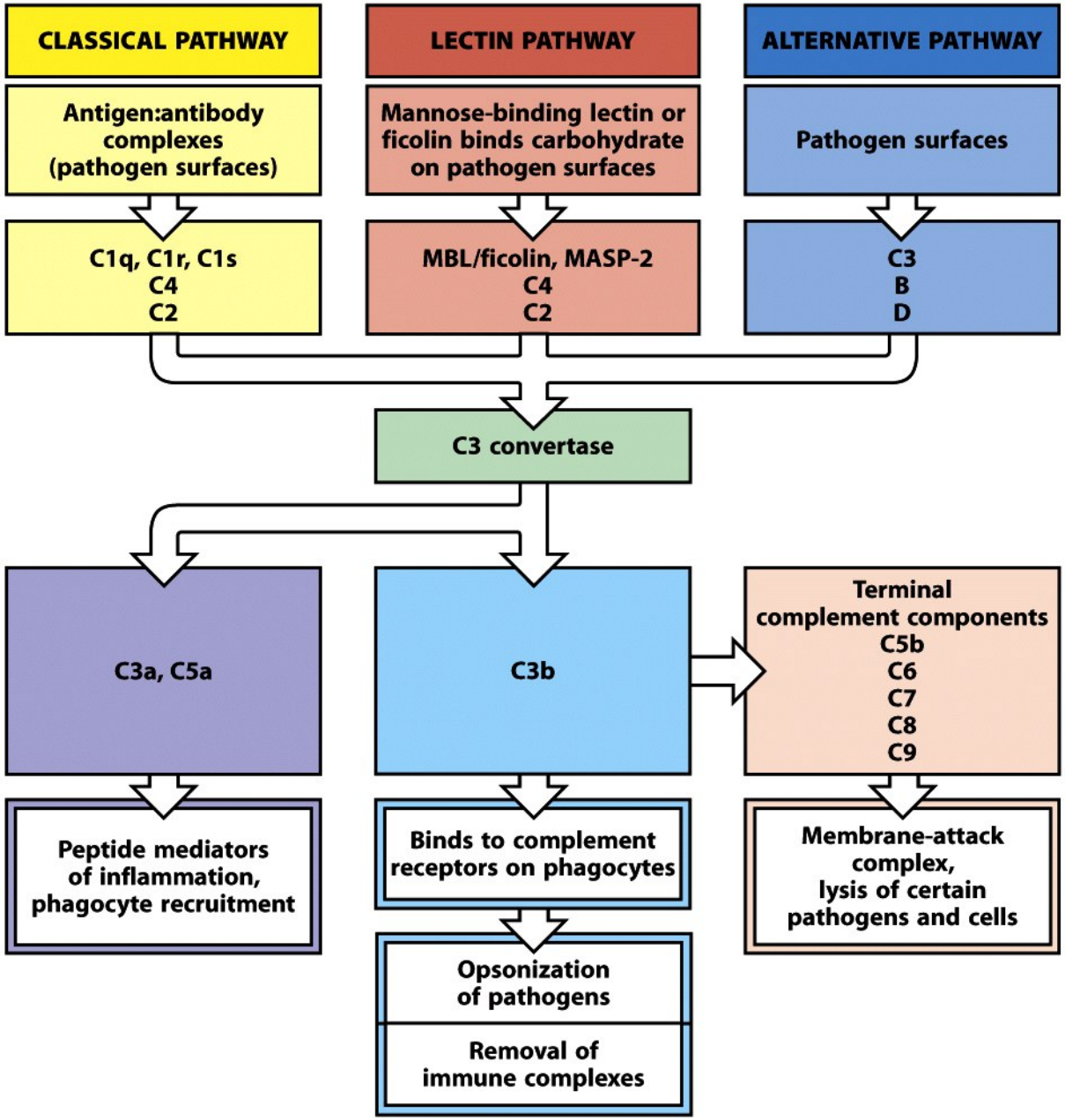
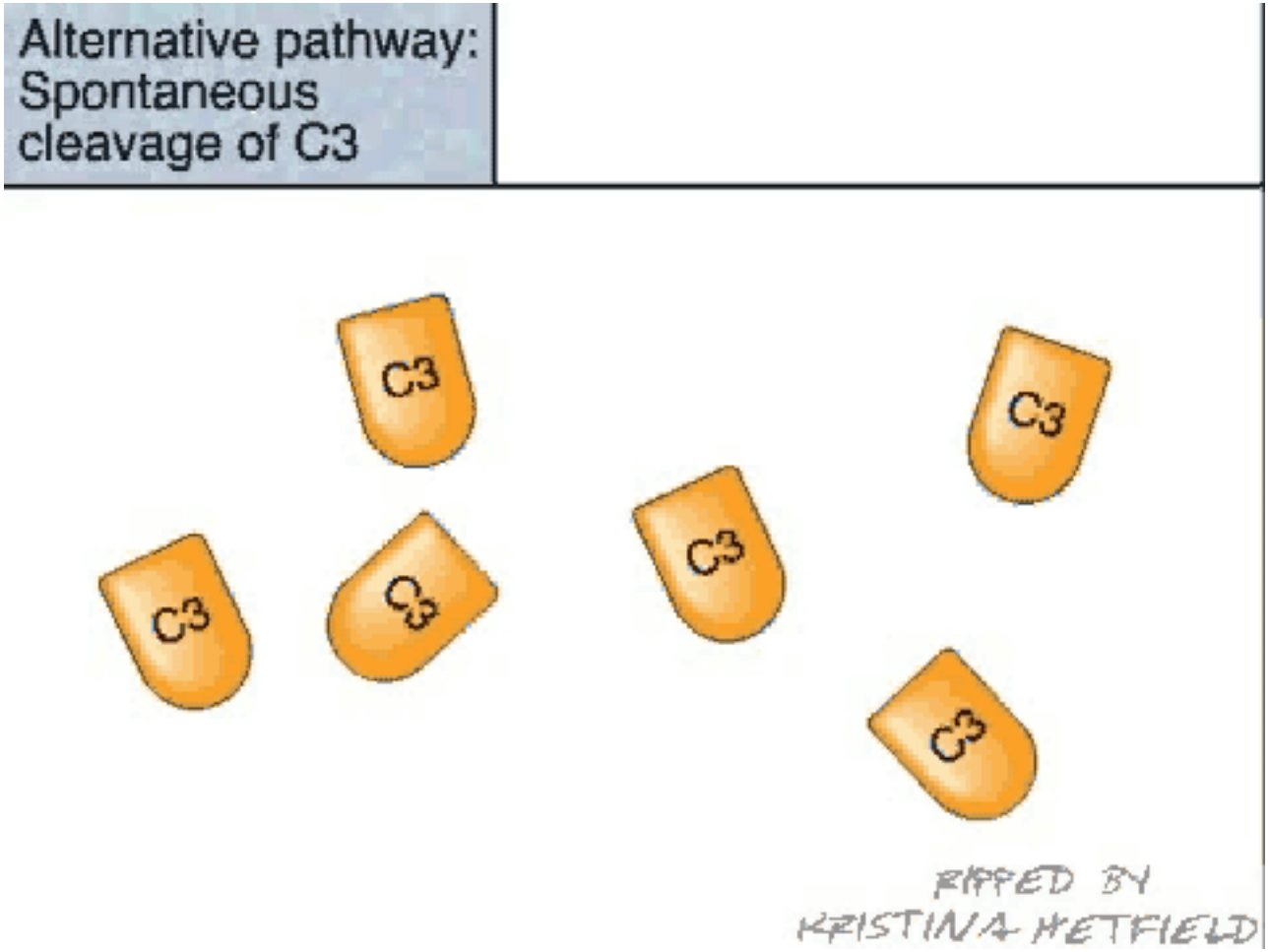


Figure 2-25 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Sistema Complemento
Vias Clássica e de Lectinas

