



Curso de Farmacia
Disciplina BMI0165 - Imunologia Basica



Imunidade inata & inflamação

Profa. Dra. Alessandra Pontillo

Lab. Imunogenetica/Dep. Imunologia/ICB/USP

Imunidade inata

- pronta para atuar frente a um desafio
- “antiga” (plantas-invertebrados-vertebrados)

Barreiras anatômicas (físicas, químicas)

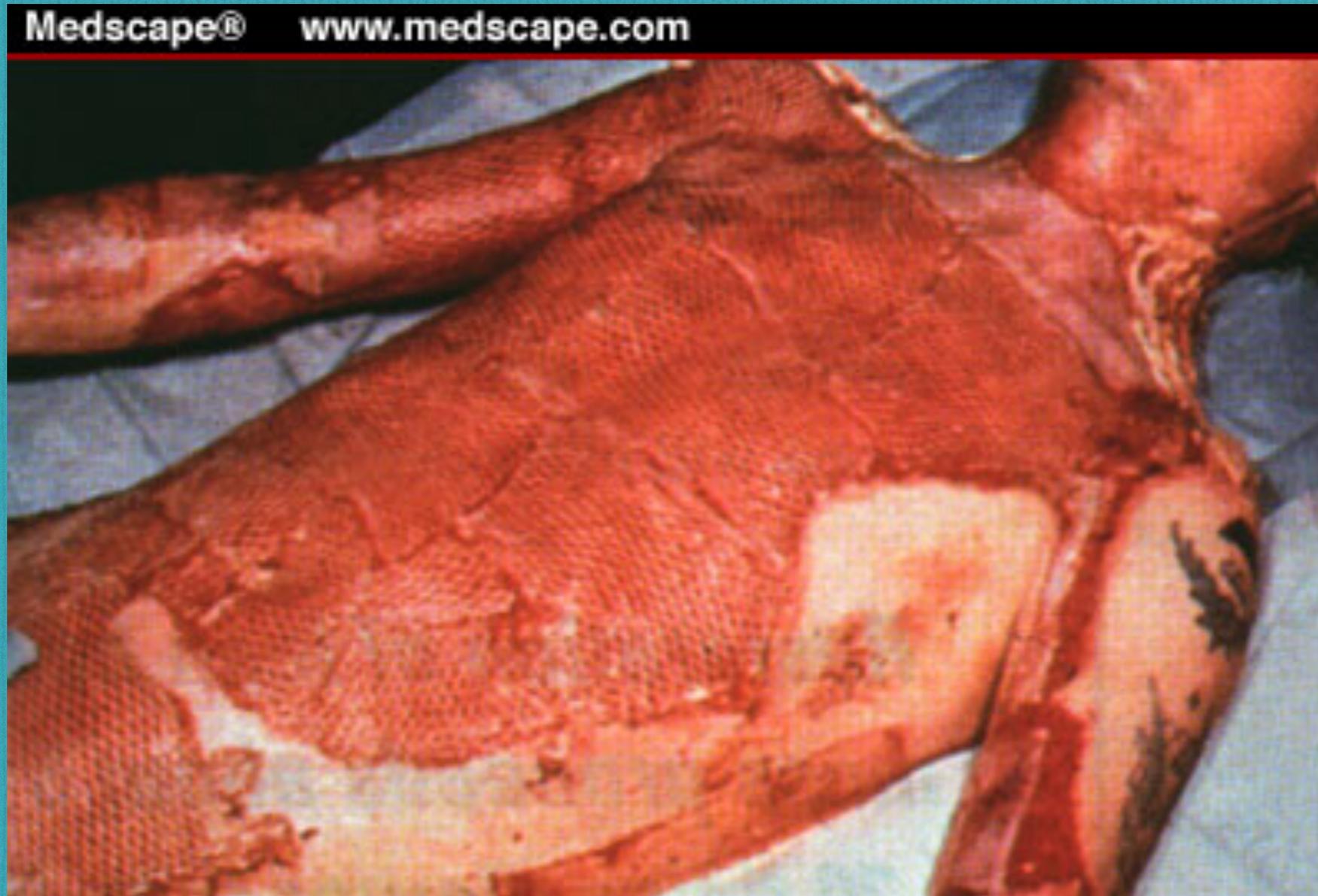
