

IMUNOLOGIA DOS TRANSPLANTES E IMUNOLOGIA DOS TUMORES

BMI-102

Março 2019

alepique@icb.usp.br

Objetivos:

Transplantes

compreender mecanismos diretos e indiretos de rejeição

Compreender tipos de rejeição

Compreender porque MHC é importante

Ver possibilidades de profilaxia e tratamento

Câncer

Compreender mecanismos de resposta, equilíbrio e escape

Percepção de antígenos tumorais

Transplantes - nomenclatura

Enxerto – tecido transplantado

Doador – fonte do tecido

Receptor – paciente que recebe o tecido

Ortotópico – transplante no mesmo tecido de origem do enxerto

Heterotópico – transplante em outro tecido ou órgão

células tronco gordura – tecido cardíaco

células de cordão embrionário – medula óssea

células fetais - SNC

Enxerto autólogo

Enxerto singênico

Alogênico - aloantígenos

Xenogênico

linhagem A
doadora

linhagem A
doadora

linhagem A
doadora

Enxerto de pele

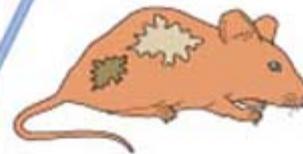
linhagem B
receptora

Rejeição de enxertos transplantados é mediada por resposta adaptativa

rejeição
dia 3



No



Yes

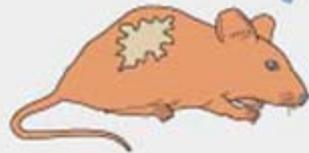


Yes

rejeição secundária

rejeição secundária

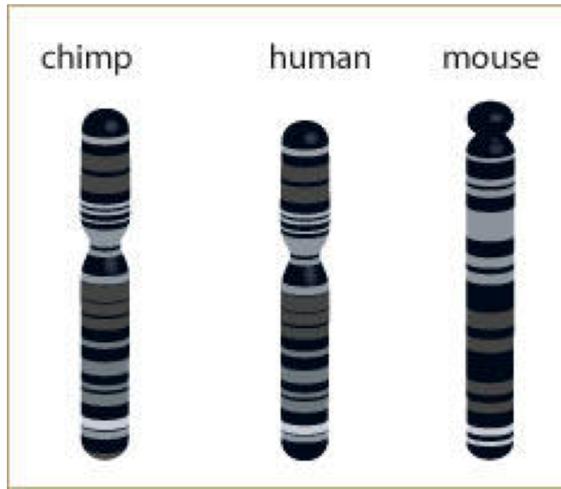
rejeição
dia 10



Yes

rejeição inicial

Quais os principais genes que levam à rejeição?

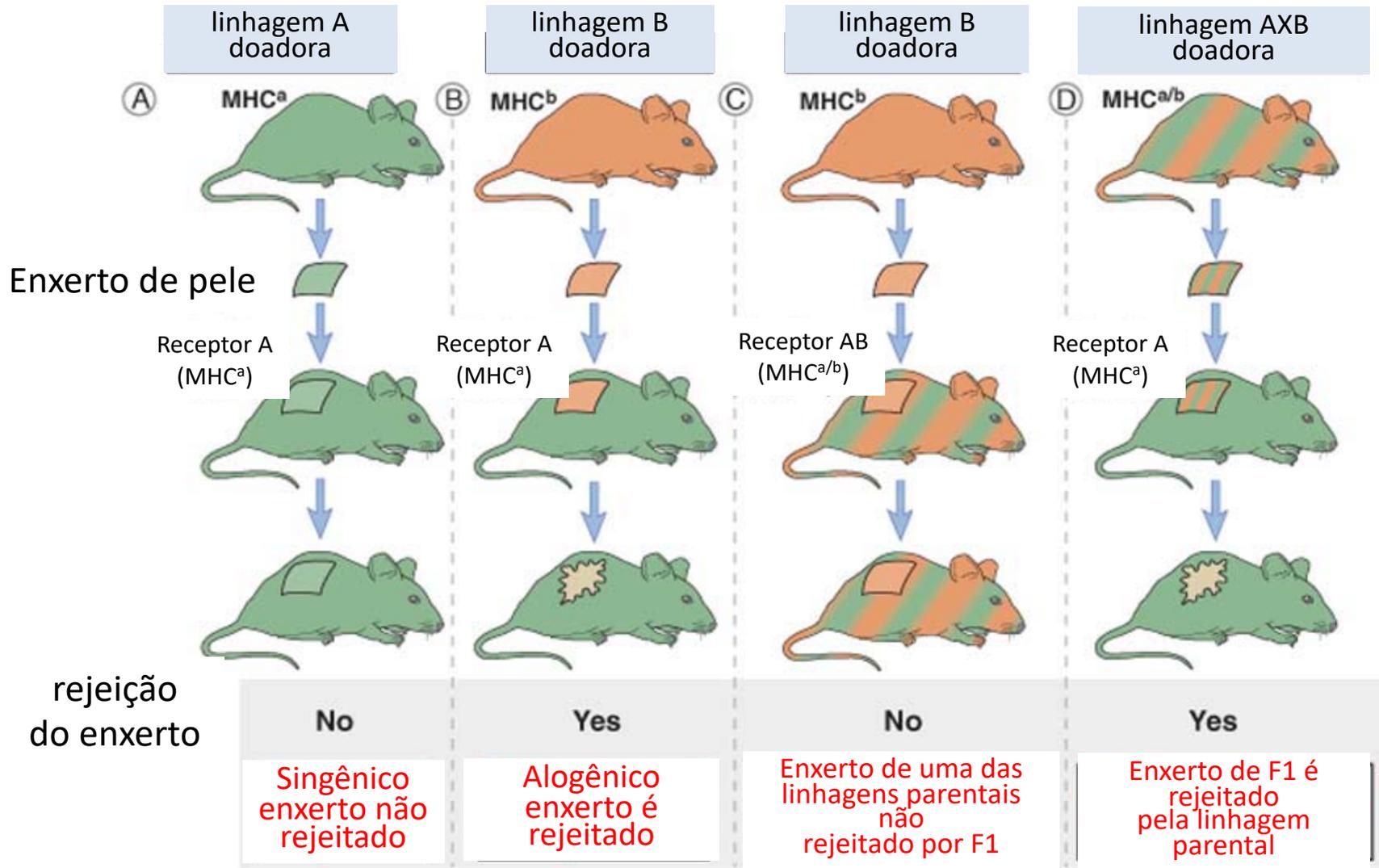


98%
similaridade



99.9%
similaridade

Reconhecimento de enxertos como próprios ou estranhos é determinado por genes polifórmicos de expressão co-dominante



Transplantes singênicos não são rejeitados

Transplantes alogênicos são os mais comuns

Transplantes xenogênicos normalmente utilizados em modelos experimentais

Ex. células tumorais humanas em camundongos

os receptores devem ser profundamente imunodeficientes
atímicos, RAG-/-

Ex. matriz bovina em enxertos ósseos dentais em humanos

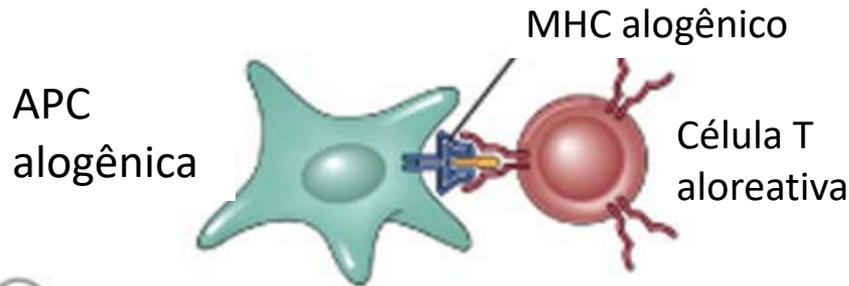
MECANISMOS DE REJEIÇÃO

DIRETO
INDIRETO
SEMI-DIRETO

Mecanismos de rejeição de enxertos alográficos – direto e indireto

(A)

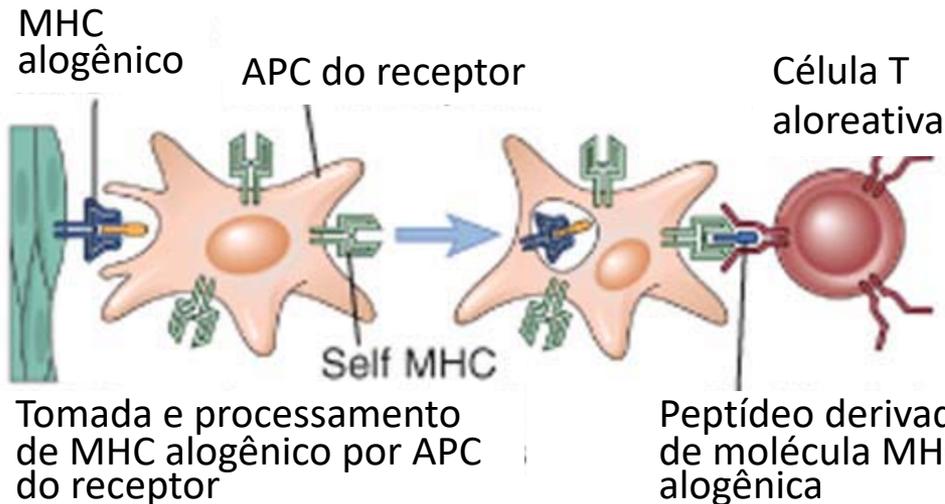
Reconhecimento direto



Células T reconhecem MHC alogênico, não processado em APC do enxerto

(B)

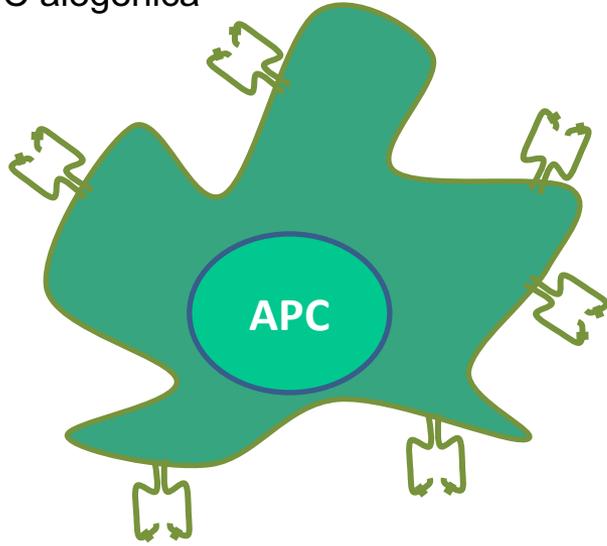
Reconhecimento indireto



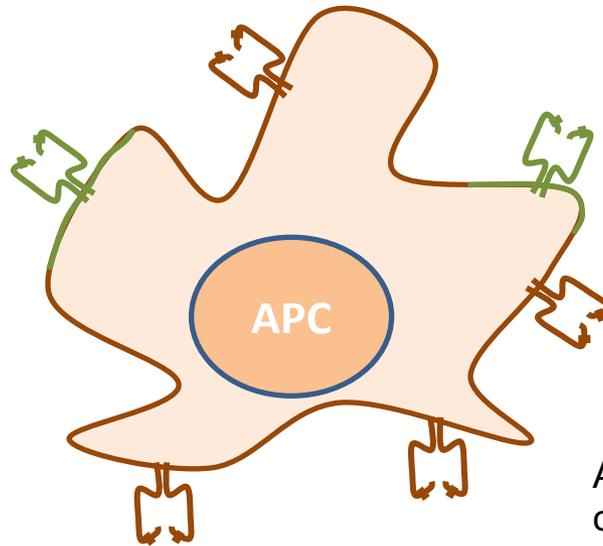
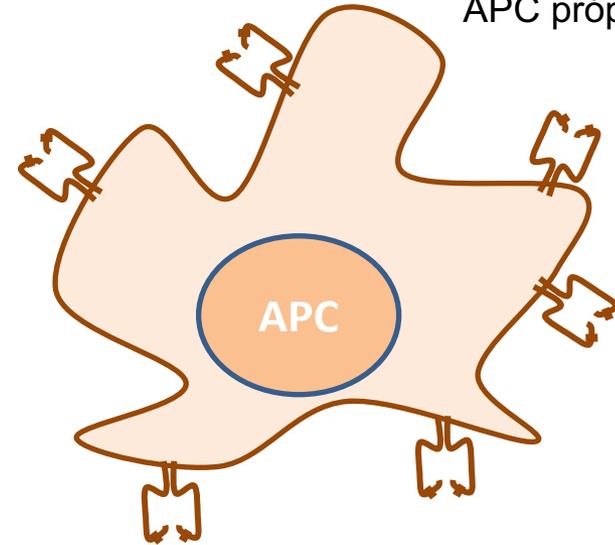
Apresentação de peptídeo processado correspondente ao MHC alogênico apresentado por MHC próprio – células T reconhecem MHC próprio