Sistema Complemento
Via Alternativa



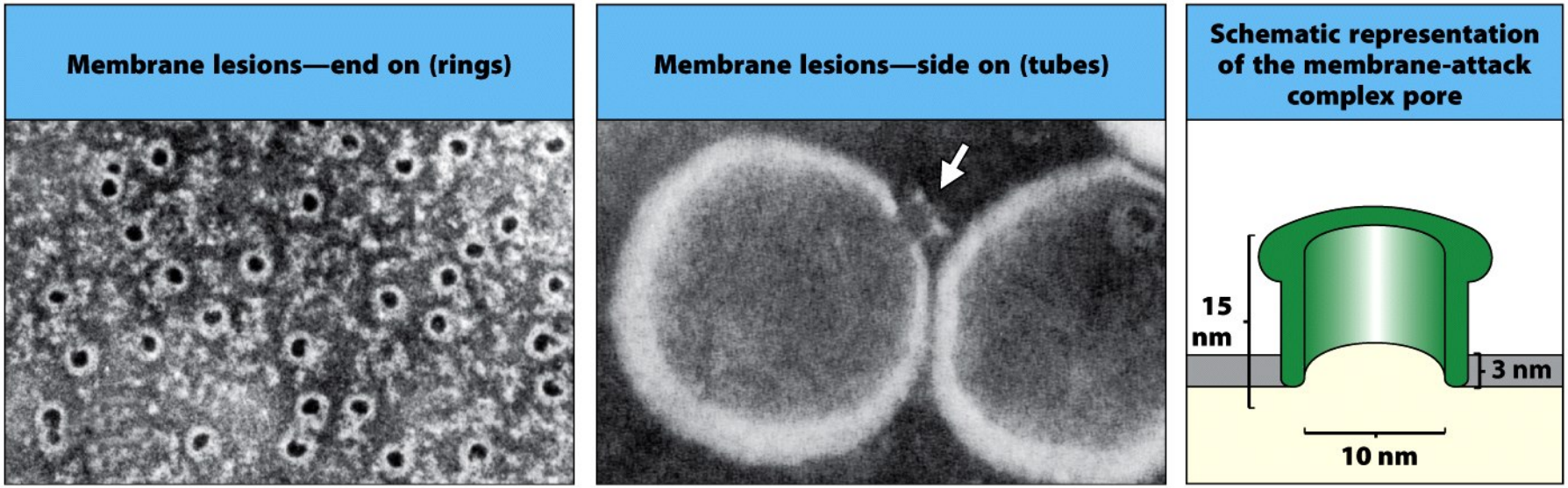


Figure 2-41 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Fatores Solúveis

✓ Proteínas de fase aguda

• são produzidas pelos hepatócitos em resposta a IL-1b e IL-6.

- lectina ligadora de manose (MBL)
  - proteína plasmática que funciona como opsonina
  - liga manose e fucose presentes na superfície de patógenos
  - estruturalmente semelhante ao C1q do sistema complemento
  - liga-se ao receptor de C1q em macrófagos (medeia fagocitose)
  - ativa o sistema complemento

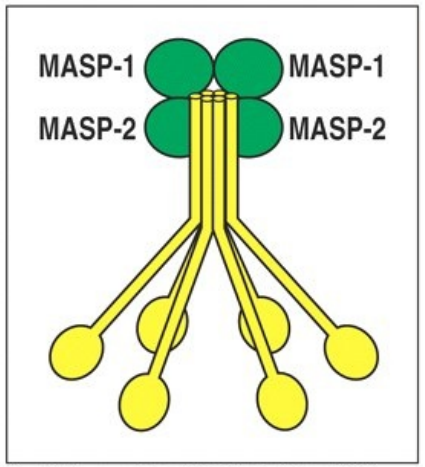


Figure 2-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

- ficolinas (L-, M- e H-)
  - proteínas plasmáticas que ativam complemento
  - ligam-se a oligasacarídeos contendo N-acetil glucosamina
  - concentração plasmática maior que da MBL

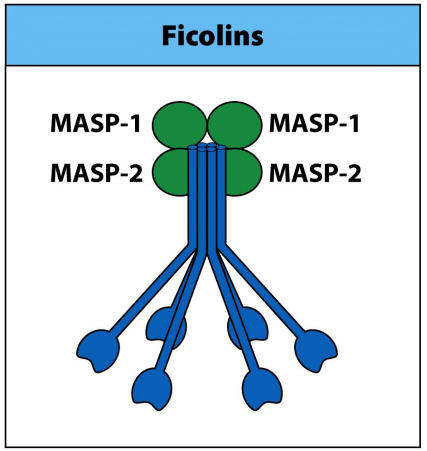
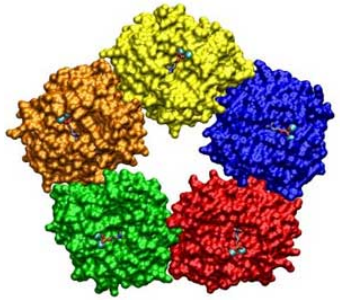


Figure 2-30 part 3 of 3 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Fatores Solúveis

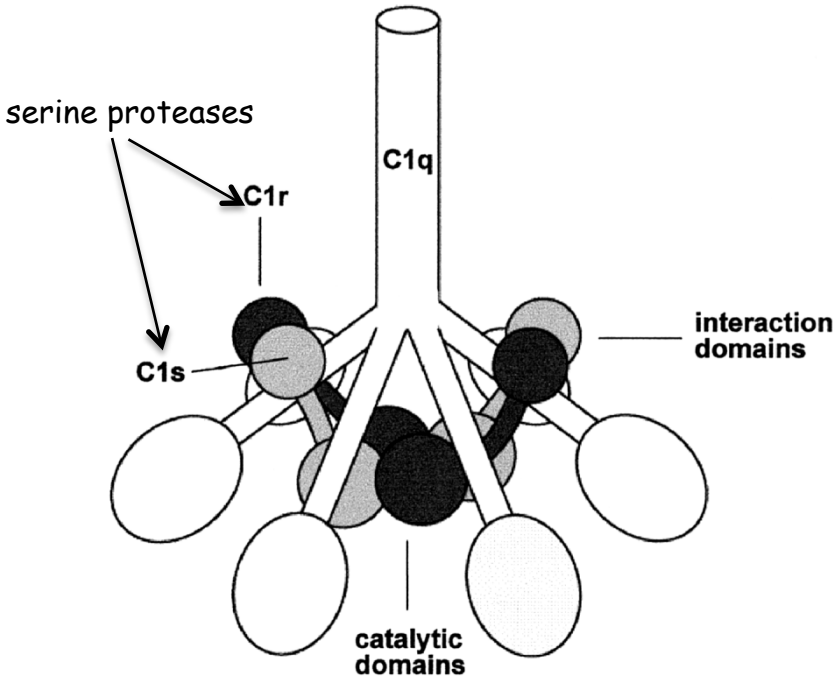
✓ Proteínas de fase aguda

- proteína C reativa (CRP)
  - liga-se a cápsula de bactérias
  - proteína plasmática contendo 5 subunidades globulares
  - liga-se a lipopolissacarídeos bacterianos
  - liga-se a C1q ou a receptores Fcγ



- fatores da coagulação
  - são proteínas que funcionam prevenindo hemorragia
  - servem para bloquear a entrada de patógenos

C1q



MBL

Mannose binding lectin associated serine proteases →

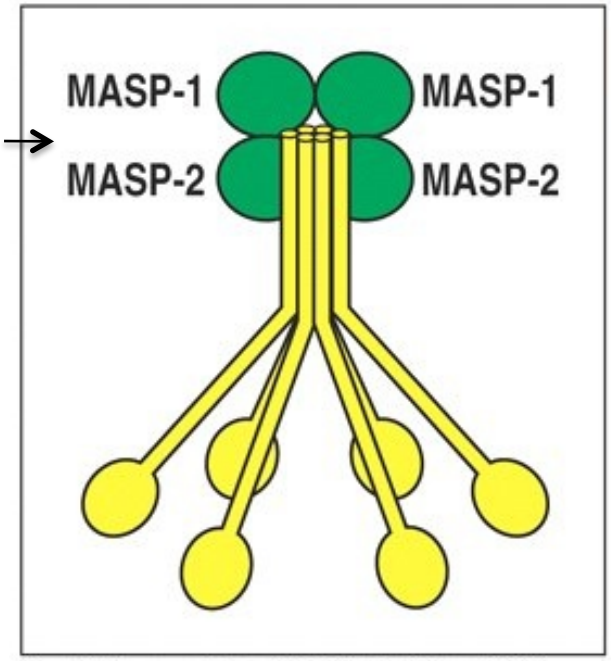
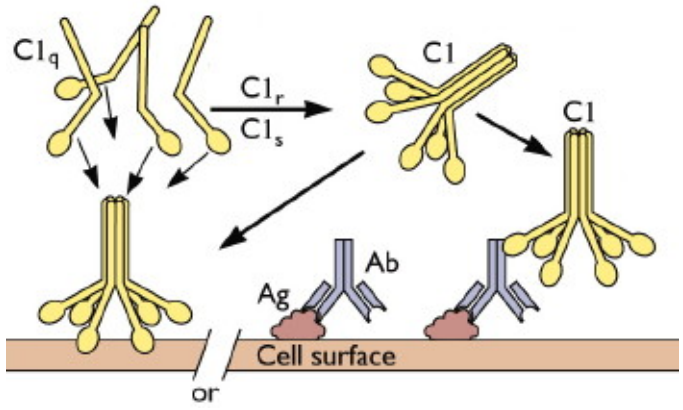
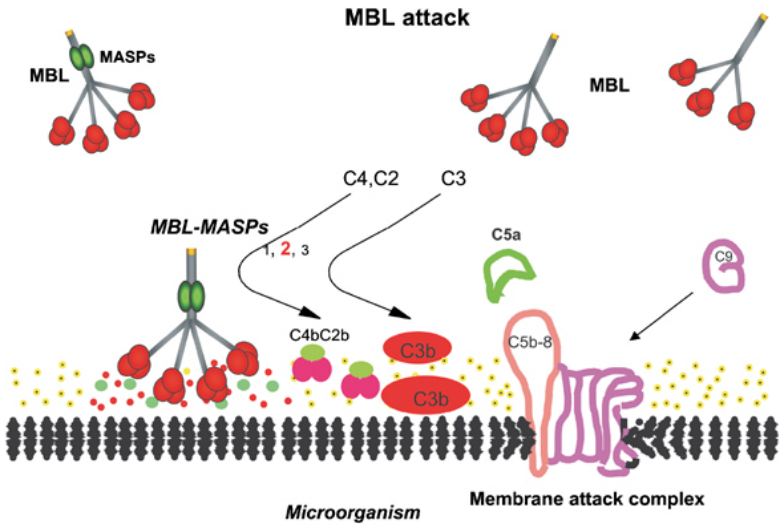