Células da imunidade inata

Moléculas solúveis

Barreiras anatômicas

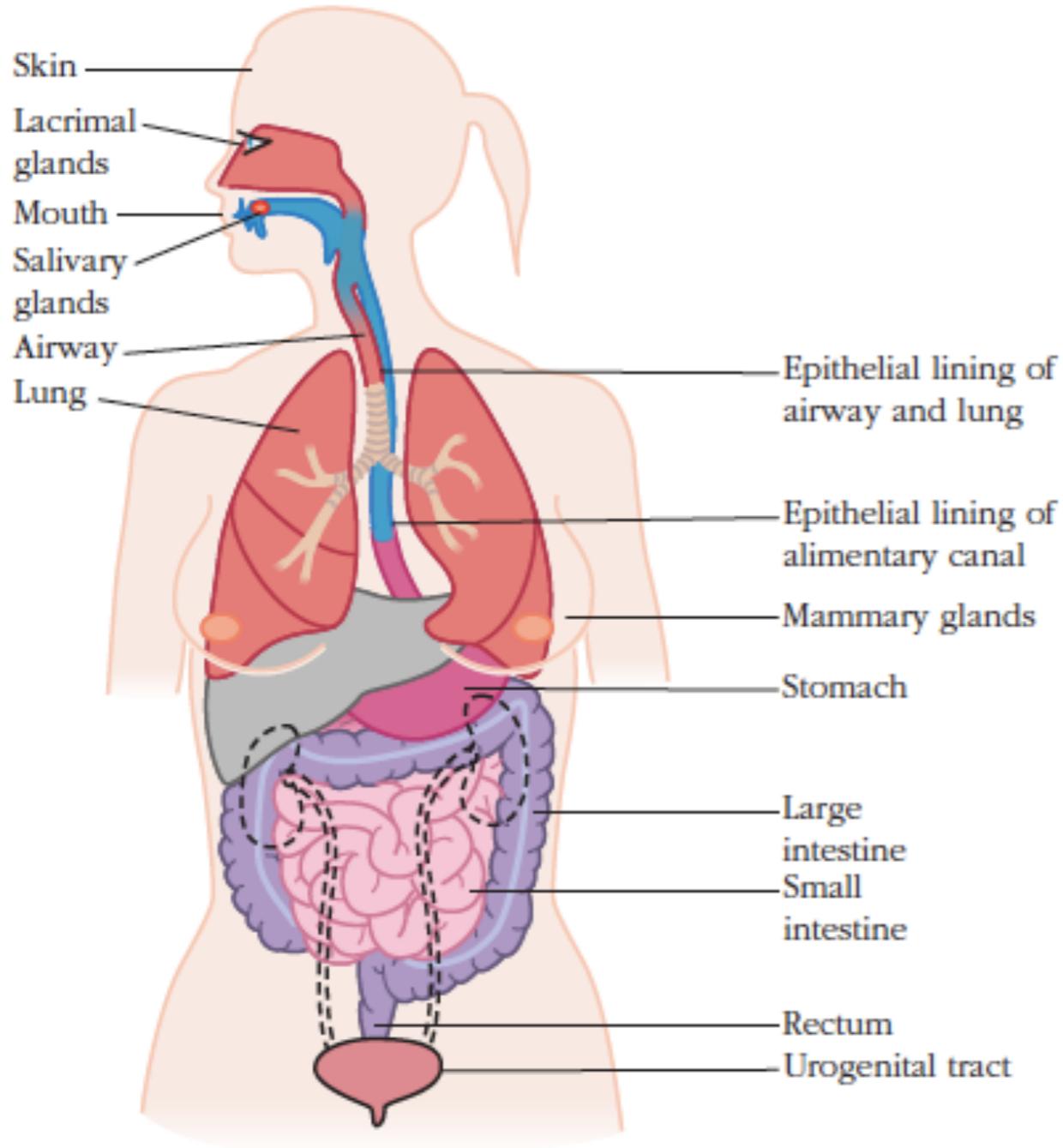
- 1 linha de defesa
- Físicas: epitélios de pele e mucosas (preveem entrada de patógenos/agentes perigosos)
- Químicas: pH (ácido) & substâncias solúveis com atividade microbicida

Barreiras anatômicas: protegem mesmo?



Do que more um paciente com ustiaio grave?