Mecanismo semi-direto – “cross-dressing”

APC alogênica

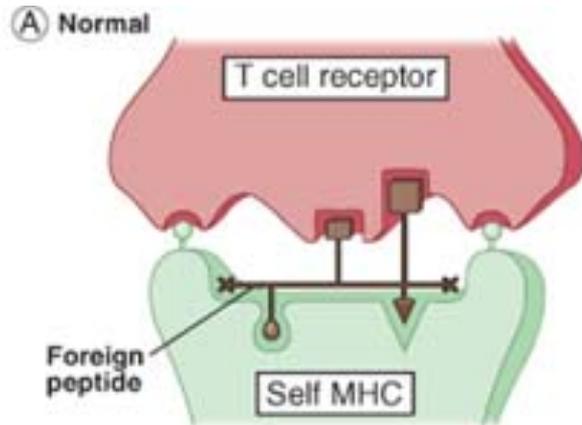


APC própria

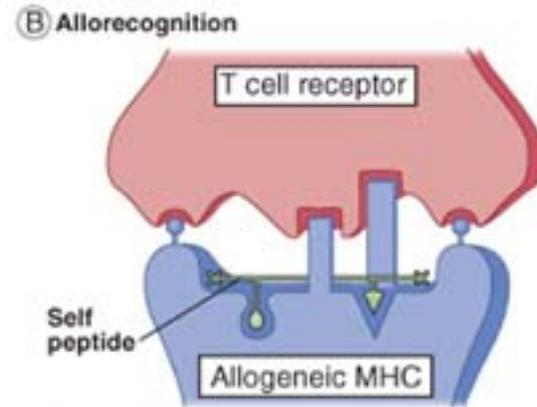


APC própria
com fragmentos de
membrana alogênica

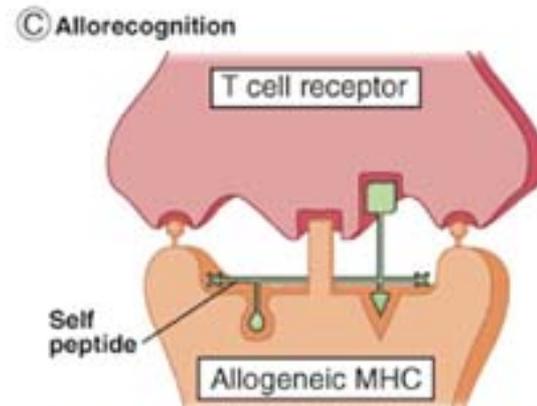
Mecanismo direto



MHC próprio apresenta peptídeos estranho a células T que reconhecem peptídeos próprios com baixa afinidade e estranho com alta afinidade



Célula T própria reconhece MHC alogênico que se assemelha com estrutura de MHC próprio carregado com peptídeo estranho

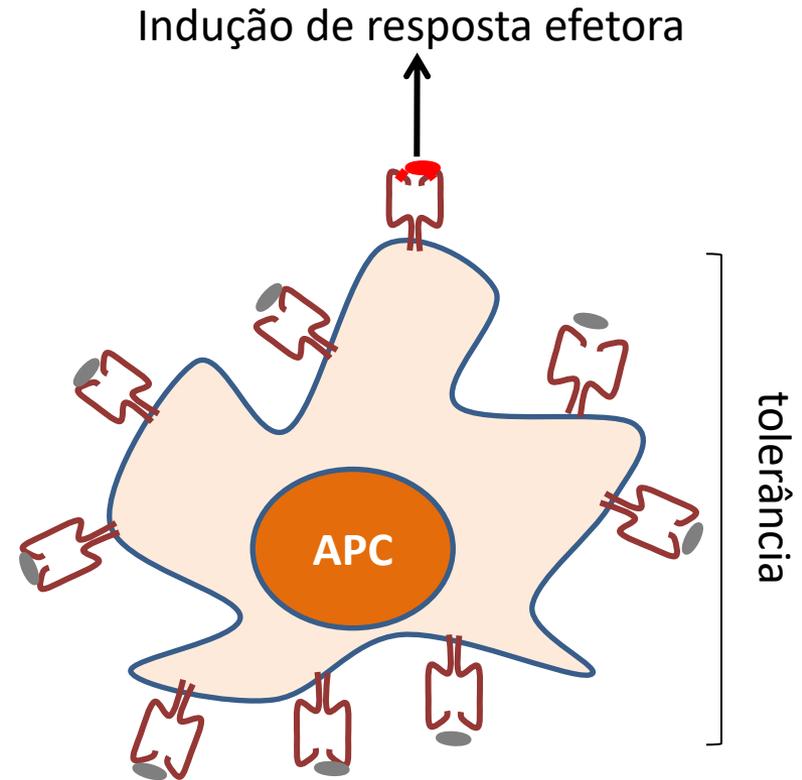


Célula T própria reconhece complexo de MHC alogênico ligado a peptídeo, onde ambos mimetizam MHC próprio e peptídeo

As células do enxerto sempre apresentam complexos MHC/peptídeo não próprios
As células próprias apresentam menos de 1% de peptídeos não próprios



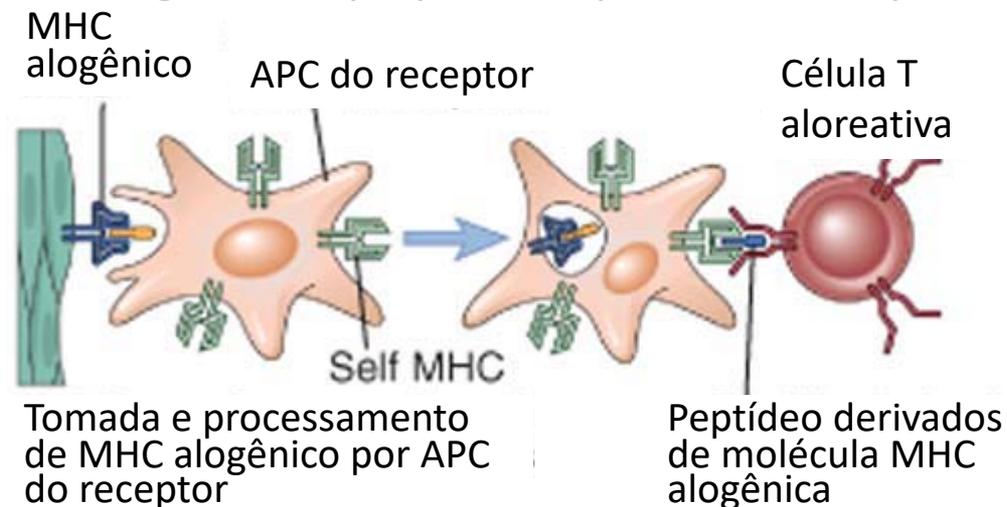
APC do enxerto, potencialmente todas as moléculas MHC podem constituir um determinante não próprio



APC própria apresenta antígenos próprios e >1% de antígenos estranhos

Mecanismo indireto

Células do enxerto são fagocitadas, suas moléculas MHC processadas e apresentadas como peptídeos estranhos a linfócitos do receptor como se fossem qualquer antígeno não próprio e disparam uma resposta equivalente.



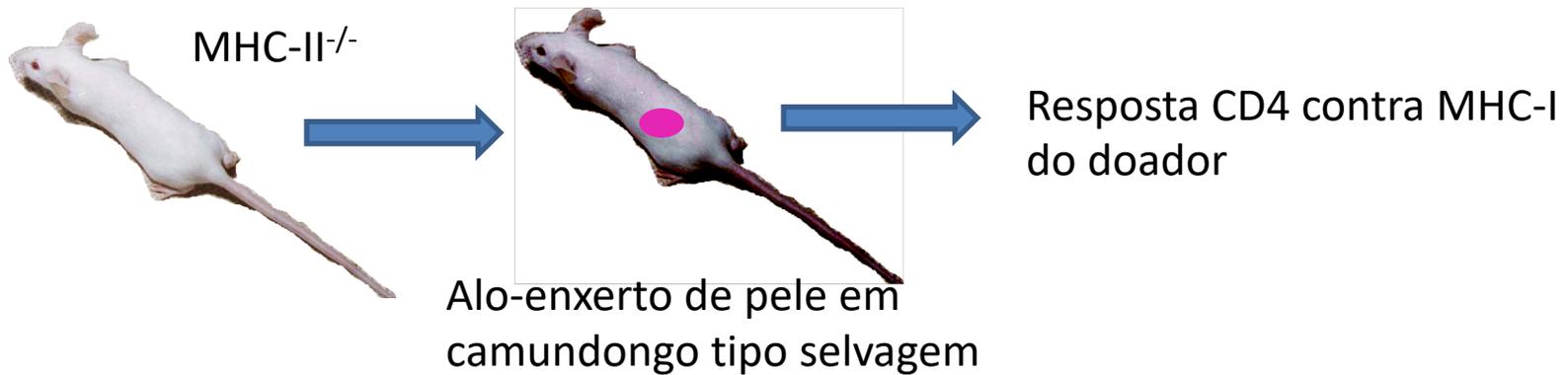
Moléculas MHC são altamente polimórficas – potencial para formação de um número grande de peptídeos estranhos e ativação de vários clones de células T.

Outras proteínas polimórficas, cujas formas sejam diferentes entre o doador e o receptor irão gerar o mesmo tipo de resposta que as moléculas MHC não próprias – Antígenos de histocompatibilidade minoritários apresentados por MHC do receptor em APCs do receptor

EVIDÊNCIAS DE APRESENTAÇÃO INDIRETA (OU SEMI-DIRETA??)

- Apresentação cruzada – geração de resposta CD8

- Experimental

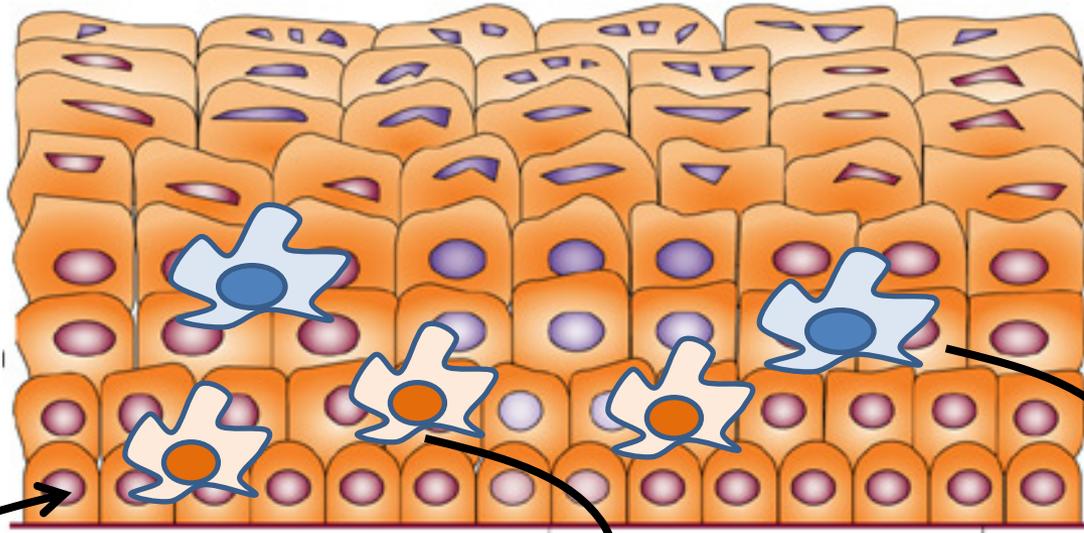


Moléculas MHC-I do doador foram processadas (via fagocitose) e apresentadas via MHC-II do receptor OU

Por “cross-dressing” moléculas classe I das APCs do enxerto foram incorporadas às APCs do receptor

-linfócitos de pacientes com transplante de fígado ou coração podem ser reativados *in vitro* com peptídeos do doador e APC do receptor

DINÂMICA



Recrutamento
de APCs do
receptor

Linfonodo periférico
apresentar antígenos
de forma indireta
(CD8 e CD4)
CD8 é restrita a MHC,
estas não devem ser funcionais