Figure 2-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)





Proteínas reguladoras do complemento protegem as células sadias do ataque pelas diferentes vias do complemento.

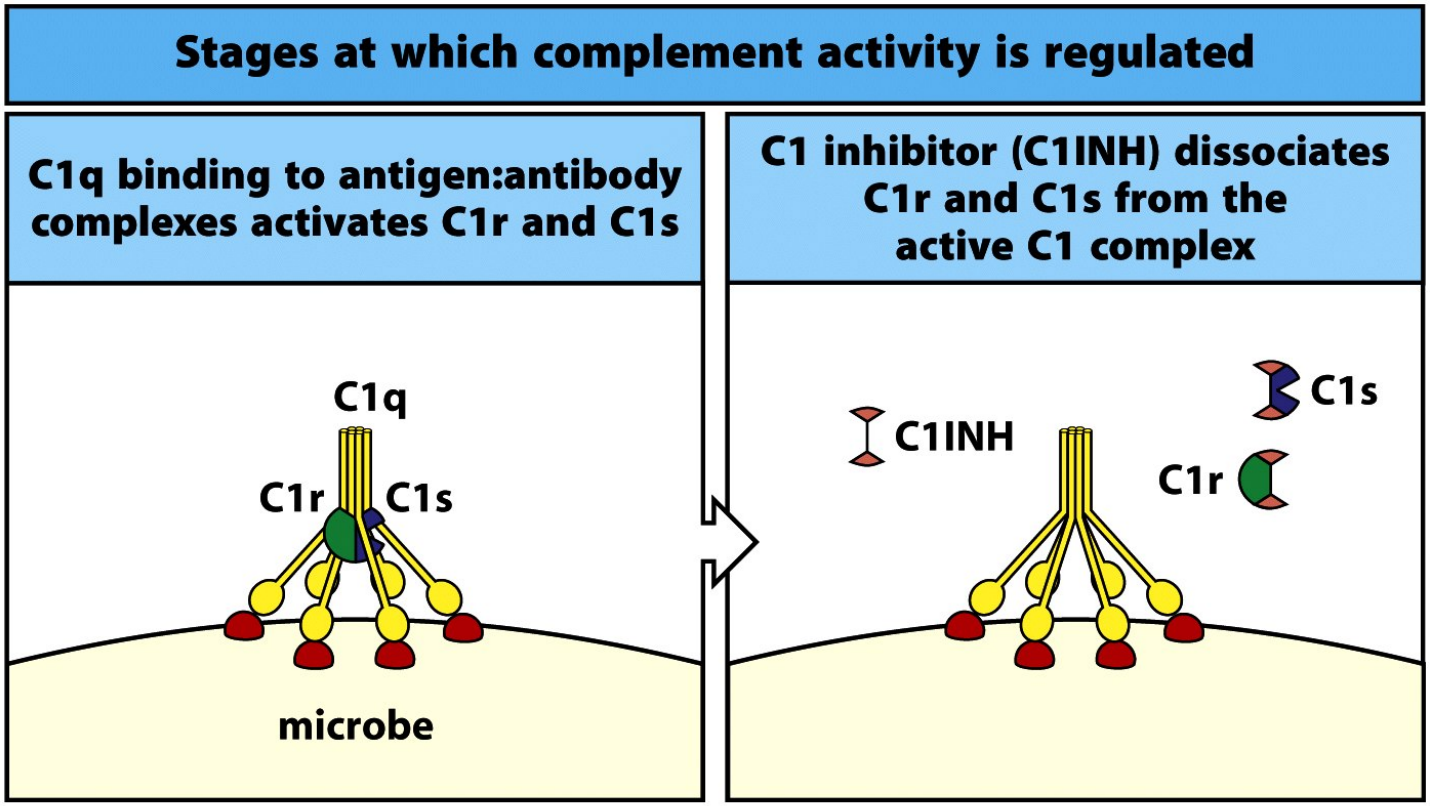


Figure 2-43 part 1 of 4 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Proteínas reguladoras do complemento protegem as células sadias do ataque pelas diferentes vias do complemento.

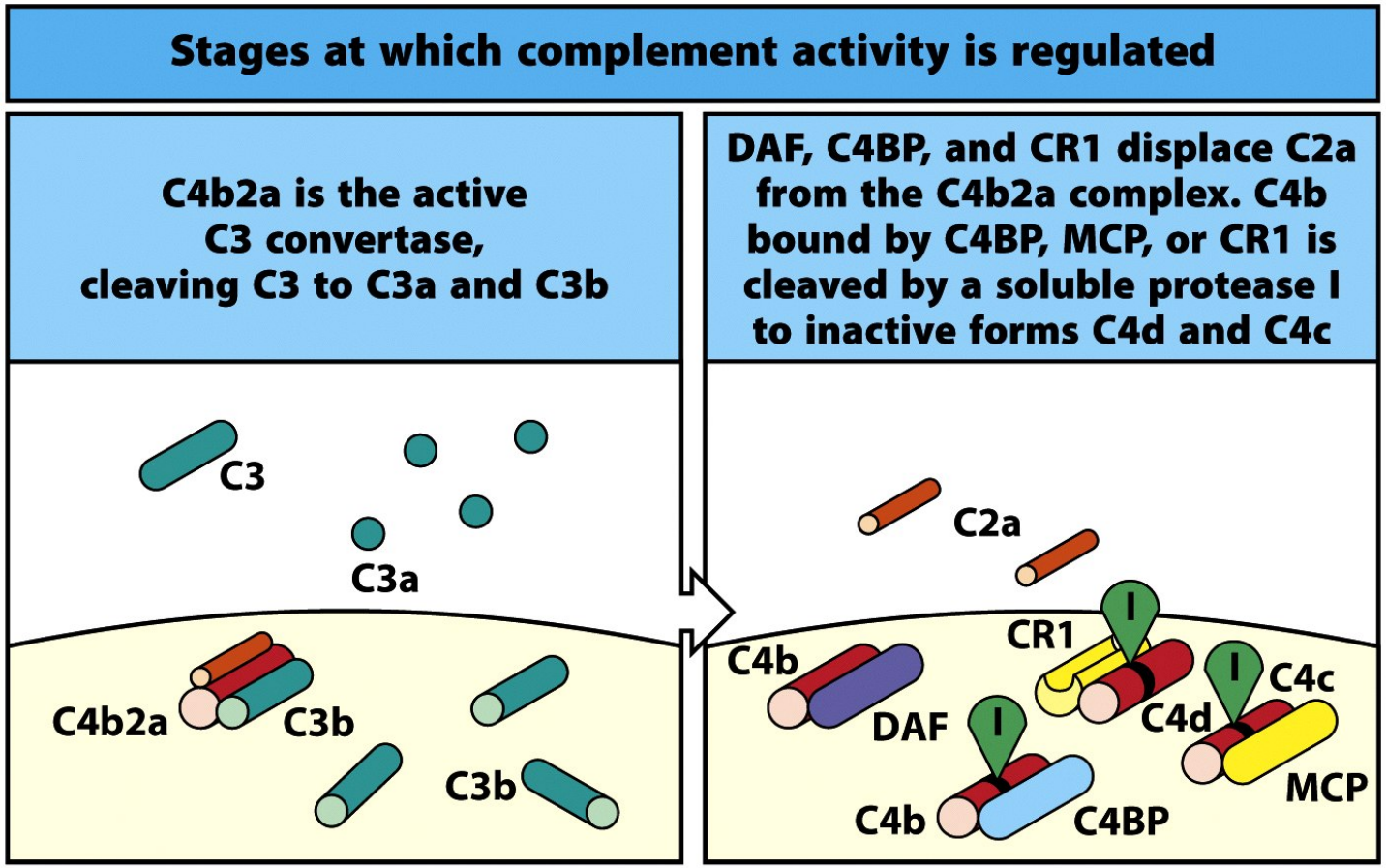


Figure 2-43 part 2 of 4 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

DAF/CD55: fator de aceleração do decaimento – compete com o fator B

MCP/CD46: cofator de proteólise de membrana – inativa C3b

CR1: receptor tipo 1 do complemento – função semelhante a DAF e MCP

Proteínas reguladoras do complemento protegem as células sadias do ataque pelas diferentes vias do complemento.