Linfonodo periférico
apresentar antígenos
de forma direta
(CD8 e CD4)

Estimulação direta, envolvendo CD8 parece ser importante para rejeição aguda
Estimulação indireta parece ser responsável por rejeição crônica

TIPOS DE REJEIÇÃO

TIPOS DE REJEIÇÃO

Nomenclatura baseada em características histopatológicas ou cinética da rejeição após transplante

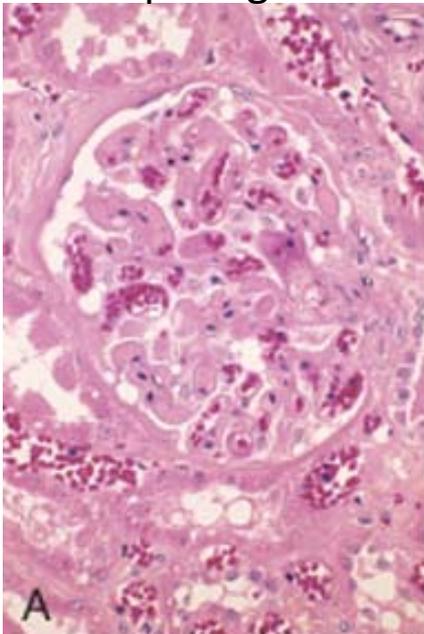
Padrões (baseados em transplante renal):

Hiper-aguda

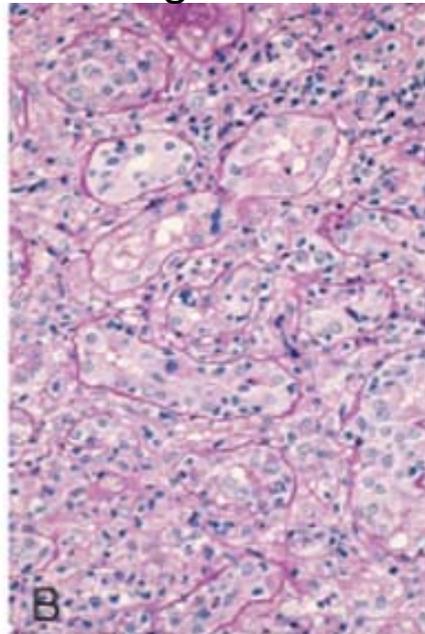
Aguda

Crônica

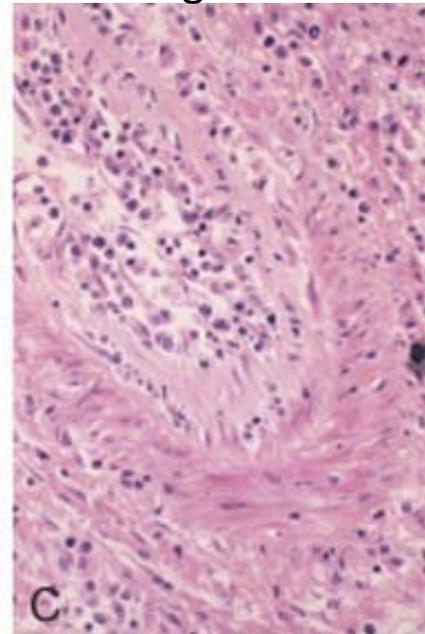
Hiper-aguda



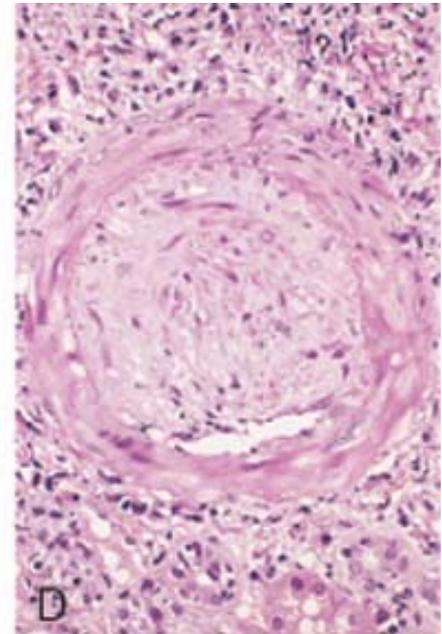
aguda



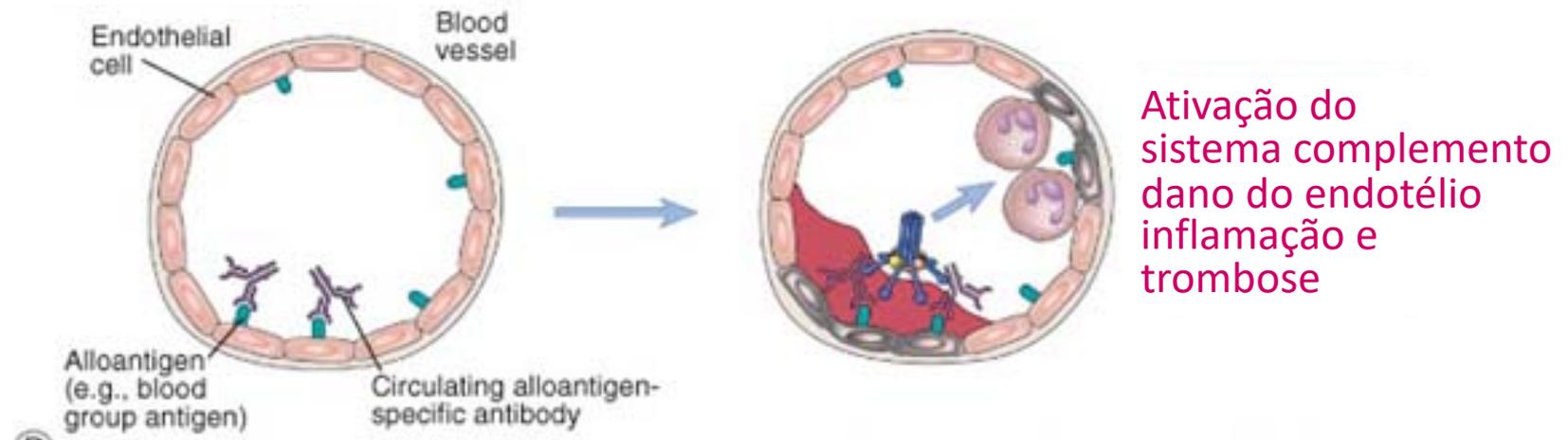
aguda



crônica



REJEIÇÃO HIPER-AGUDA



- Minutos a horas após o transplante
- Anastomose dos vasos do graft, mediada por anticorpos pré-existentes
- exposição da membrana basal sub-endotelial ativa plaquetas levando a formação de trombo
- Eventualmente há oclusão vascular e isquemia
- historicamente, IgM anti-ABO era a principal causa de rejeição hiper-aguda, Hoje só se transplanta tipos ABO idênticos
- Hoje mais comumente mediada por IgG – exposição prévia a um antígeno por transfusão, transplante prévio, gravidez
- Cinética dependente de concentração de anticorpo
- perda do enxerto é comum

REJEIÇÃO HIPER-AGUDA

-limite para xenotransplantes

-RPA – painel de anticorpos reativos

Recomendado para pacientes à espera de transplantes

Score 0-99%, se 50% o transplante não é indicado

Mede, por exemplo, anticorpos anti-HLA circulantes

-O paciente pode ser tratado com anti-CD20 para eliminar células B antes do transplante, ou sofrer plasmaferese, ou depleção de IgG com proteína A

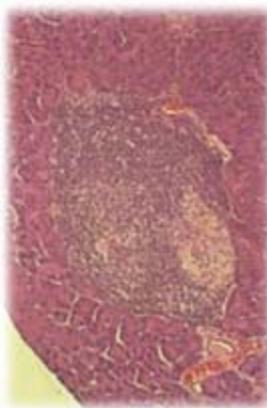
- Aumento da dose de imunossupressor, em geral não é muito efetivo

pâncreas

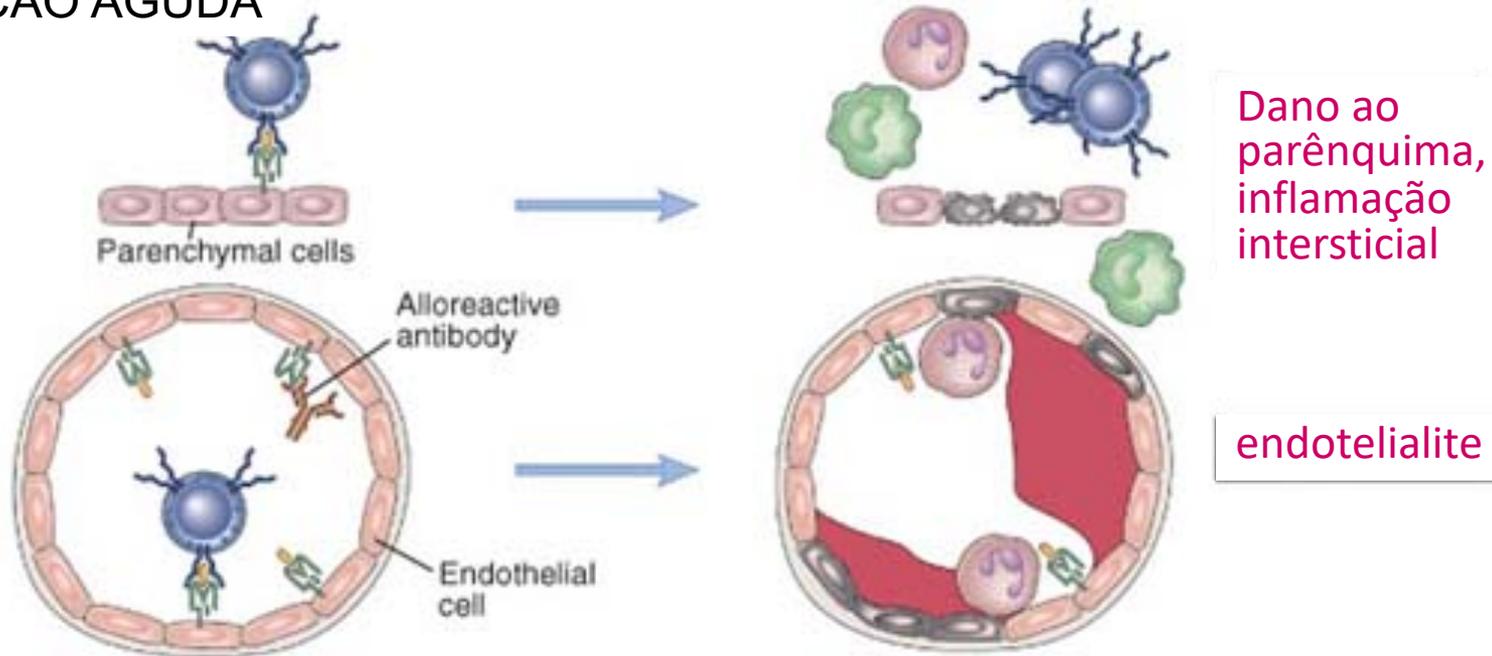
Ilhota
sadia



Ilhota
em processo de
rejeição

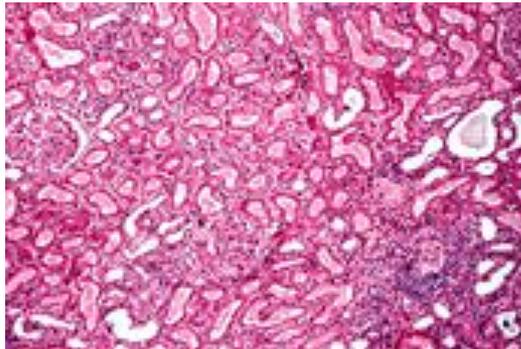
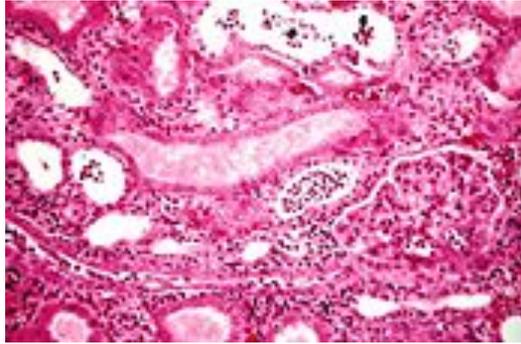
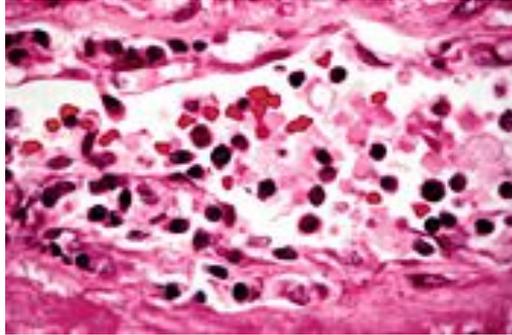


REJEIÇÃO AGUDA

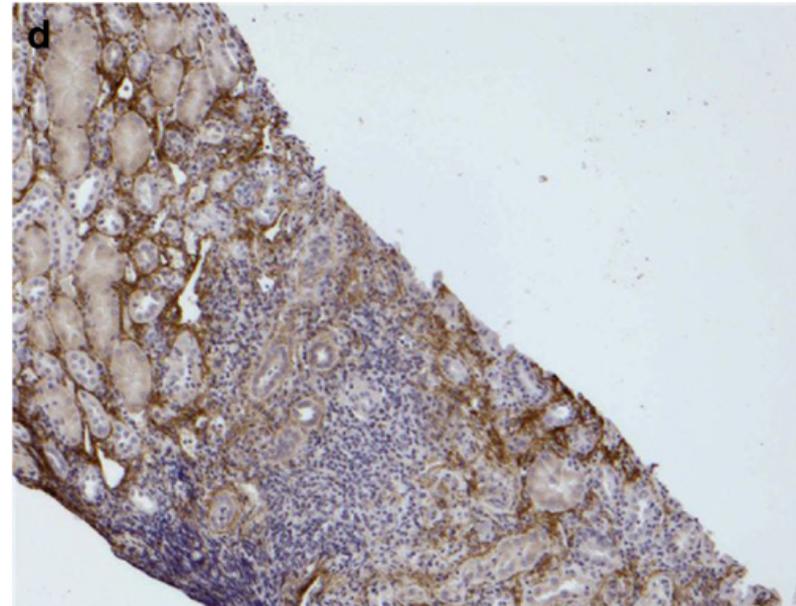


- Mediado por células T (apresentação indireta)
- Causa danos ao endotélio e ao parênquima
- Inicia-se aproximadamente 1 semana após o transplante
- ocorre em 60-75% dos transplantes de rim e 50% dos transplantes de fígado
- Infiltrado CD8 e CD4 encontrado no órgão transplantado
- Expressão de Perforina e Granzima B
- Transferência de CD8, causa rejeição em outro organismo (modelo animal)
- CD8 lisa direta e especificamente as células do enxerto
- CD4 secretam citocinas e induzem resposta tipo DTH (delayed type hypersensitivity)
- Anticorpos tb podem mediar este tipo de rejeição, ativando complemento no endotélio gerando necrose transmural e inflamação aguda.

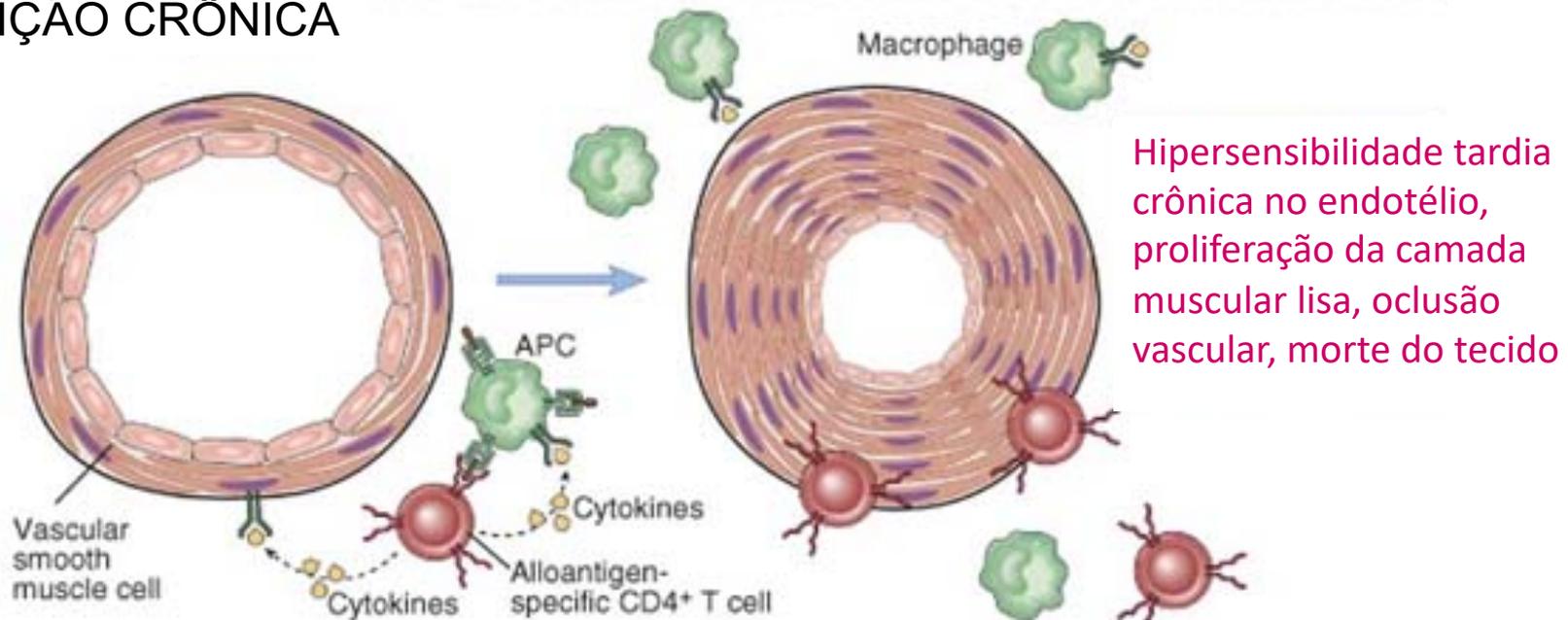
Transplante renal, 4 meses após o transplante enxerto foi retirado



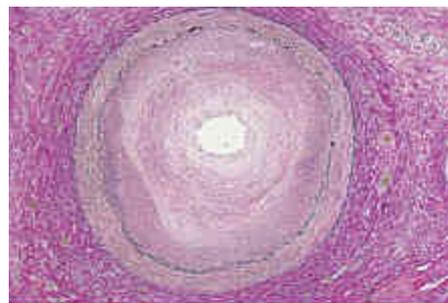
Transplante renal, IH para CD4 depositado nos túbulos



REJEIÇÃO CRÔNICA



- Ocorre até 6 meses após o transplante
- Mediada por anticorpos e células CD4 principalmente
- Envolve a secreção de fatores de crescimento por células endoteliais, musculares lisas e macrófagos em resposta a $IFN\gamma$ e TNF (em camundongos $IFN\gamma^{-/-}$ o enxerto é mais resistente a arteroesclerose)
- diferentes sintomas dependendo do órgão: pulmão, vias aéreas espessas (bronqueolite Obliterativa); fígado, dutos biliares fibróticos e não funcionais (síndrome do desaparecimento dos dutos biliares)



coração

TRANSPLANTE XENOGÊNICO

Rejeição mediada por anticorpos naturais

anticorpo natural contra α -galactosil-transferase porcina

produzem rejeição hiper-aguda

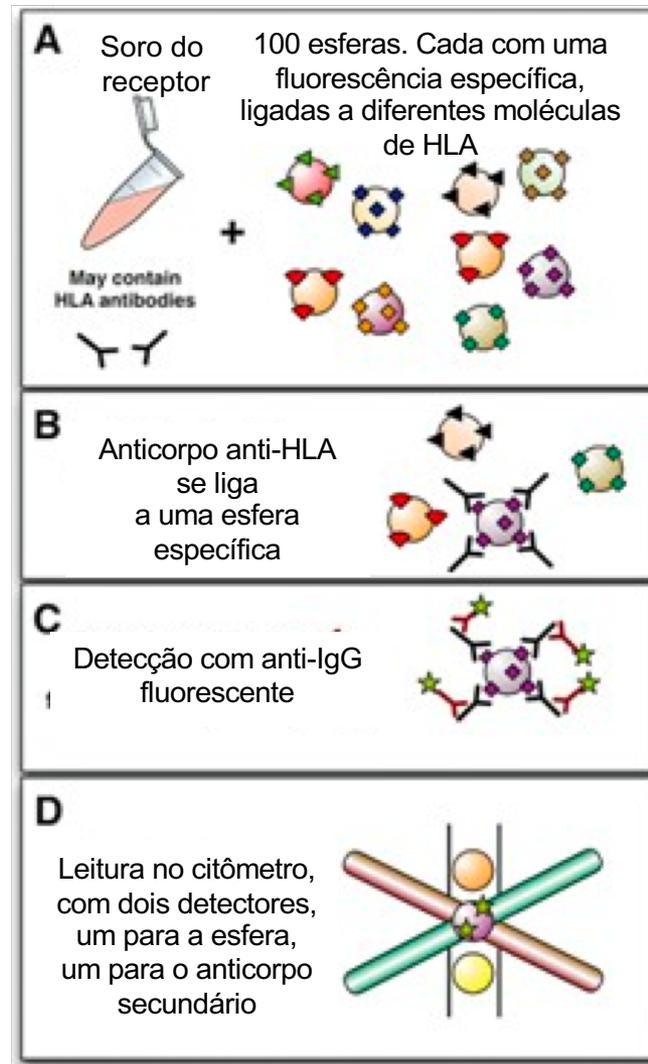
geração de animais que expressam algumas proteínas humanas para evitar rejeição

Rejeição mediada por respostas de células T CD4 e CD8

resposta muito potente, dificilmente controlável

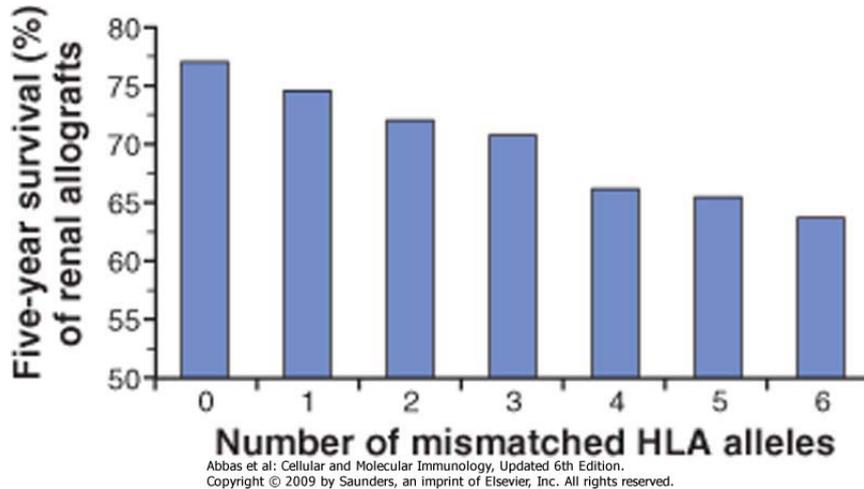
PROFILAXIA E TRATAMENTO

PRA – panel reactive antibody – reação de anticorpos do soro do receptor contra moléculas de HLA (antigamente de células de doadores através de citotoxicidade por complemento, hoje de diferentes tipos de moléculas de HLA immobilizadas em esferas)



PREVENÇÃO

Quanto menores as diferenças aloantigênicas, menor o risco de rejeição



ABO

Detecção de anticorpos
previamente produzidos

HLA-A, B, DR são os mais importantes (C não é tão polimórfico, DQ segrega sempre com DR)

Possível de se fazer em pacientes para transplante renal – sobrevivem sem o rim, o rim pode ser armazenado por algum tempo

Não recomendado para pacientes para transplante de fígado ou coração – situação do paciente em geral grave, e órgãos não são facilmente armazenados

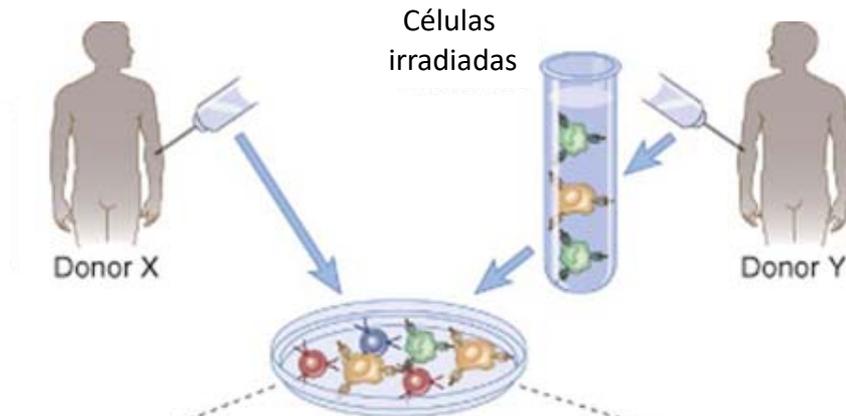
Mesmo que se consiga 100% de similaridade para HLA, genes de histocompatibilidade não principais ainda podem causar rejeição