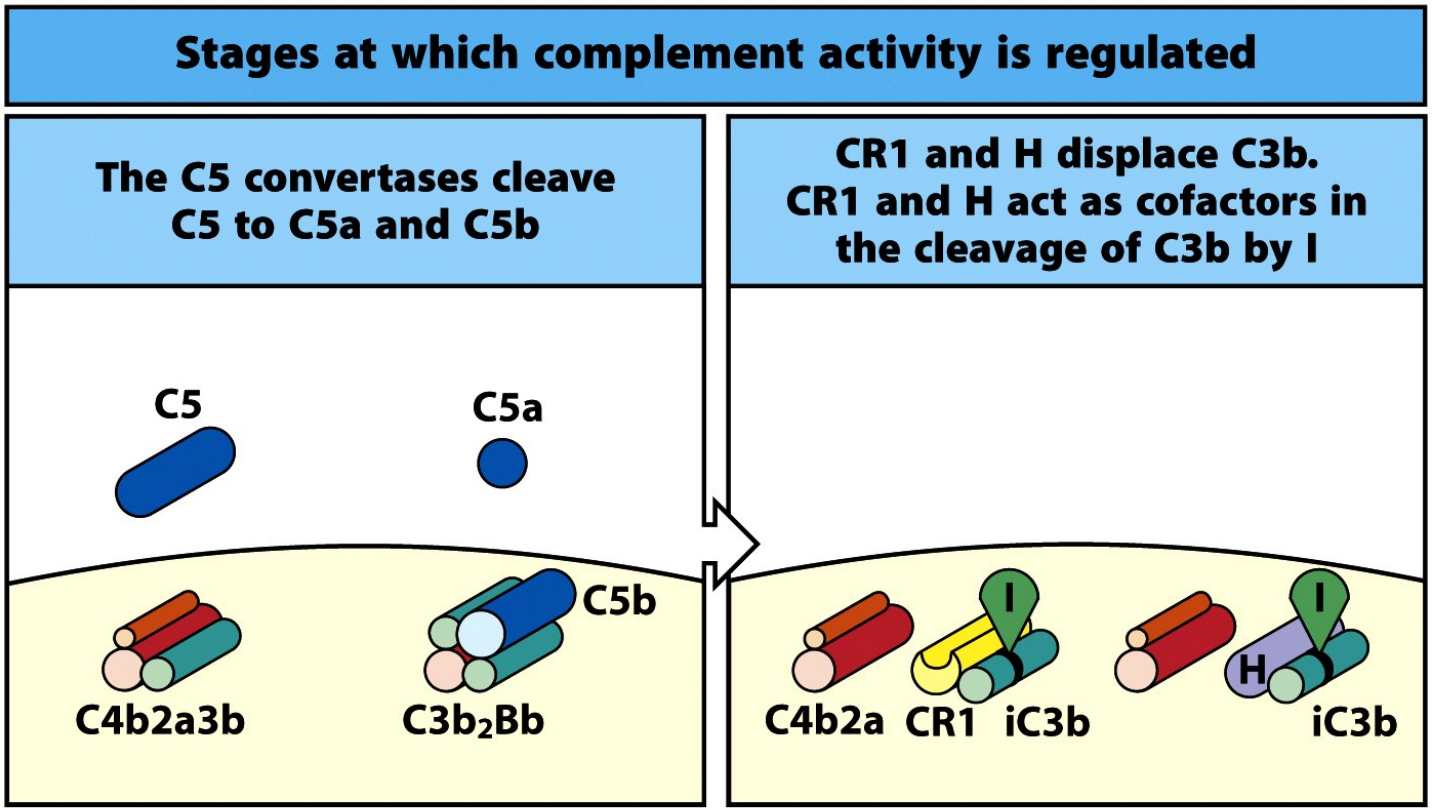


Figure 2-43 part 3 of 4 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Proteínas reguladoras do complemento protegem as células sadias do ataque pelas diferentes vias do complemento.

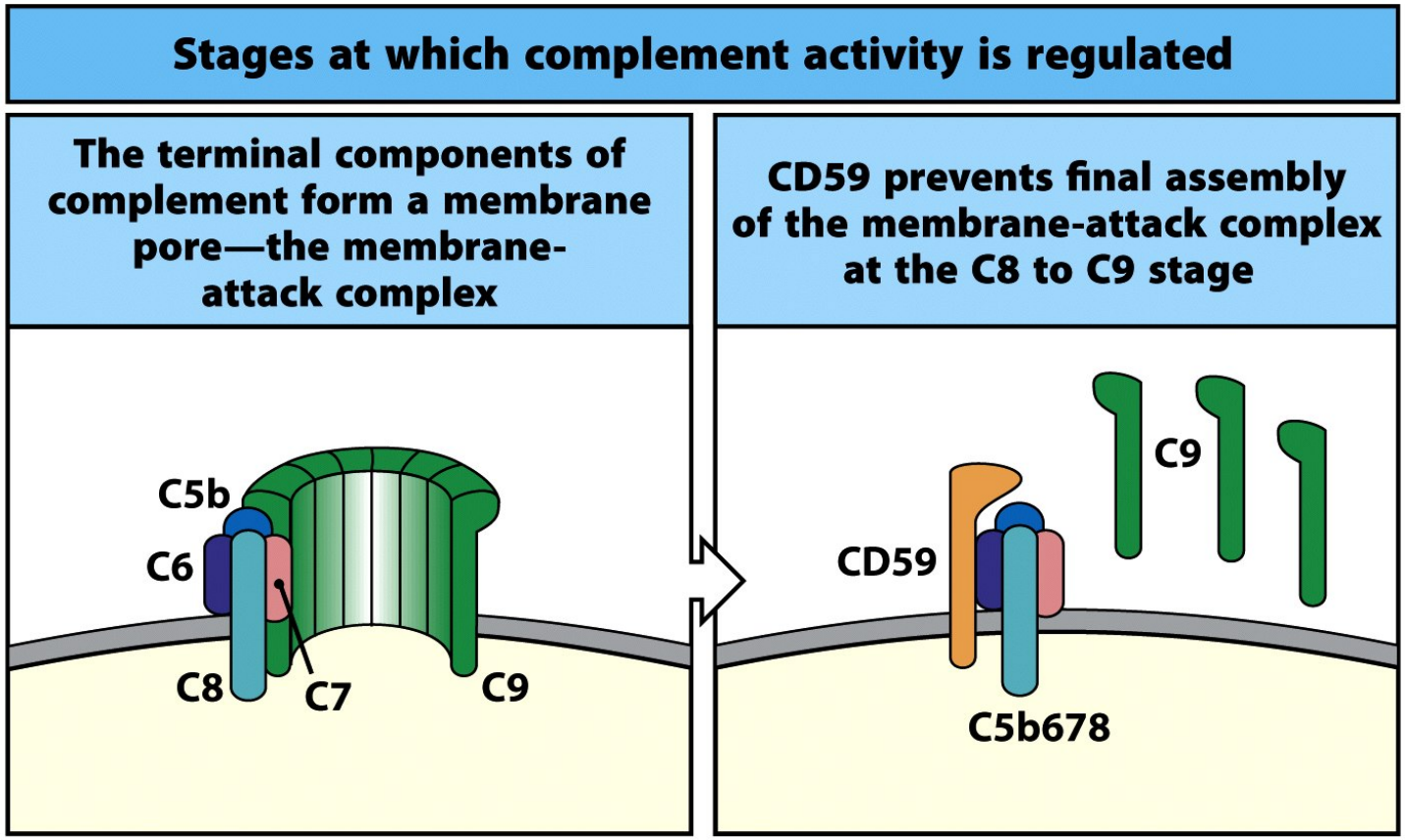


Figure 2-43 part 4 of 4 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

A ação mais importante do complemento é facilitar a captação e a destruição dos patógenos pelas células fagocíticas.