Peptídeos originados de sequências polimórficas que podem ser apresentados por HLA I ou II na superfície da célula e induzir resposta;
proteínas polimórficas podem ser processadas diferentemente pelo sistema proteasomo, gerando novos peptídeos

REAÇÃO DE LINFÓCITOS MISTOS

Teste de compatibilidade *in vitro*

Mistura de células mononucleares de 2 doadores é colocada em cultura

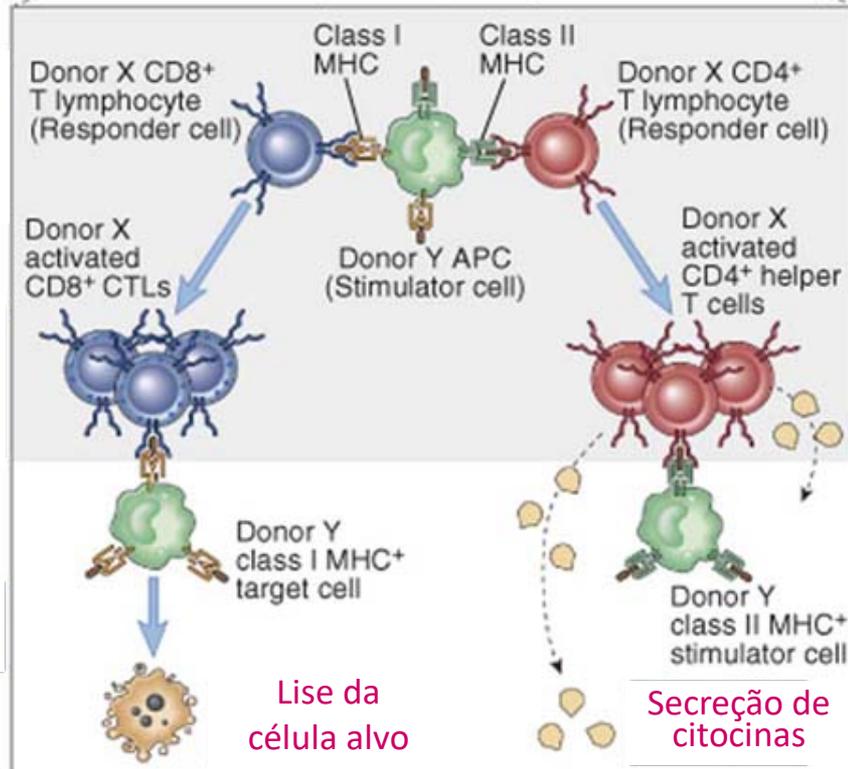


Primary MLR

Reconhecimento de alo-MHC por células T respondedoras

Expansão clonal e diferenciação funcional das células T

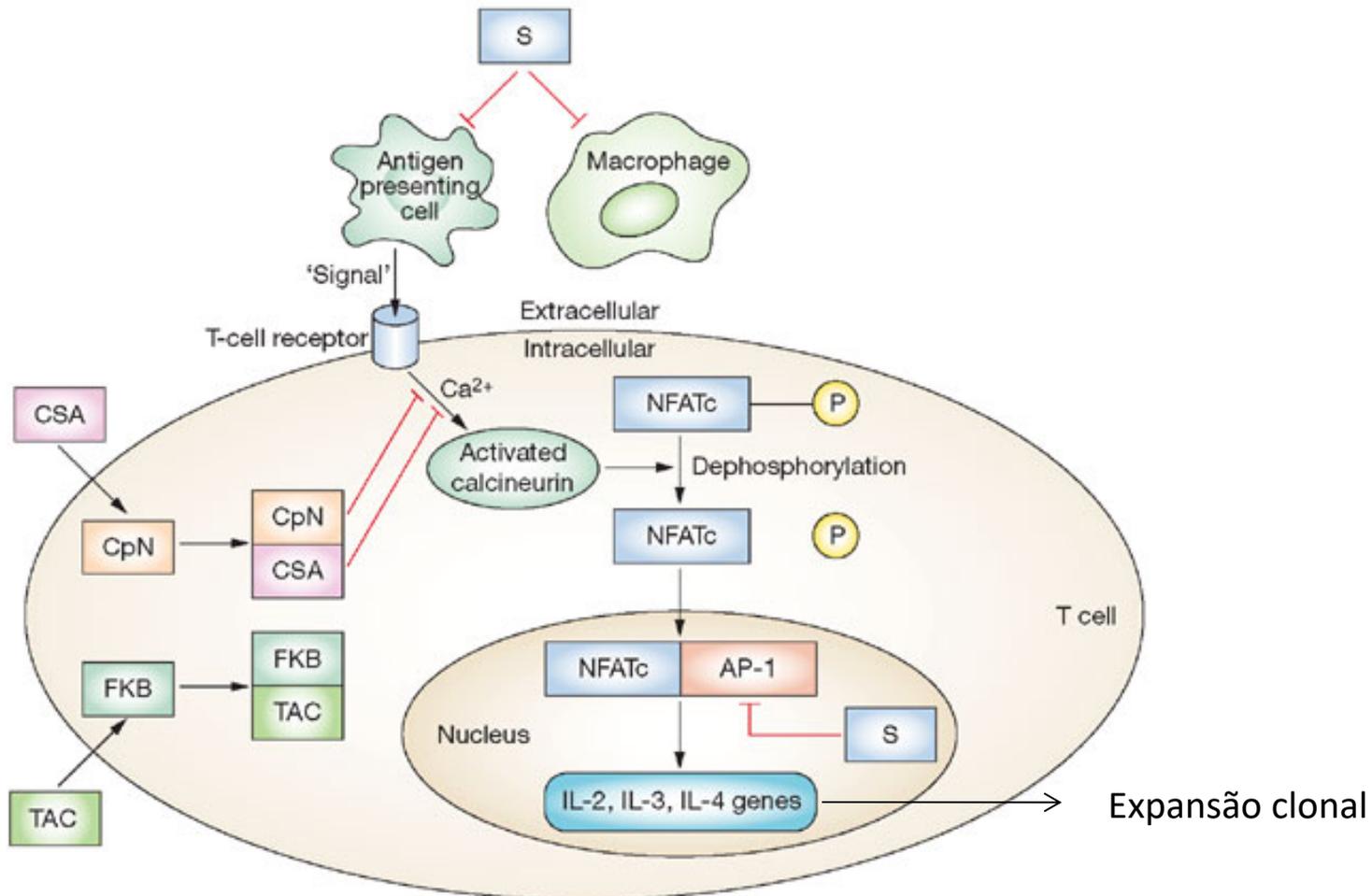
Funções efetoras



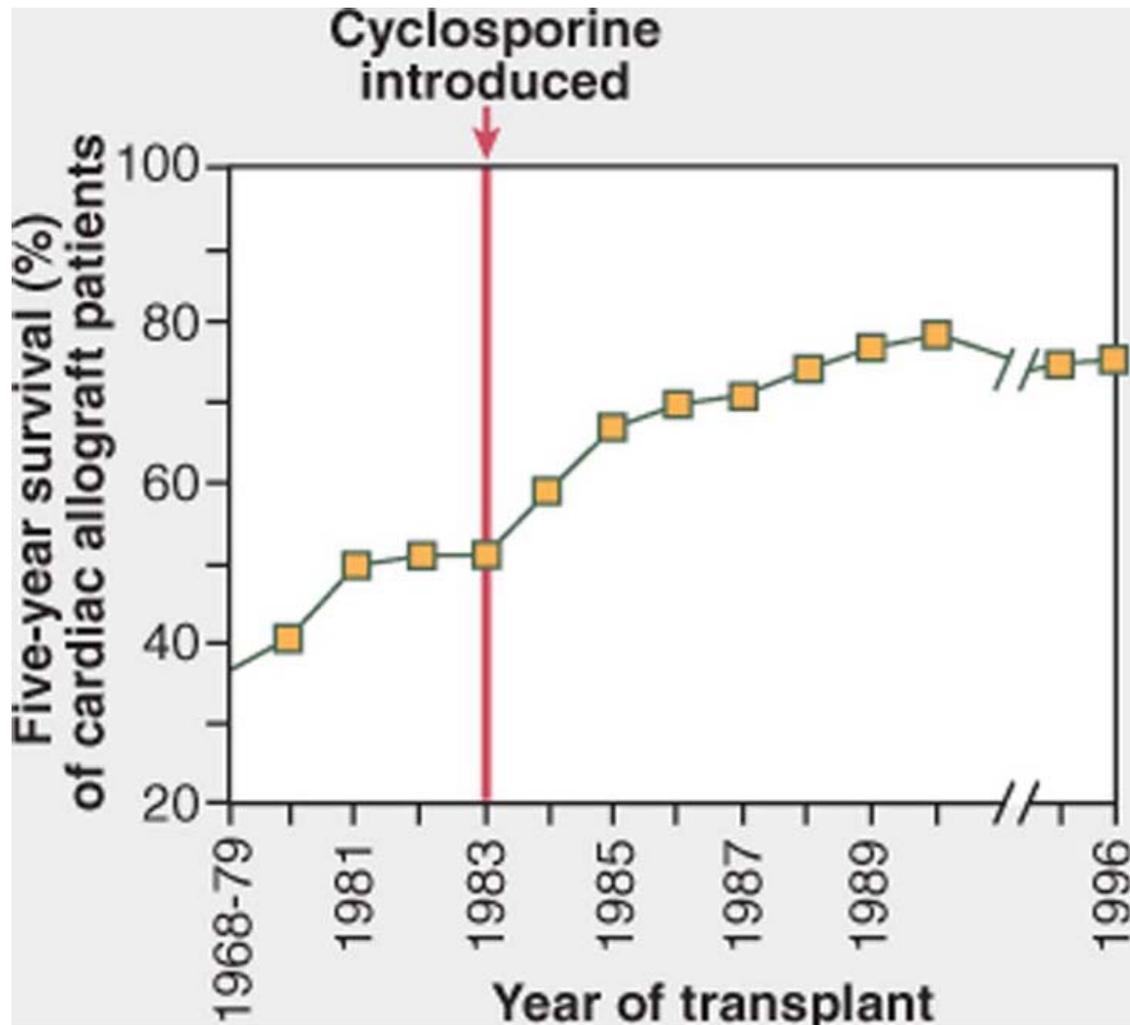
TRATAMENTO

IMUNOSUPRESSÃO

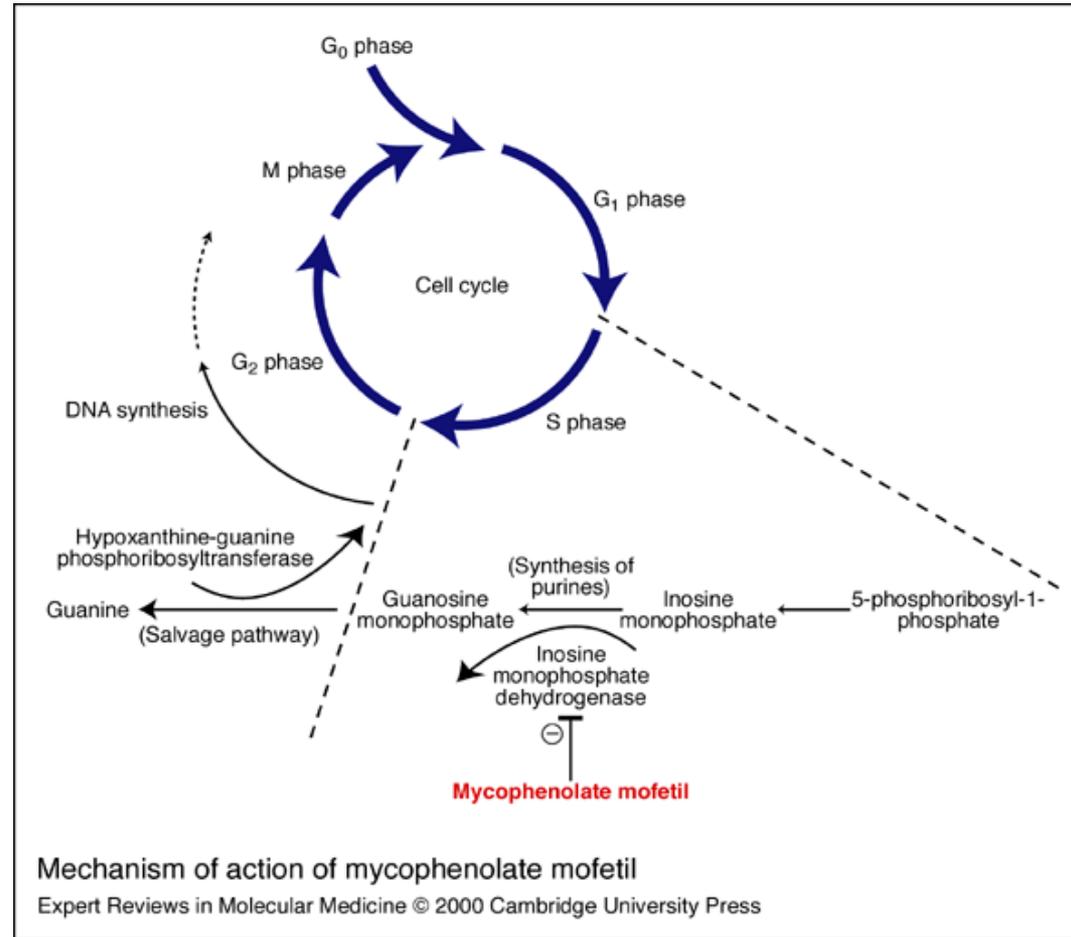
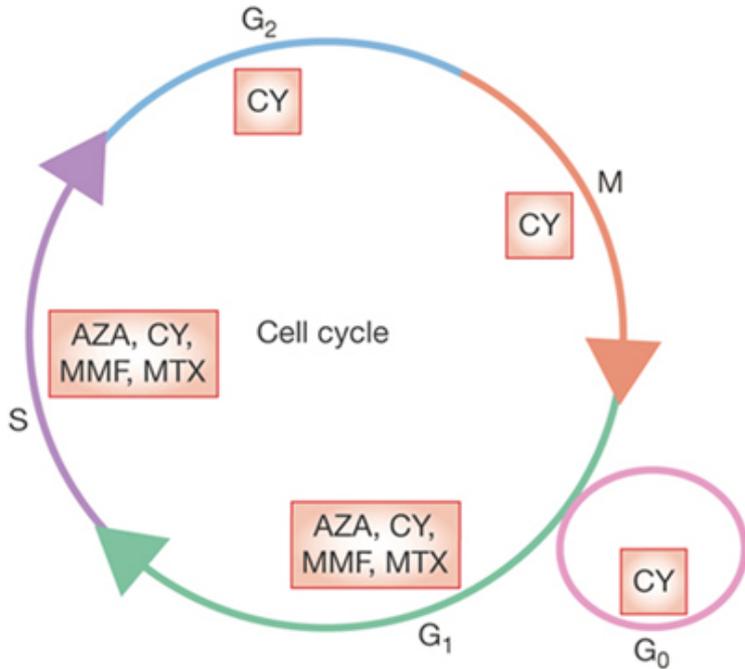
Drogas mais utilizadas inibem ativação de linfócitos – ciclosporina e tacrolimus (FK506)



AUMENTO DO NÚMERO DE TRANSPLANTES MANTIDOS POR 5 ANOS APÓS O INÍCIO DO USO DE CICLOSPORINA



INIBIÇÃO DA PROLIFERAÇÃO COM TOXINAS METABÓLICAS



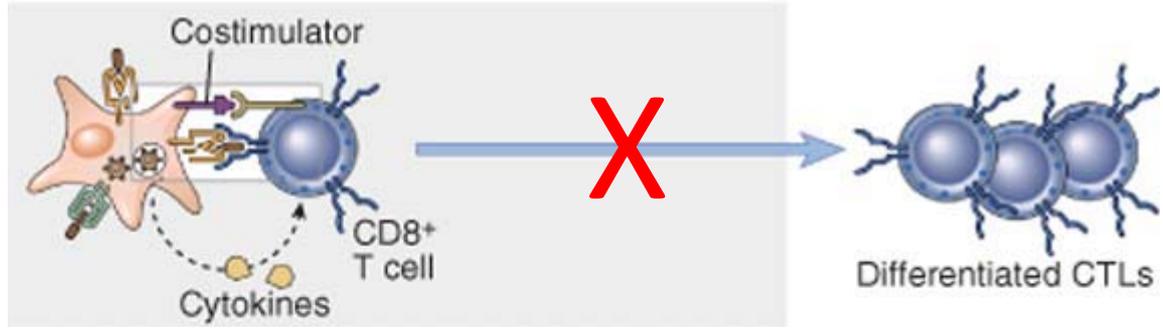
Cy – ciclofosfamida -alquilante

Aza – azatioprina – análogo de purina, inibição da síntese de DNA

MMF – micofenolato mofetil

IMPORTÂNCIA DE MOLÉCULAS CO-ESTIMULADORAS

Teste de compatibilidade *in vitro* – uso de anticorpos neutralizantes para B7 inibem resposta contra alo-antígeno (estimulação direta)



USO DE ANTICORPOS E MOLÉCULAS SOLÚVEIS

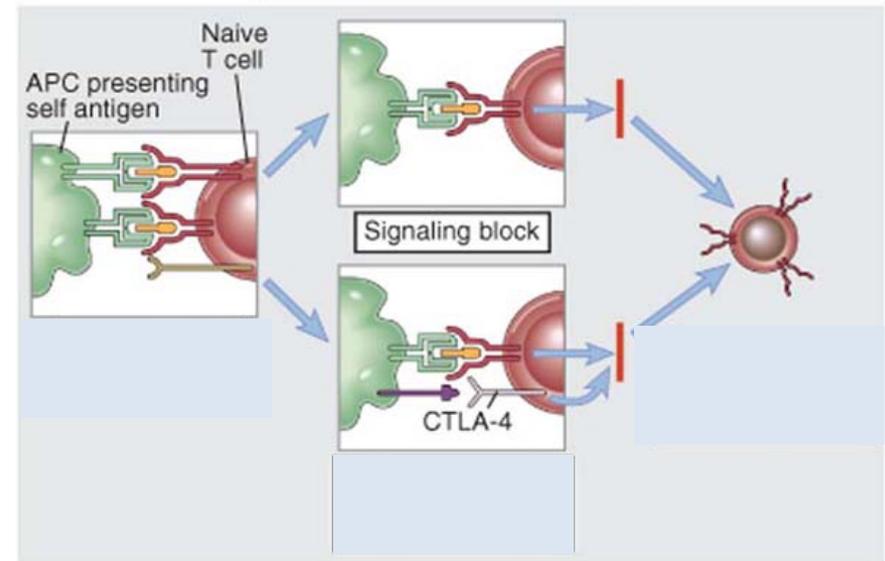
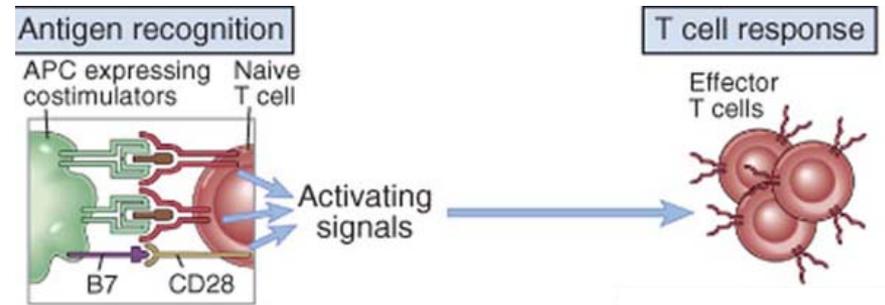
Anti-CD3, anti-CD25

Eliminação de populações de células T

anti-CD40l

Deficiência na estimulação entre células B e T

CTLA4 solúvel para inibir células T

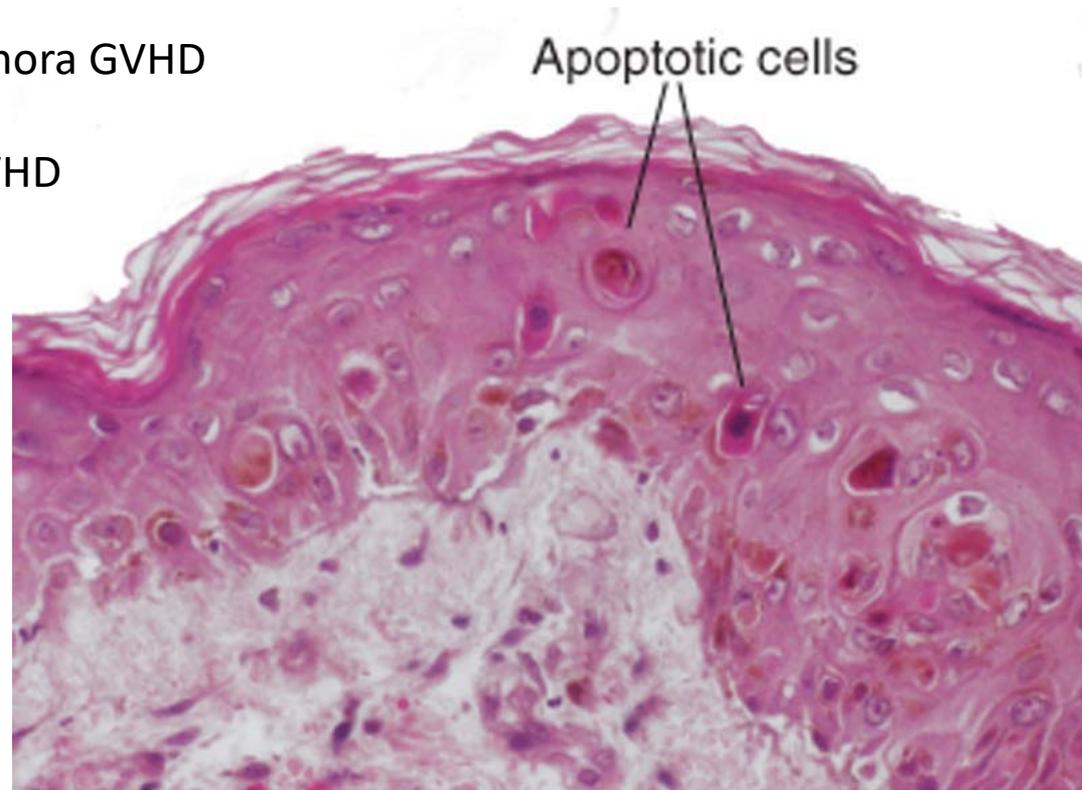


TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA

- Tratamento de defeitos adquiridos em populações hematopoiéticas
- Correção de deficiências genéticas (hemoglobina anormal)
- Tratamento de alguns tipos de leucemia
- Tratamento de pacientes que sofreram quimio ou radioterapia ablativa (a medula do próprio paciente pode ser coletada e re-infundida no mesmo, desde que não haja risco da mesma estar contaminada, por exemplo com células metastáticas)
- Necessário manter o paciente profundamente imunossuprimido
além dos mecanismos mencionados anteriormente, células NK também têm papel na eliminação de enxertos de medula óssea

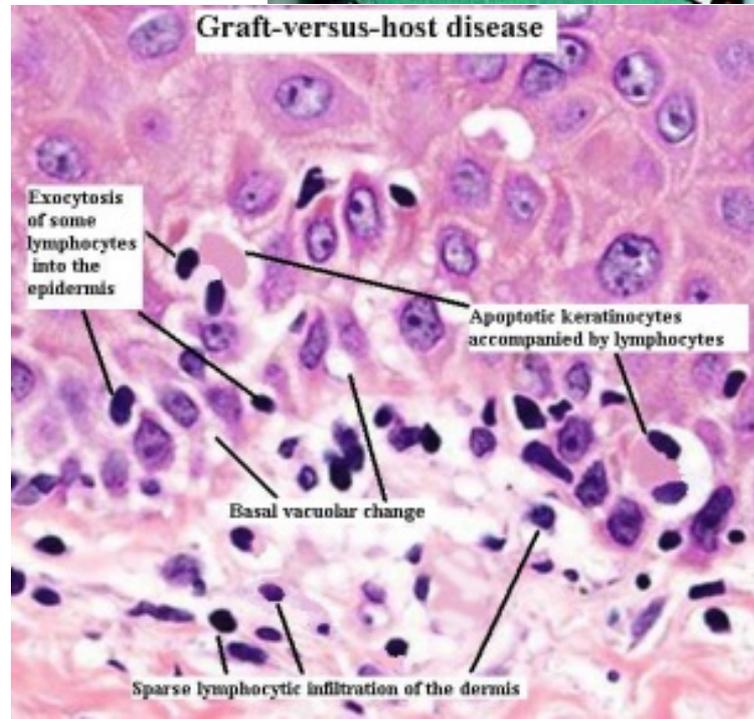
Doença enxerto contra hospedeiro (graft versus host disease) após transplante de medula óssea