Receptor	Specificity	Functions	Cell types
CR1 (CD35)	C3b, C4bi C3b	Promotes C3b and C4b decay Stimulates phagocytosis Erythrocyte transport of immune complexes	Erythrocytes, macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, B cells, FDC
CR2 (CD21)	C3d, iC3b, C3dg Epstein–Barr virus	Part of B-cell co-receptor Epstein–Barr virus receptor	B cells, FDC
CR3 (Mac-1) (CD11b/ CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis	Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, FDC
CR4 (gp150, 95) (CD11c/ CD18)	iC3b	Stimulates phagocytosis	Macrophages, monocytes, polymorphonuclear leukocytes, dendritic cells
C5a receptor	C5a	Binding of C5a activates G protein	Endothelial cells, mast cells, phagocytes
C3a receptor	C3a	Binding of C3a activates G protein	Endothelial cells, mast cells, phagocytes

Figure 2-37 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Resposta inflamatórias locais podem ser induzidas por fragmentos pequenos do complemento, especialmente pelo C5a.

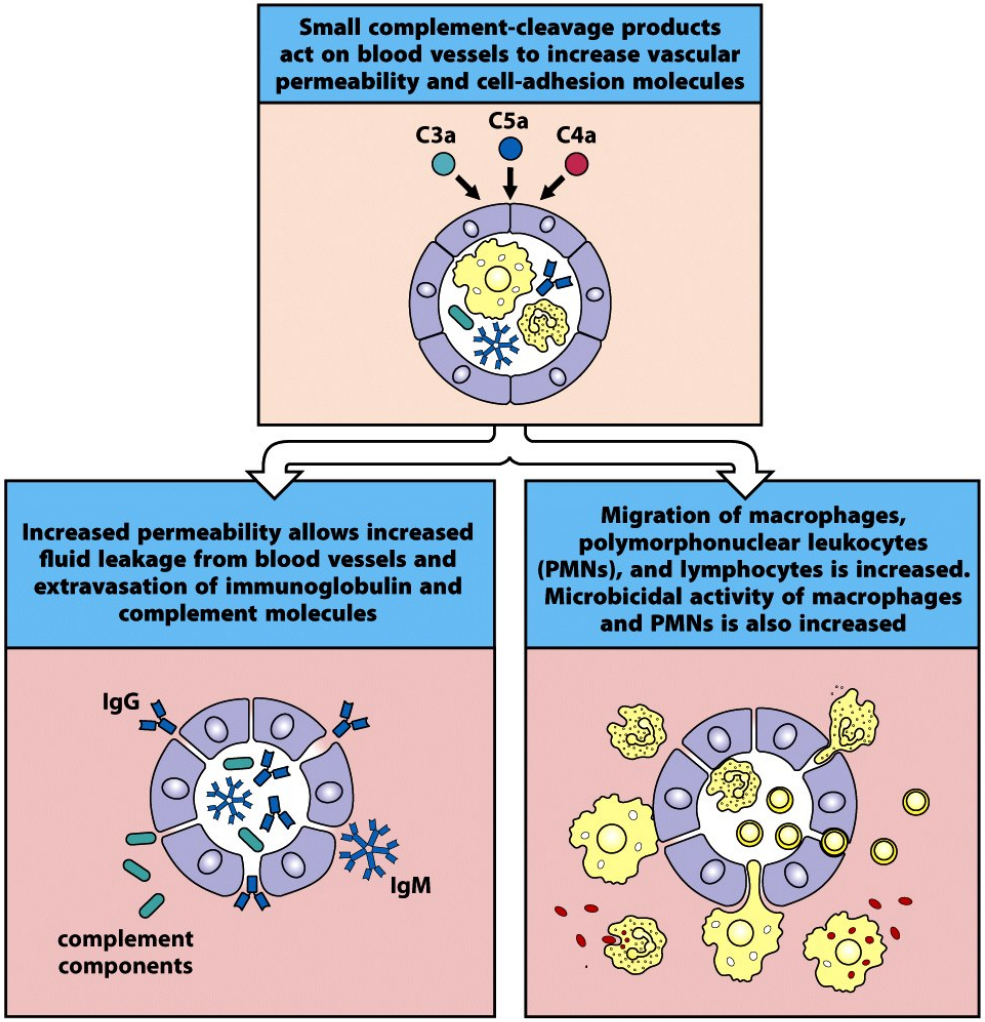
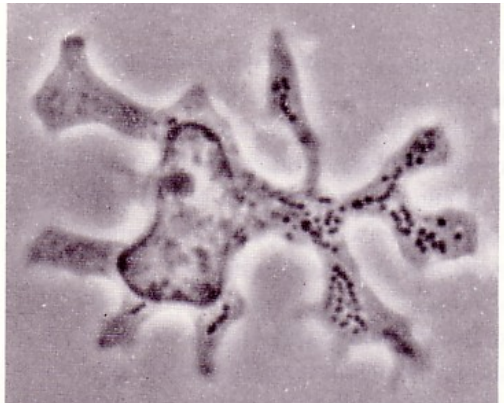


Figure 2-39 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Controle inato da resposta imune adaptativa.

Células Dendríticas

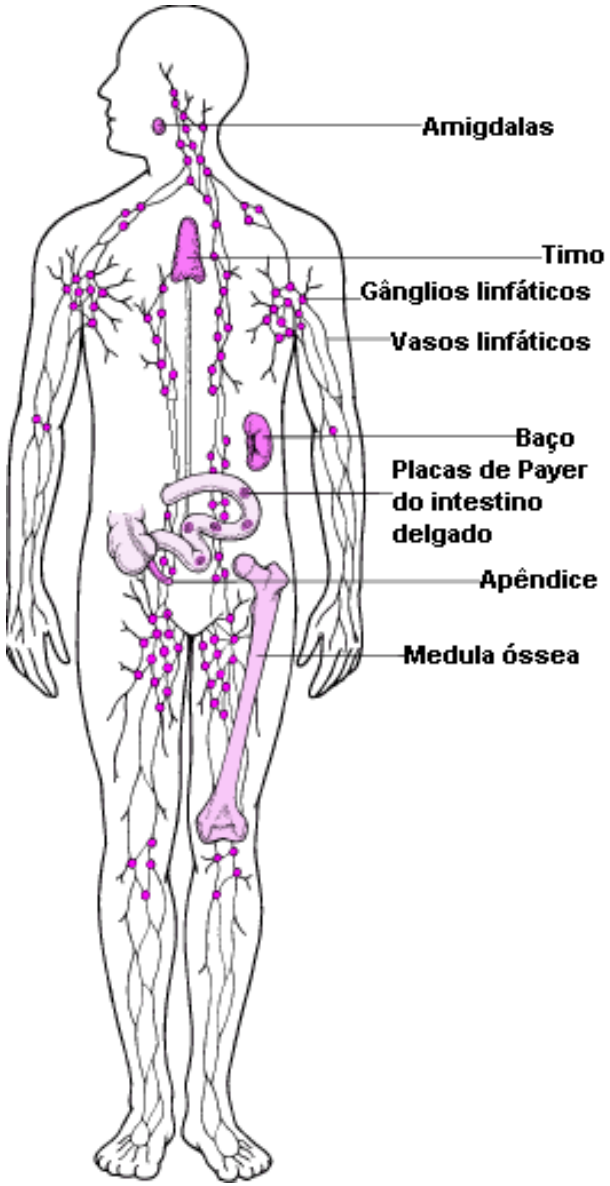


- São células de origem hematopoética especializadas em:
  a. captura
  b. processamento
  c. apresentação de antígenos para células T.

- Também são capazes de modular a resposta de células B e NK.

- São importantes mediadores de tanto de imunidade quanto de tolerância.

Localização privilegiada faz com que as células dendríticas possam capturar antígenos de forma eficiente.



- Pele: Células de Langerhans e DCs dermais
- Mucosas:
  - ✓ Intestino: lâmina própria e placas de Payer
  - ✓ Trato respiratório
- Sangue
- Fígado
- Rim
- Órgãos linfóides:
  - ✓ Baço
  - ✓ Linfonodos

IDENTIFICATION OF A NOVEL CELL TYPE IN PERIPHERAL LYMPHOID ORGANS OF MICE

I. Morphology, Quantitation, Tissue Distribution*

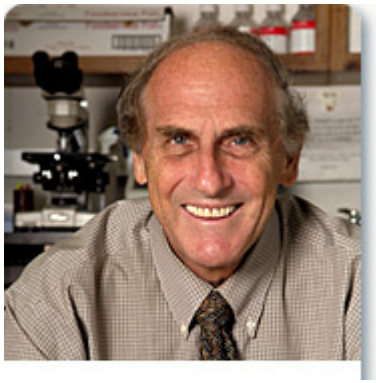
By RALPH M. STEINMAN‡ and ZANVIL A. COHN

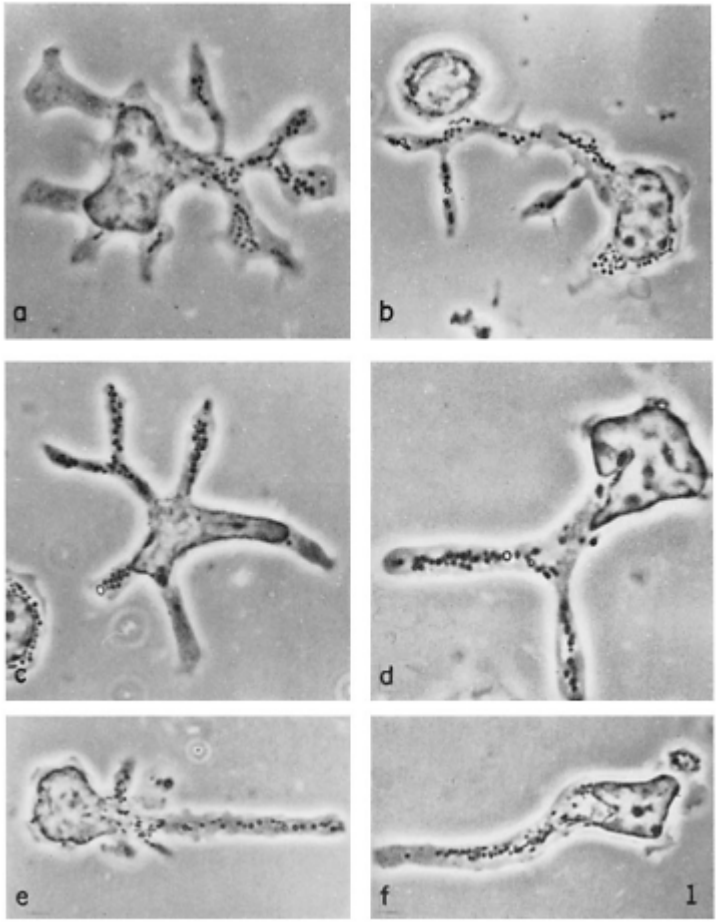
(*From The Rockefeller University, New York 10021*)

(Received for publication 19 January 1973)

During the course of observations on the cells of mouse spleen that adhere to glass and plastic surfaces, it was clear that this population was quite heterogeneous. In addition to mononuclear phagocytes, granulocytes, and lymphocytes, we noticed a large stellate cell with distinct properties from the former cell types. In this paper, we describe the morphology, quantitation, and tissue distribution of this novel cell as identified in vitro. In following papers, we will further characterize it with respect to its functional properties in vitro, as well as its localization and properties *in situ*.







a-d: baço
e: linfonodo
f: placas de Peyer

Algumas moléculas presentes nas DCs.

Outros Marcadores

CD11c
CD11b
PDCA-1
CD8
CD4
B220 (CD45R)
MHC II
CD80 (B7.1)
CD86 (B7.2)
CD19
CD103



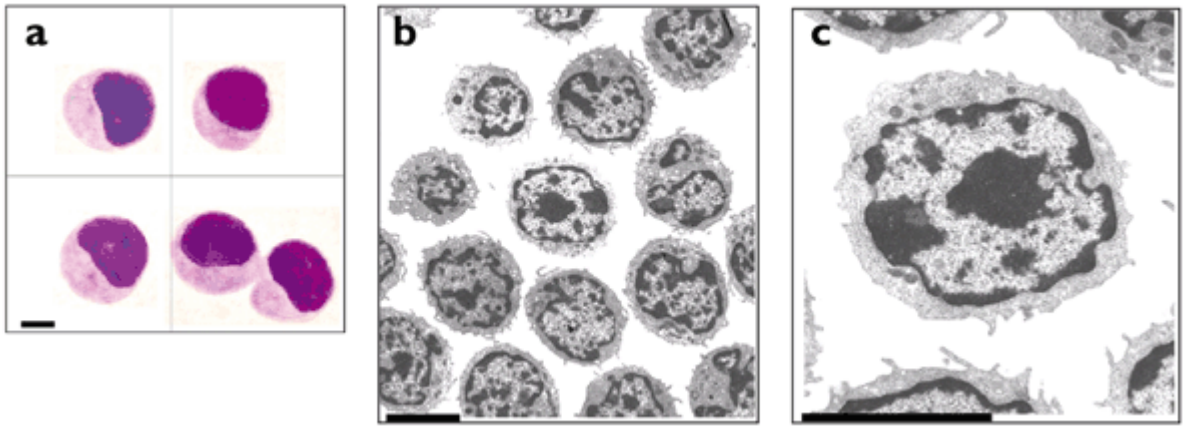
Receptores

Langerin (CD207)
Asialoglycoprotein Receptor
BDCA-2 (CD303)
Dectin-1
DC-SIGN (CD209)
DCIR2
MMR (CD206)
DEC-205 (CD205)
CD36
LOX-1
FcγR (activating and inhibitory)
FcεR
Receptores para células mortas
TLRs
NLRs
RIG-I/MDA5/RAI

As células dendríticas podem ser divididas em várias sub-populações.

- ***Células pré-dendríticas (pré-DCs):*** não possuem forma ou função de DC, mas tem a capacidade de se transformarem em DCs com pouca ou nenhuma divisão.

- **Ex: DCs plasmacitóides (pDC) ou monócitos.**



➢ ***DCs convencionais (cDCs): tem forma e função de DCs.***

✓*DCs migratórias*:

❖São as DCs clássicas de livros-textos

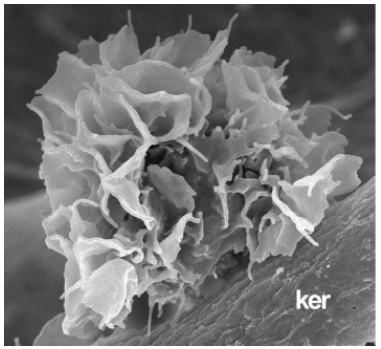
❖Agem como sentinelas nos tecidos periféricos

❖Migram para os linfonodos através do sistema linfático, levando antígenos da periferia

❖Apresentam estes antígenos para células T nos linfonodos

❖**Ex: células de Langerhans e células dendríticas dermais.**

Célula de Langerhans



➢ ***DCs convencionais (cDCs): tem forma e função de DCs.***

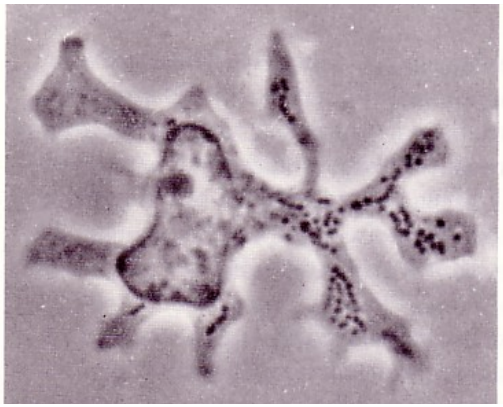
✓ *DCs residentes nos tecidos linfóides*:

❖ Não migram através dos sistema linfático e estão restritas a um só órgão linfóide.

❖ Adquirem e apresentam antígenos próprios e exógenos no órgão linfóide.

❖ Podem ser ainda divididas em subtipos especializados: $CD4^+CD8^-$, $CD4^-CD8^-$ e $CD4^-CD8^+$.

❖ **Ex: DCs do timo e baço.**



➢ ***Células dendríticas inflamatórias***: não existem normalmente em condições normais mas aparecem em consequência de uma inflamação ou de um estímulo microbiano.

❖ **Ex: DCs produtoras de TNF e iNOS (Tip DCs).**

Monócitos inflamatórios podem produzir Tip DCs.

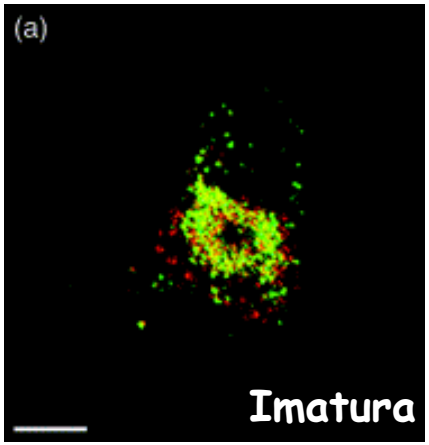
O processo de maturação.