- Aguda – morte celular extensiva na pele, fígado e trato gastrointestinal, pode ser fatal
- Crônica – fibrose e atrofia de um ou mais órgãos. Pode causar obliteração de vias aéreas pequenas nos pulmões
- Redução das células T no enxerto melhora GVHD
- Células NK parecem envolvidas em GVHD
tratamentos de imunossupressão normalmente utilizados são menos efetivos contra estas células
- ciclosporina e metotrezato são Utilizados profilaticamente contra GVHD





Graft-versus-host disease

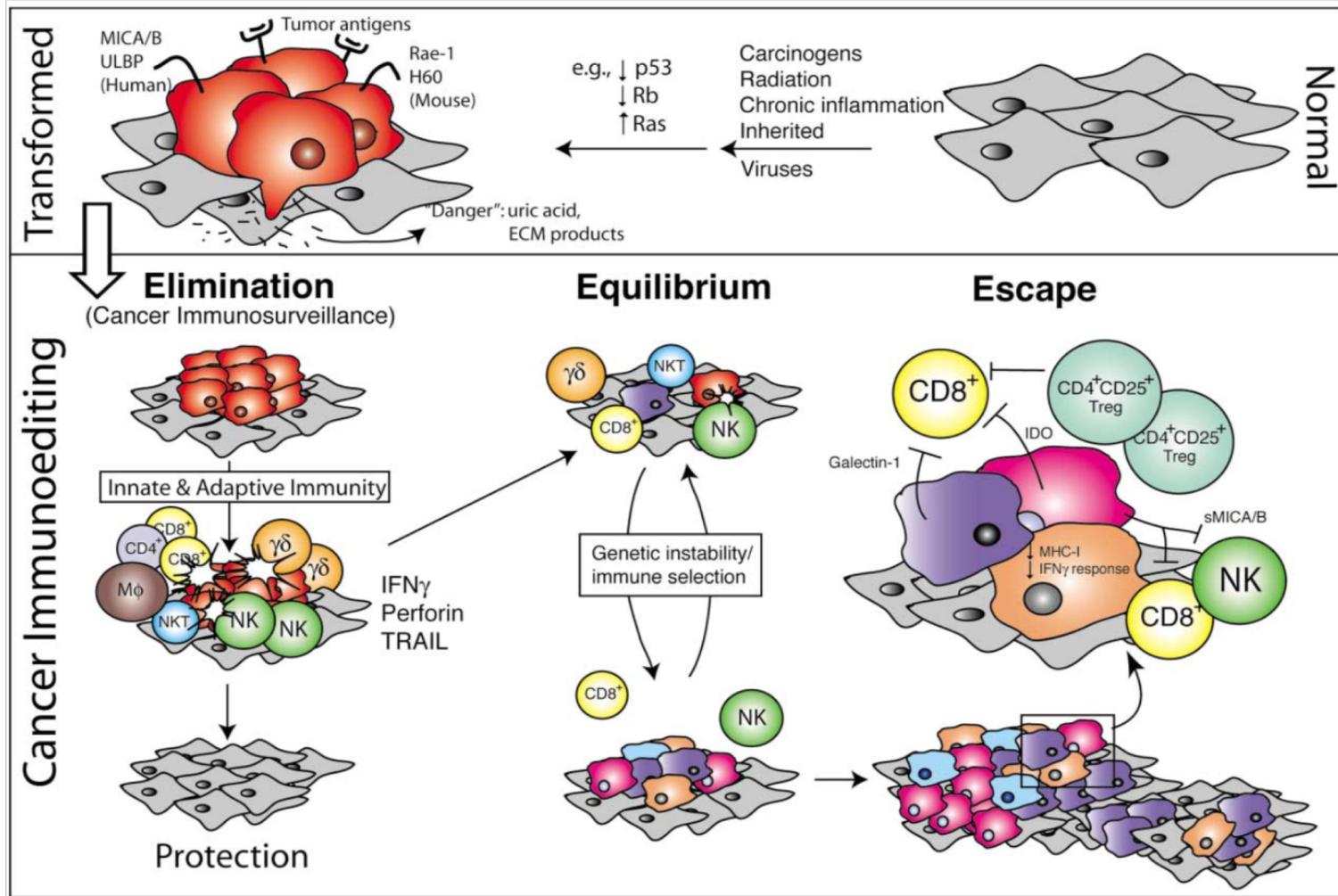


IMUNOLOGIA DOS TUMORES

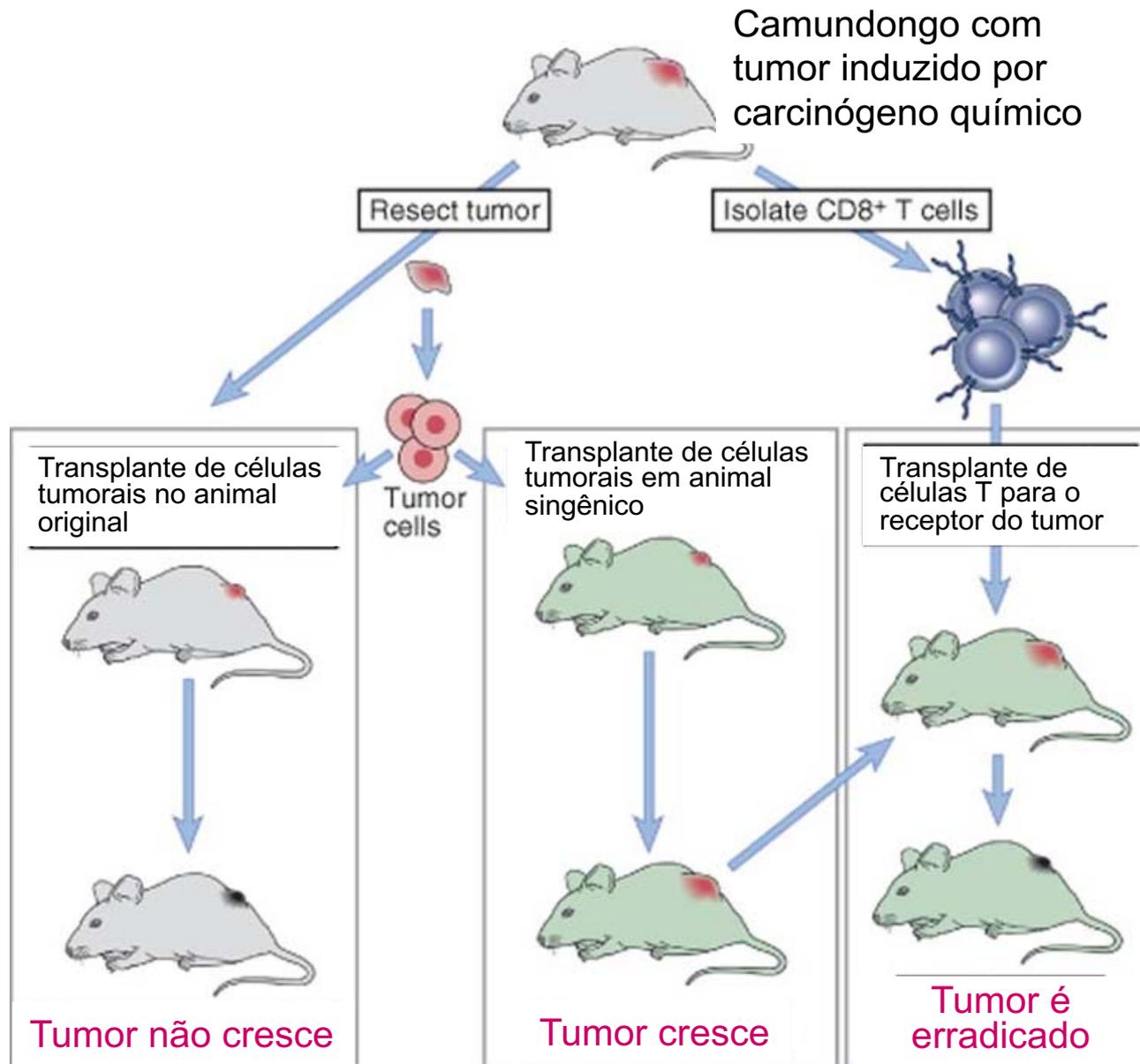
The Hallmarks of Cancer



IMUNOEDIÇÃO/EQUILÍBRIO E ESCAPE



Tumores podem disparar respostas imunes em seus “hospedeiros”



Muitos tumores expressam antígenos que podem servir como alvo específico para o sistema imune – antígenos tumorais

Célula normal apresenta vários antígenos próprios associados a MHC



Examples

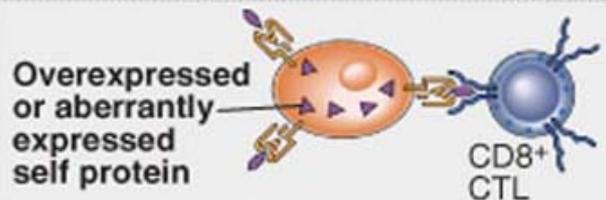


Proteínas mutadas em Tumores causados por Carcinógenos químicos Ou radiação, ex. melanomas

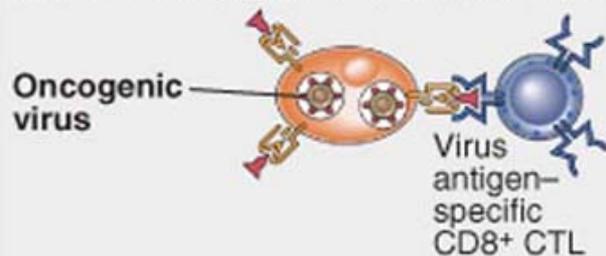


Produtos de oncogenes: Ras mutado, fusão Bcr/Abl Supressores de tumores: p53 mutada

Células tumorais apresentando diferentes tipos de antígenos tumorais

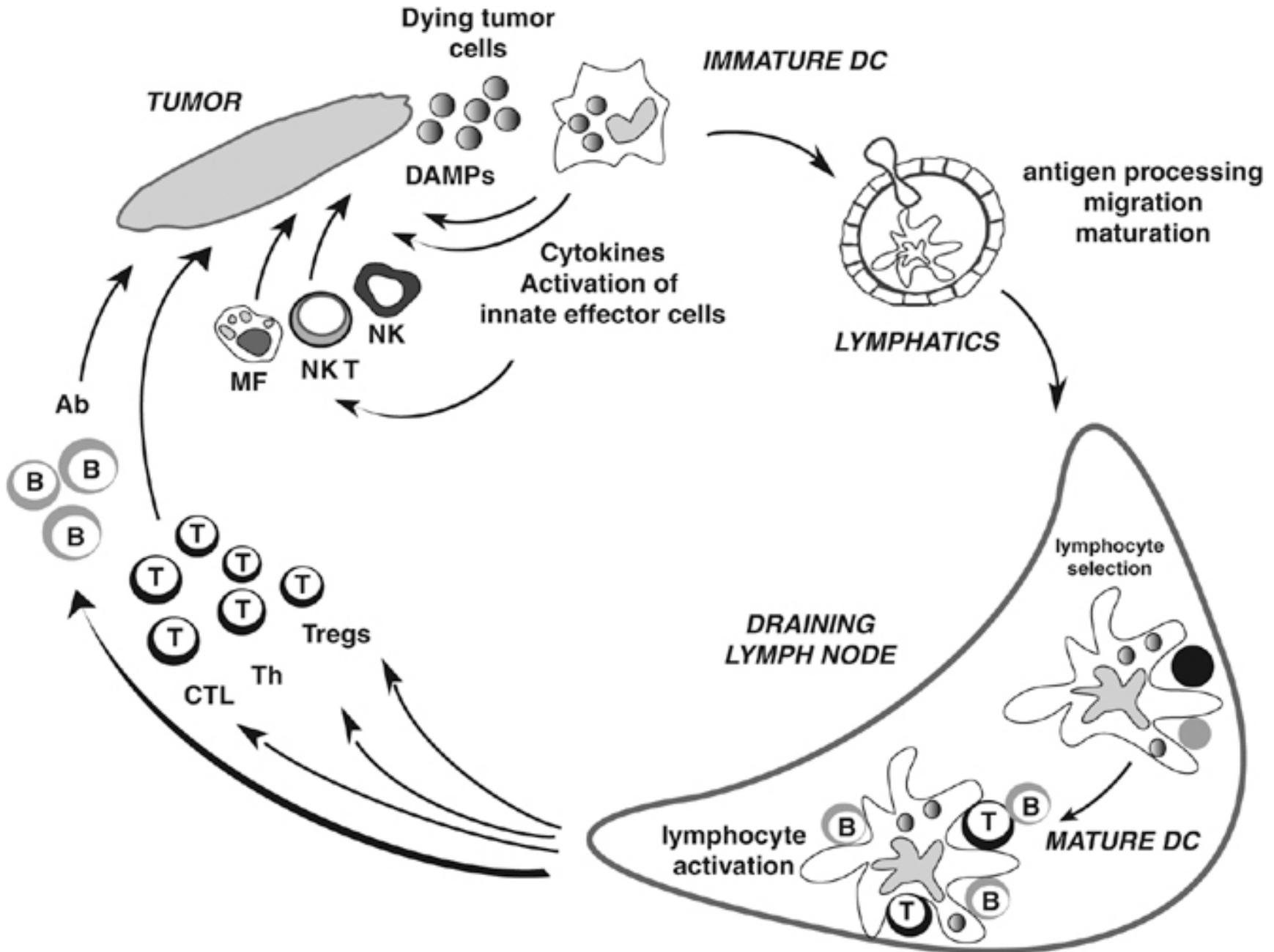


Superexpressão: tirosinase, gp100, MART em melanomas Expressão aberrante: antígenos CT – MAGE, BAGE

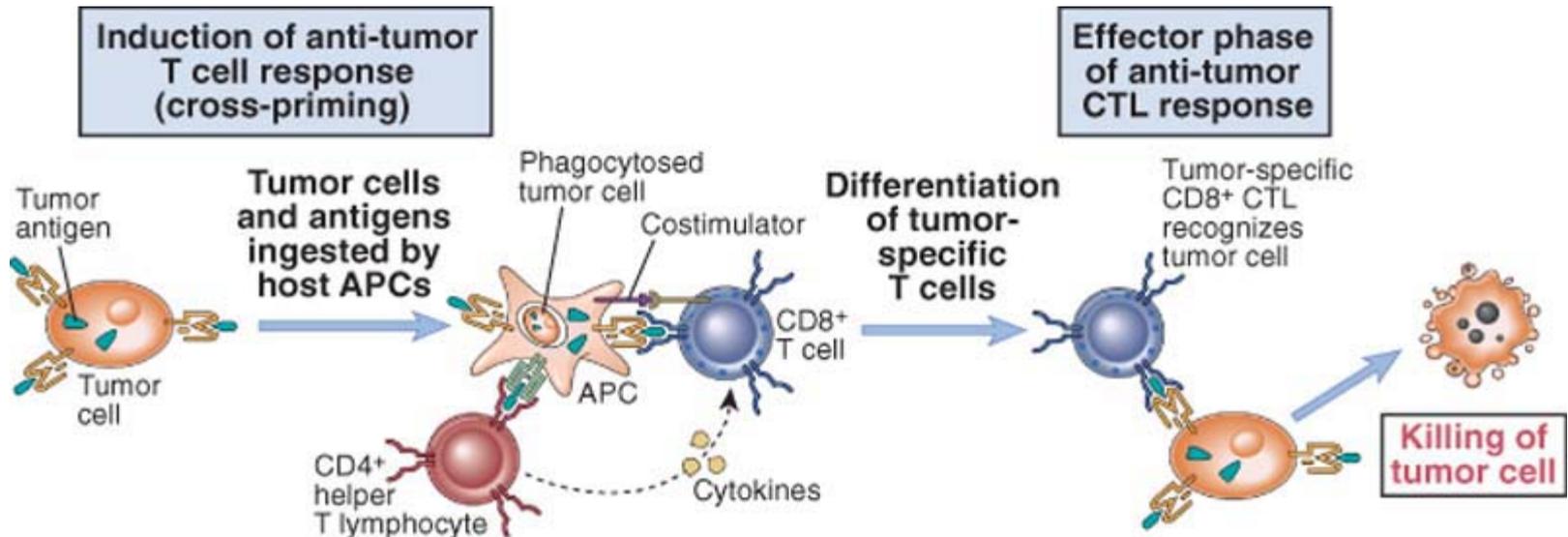


HPV proteínas E6 e E7, EBNA s em linfomas associados a EBV

Idealmente:

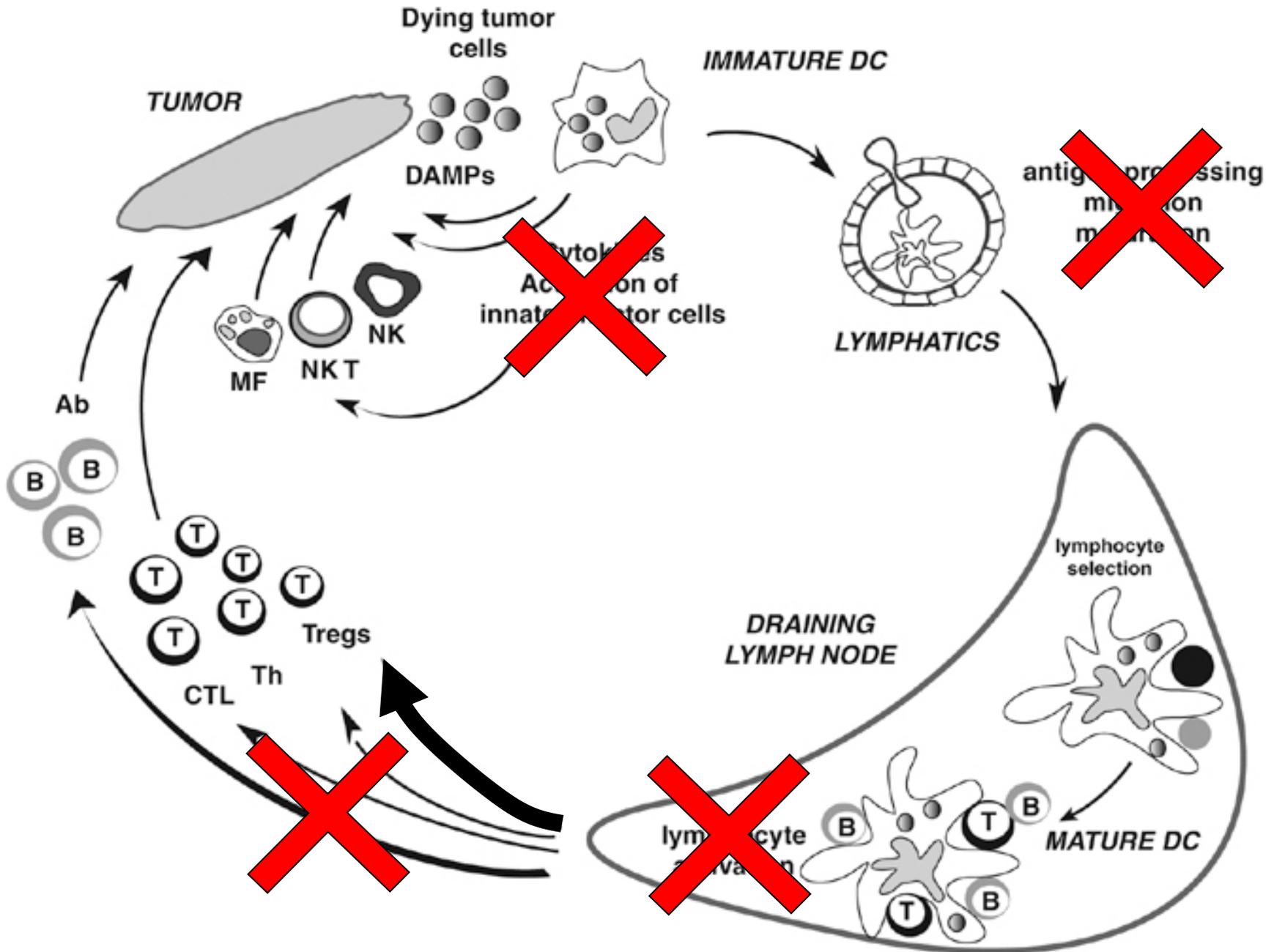


Respostas imunes contra células tumorais

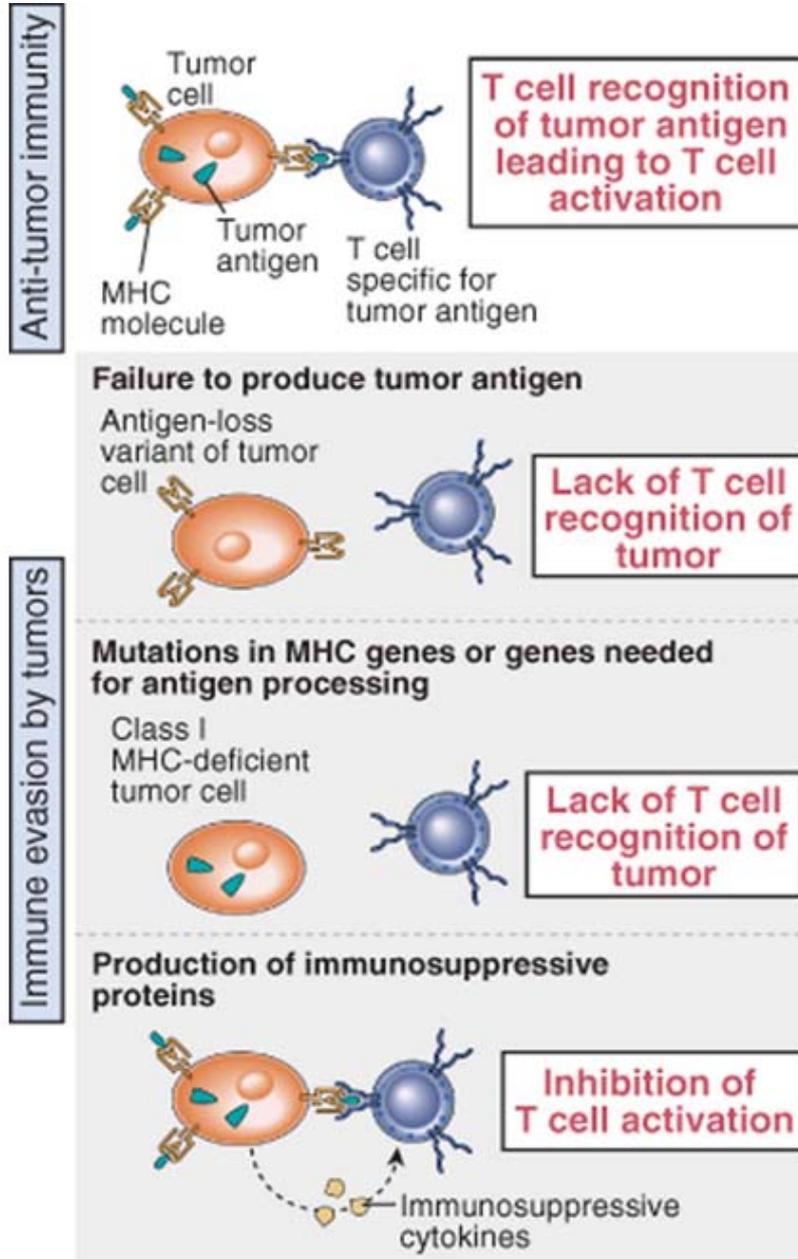


Abbas et al: Cellular and Molecular Immunology, Updated 6th Edition.
Copyright © 2009 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

Em pacientes com câncer:



Mecanismos de evasão



Situações onde o sistema imune é o causador da lesão precursora ou tem papel na progressão da doença

HCV – resposta ineficiente CTL (CD8) contra antígeno viral, levando à inflamação crônica no tecido hepático infectado

Colite crônica – infiltração da mucosa intestinal com macrófagos e células inflamatórias que levam a lesão do tecido, eventualmente a mutações

Tumores de pâncreas com mutação em ras – aumento do infiltrado inflamatório relacionado a pior prognóstico

Diversos tumores onde infiltração de células mielóides leva a aumento de angiogênese e supressão da resposta anti-tumoral