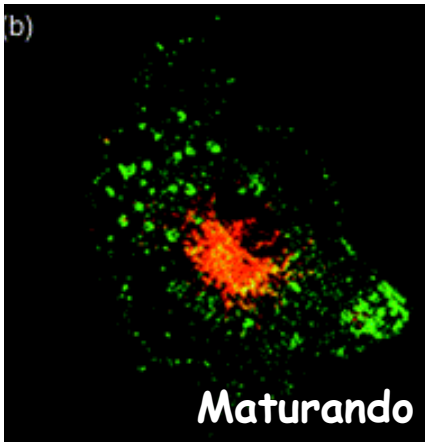
1. As DCs detectam o patógeno ou sinais inflamatórios.
- ✓ Produtos microbianos.
- ✓ Citocinas pró-inflamatórias (TNFα, GM-CSF, IFN's);
- ✓ CD40L, necrose, HSPs, ácido úrico, FcγR, PIR-B, TREM-2, NK, NKT e γδ.

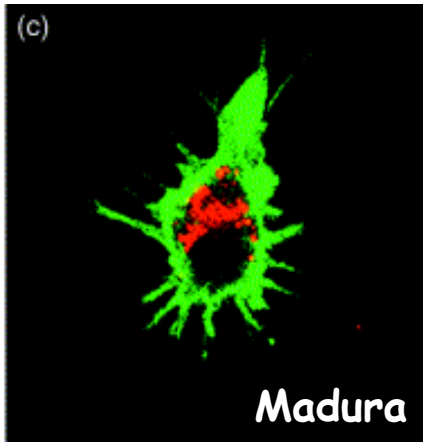
2. Células dendríticas imaturas capturam os micróbios através de:
- ✓ Fagocitose;
- ✓ Endocitose mediada por receptores;
- ✓ Macropinocitose (para antígenos solúveis).

3. Migração das DCs do sítio de infecção para as áreas de células T nos LN proximais através de vasos linfáticos aferentes.
- ✓ O receptor de quimiocina CCR7 passa a ser expresso na superfície das DC e estas então vão para:

a. Vasos linfáticos (ligação ao CXCR6);
b. Linfonodos (ligação ao MIP-3β).







O processo de maturação.

4. Diminui a capacidade endocítica e fagocítica.

5. Aumenta a expressão de moléculas de MHC II ligadas ao peptídeo.

6. Aumenta a expressão de moléculas co-estimulatórias (B7, CD40 e Fas).

7. Liberação de citocinas e quimiocinas pelas células dendríticas (incluindo IL-12, IL-18 e IL-10).

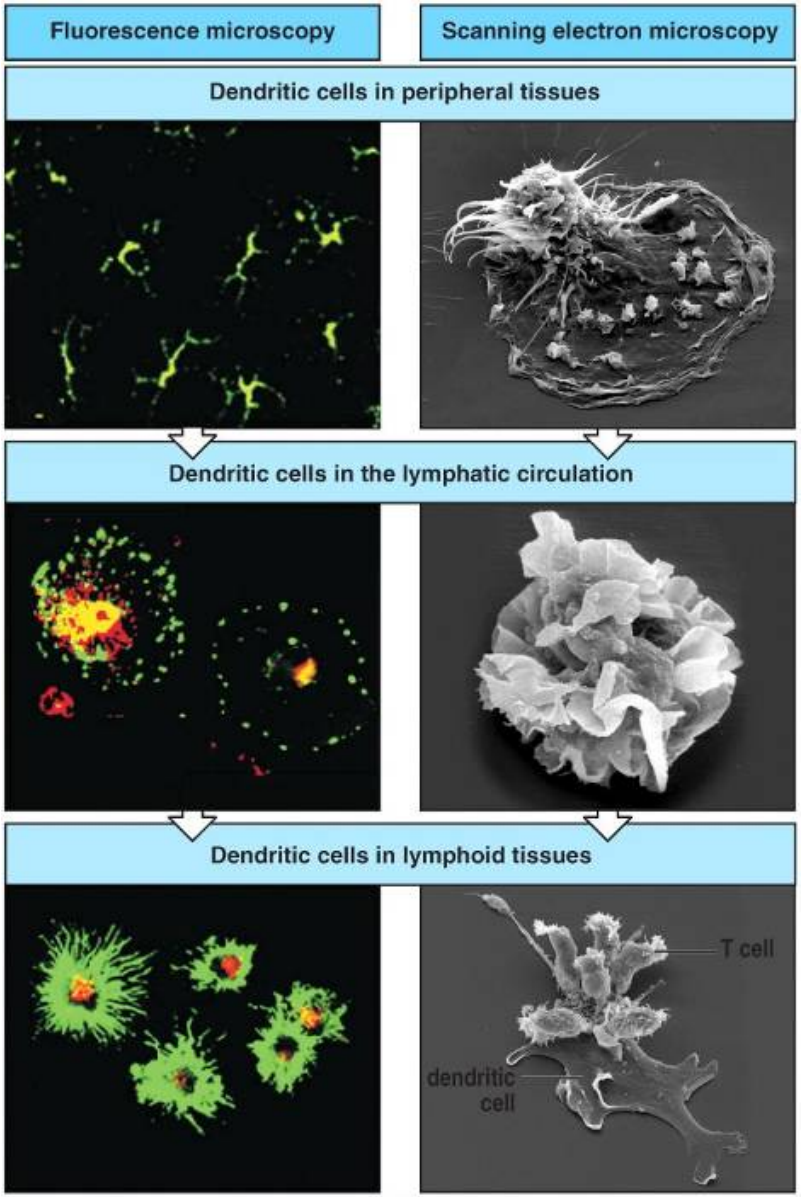
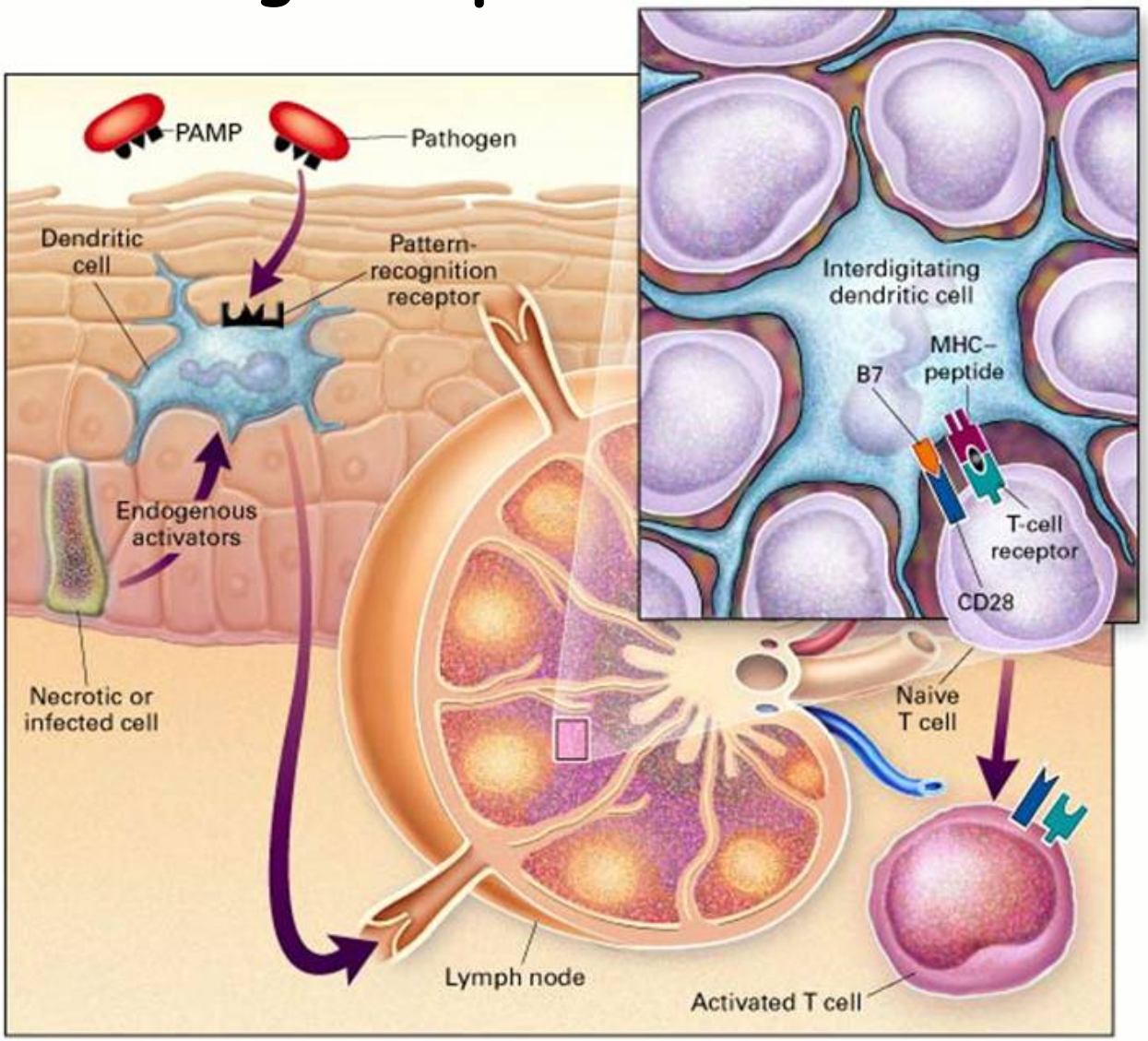
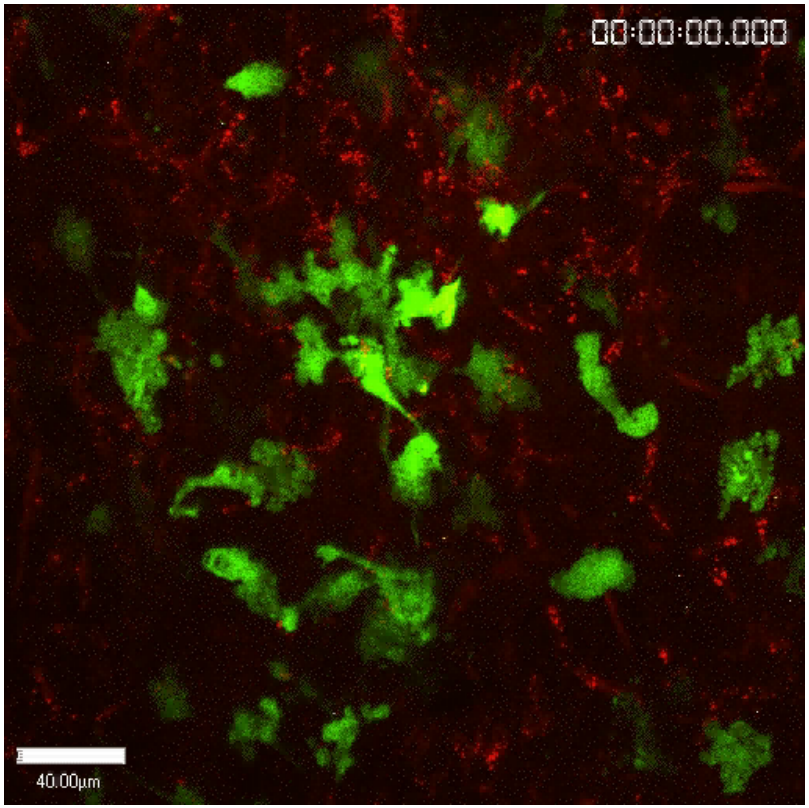


Figure 8-2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Células dendríticas ativadas migram para o linfonodo mais próximo onde apresentam os antígenos para as células T.

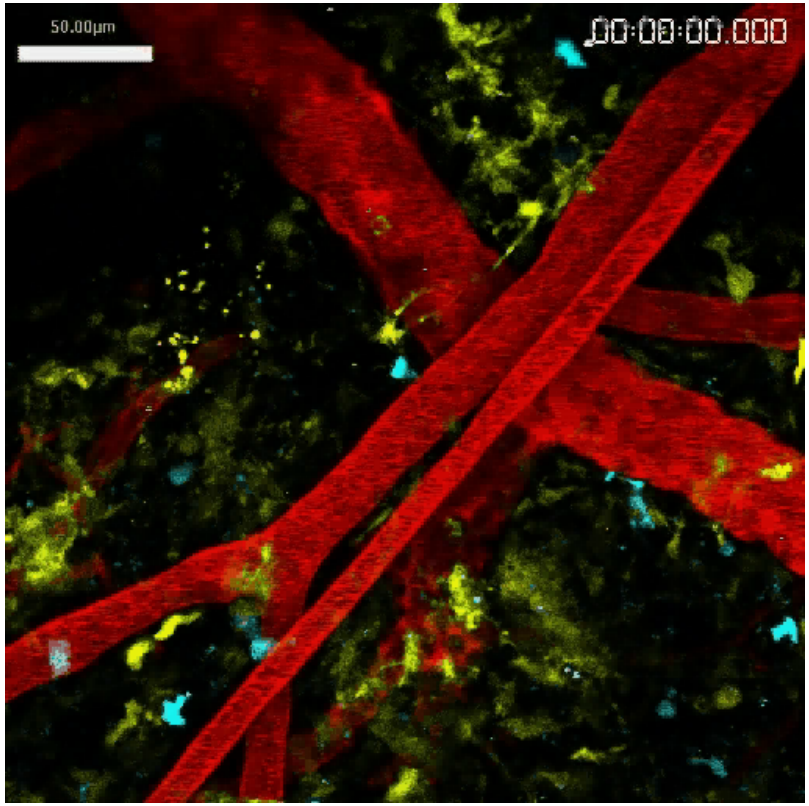


DCs no tecido gorduroso próximo ao linfonodo inguinal.



Verde: DCs
Vermelho: dextran i.v. marcando os capilares

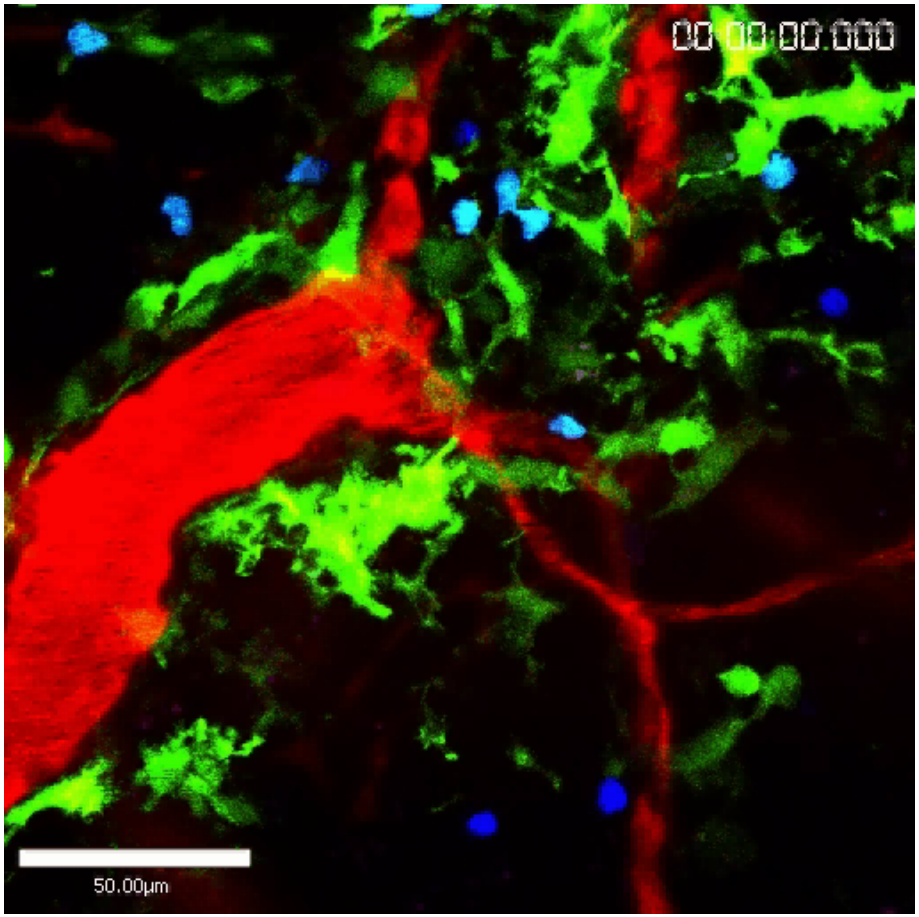
DCs no linfonodo inguinal.



Amarelo: DCs
Azul: células T
Vermelho: dextran i.v. marcando os capilares

Lindquist et al., Nat. Immunol. 5, 1243-50 (2004)

DCs no linfonodo inguinal interagindo com células T específicas.



Verde: DCs
Azul escuro: células T inesespecíficas
Azul claro: células T específicas
Vermelho: dextran i.v. marcando os capilares

Lindquist et al., Nat. Immunol. 5, 1243-50 (2004)

Células dendríticas fazem a "ponte" entre as imunidade inata e a imunidade adquirida.

Resposta Imune – Migração de Células Dendríticas