Barreiras anatômicas

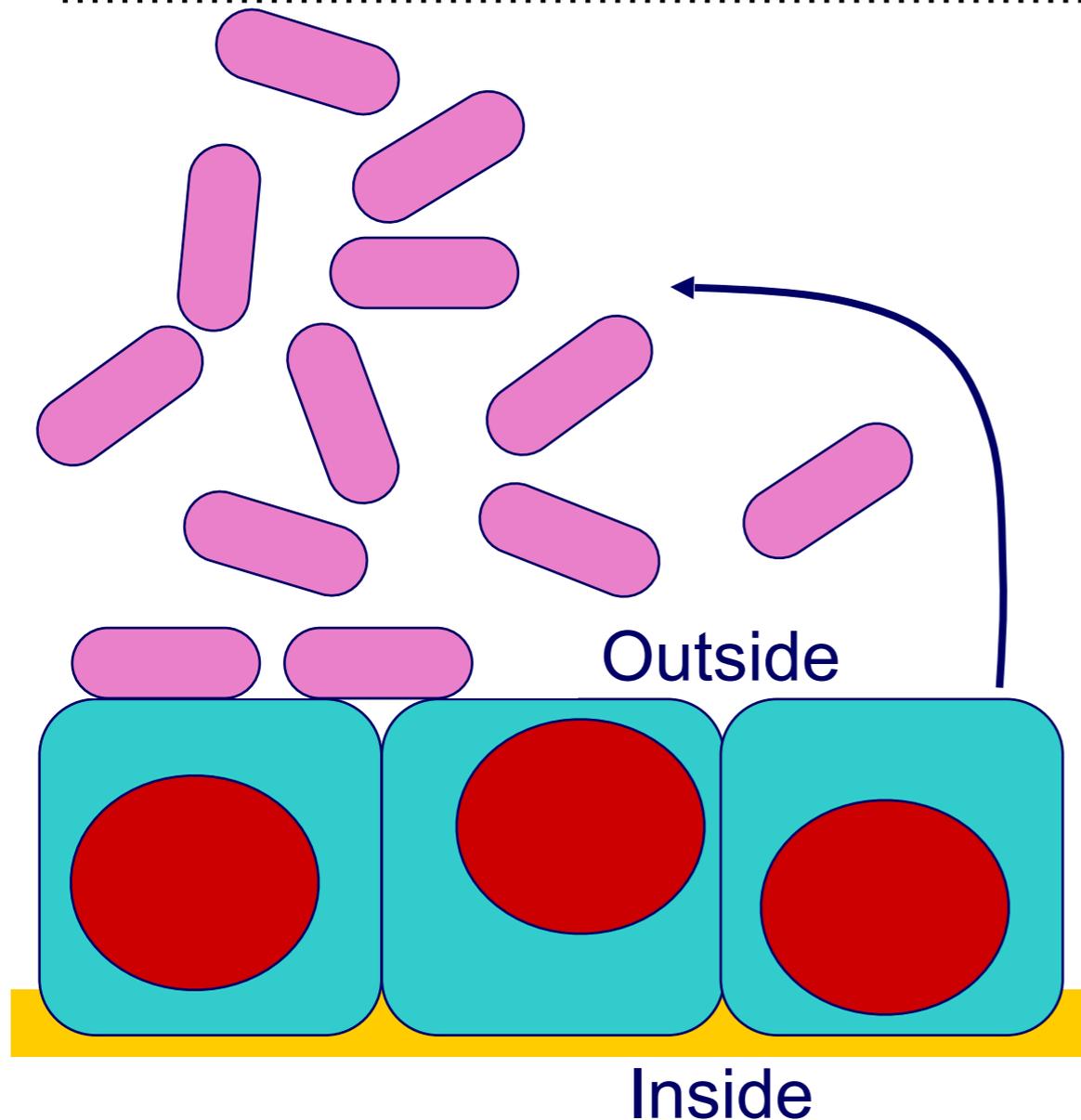


Organ or tissue	Innate mechanisms protecting skin/epithelium
Skin	Antimicrobial peptides, fatty acids in sebum
Mouth and upper alimentary canal	Enzymes, antimicrobial peptides, and sweeping of surface by directional flow of fluid toward stomach
Stomach	Low pH, digestive enzymes, antimicrobial peptides, fluid flow toward intestine
Small intestine	Digestive enzymes, antimicrobial peptides, fluid flow to large intestine
Large intestine	Normal intestinal flora compete with invading microbes, fluid/feces expelled from rectum
Airway and lungs	Cilia sweep mucus outward, coughing, sneezing expel mucus, macrophages in alveoli of lungs
Urogenital tract	Flushing by urine, aggregation by urinary mucins; low pH, anti-microbial peptides, proteins in vaginal secretions
Salivary, lacrimal, and mammary glands	Flushing by secretions; anti-microbial peptides and proteins in vaginal secretions

Skin & Mucous membranes

rapidly regenerating surfaces, peristaltic movement, mucociliary escalator, vomiting, flow of urine/tears, coughing

Primeira linha de defesa: epitelios



Primary role is to block the entry of microorganisms

Functions within seconds of contacting a pathogen

A mechanical, selectively permeable barrier between the 'outside' and 'inside'

Produce natural antibiotics - cationic antibacterial peptides - defensins and cathelicidins

May possess motile cilia

Rapidly renewable

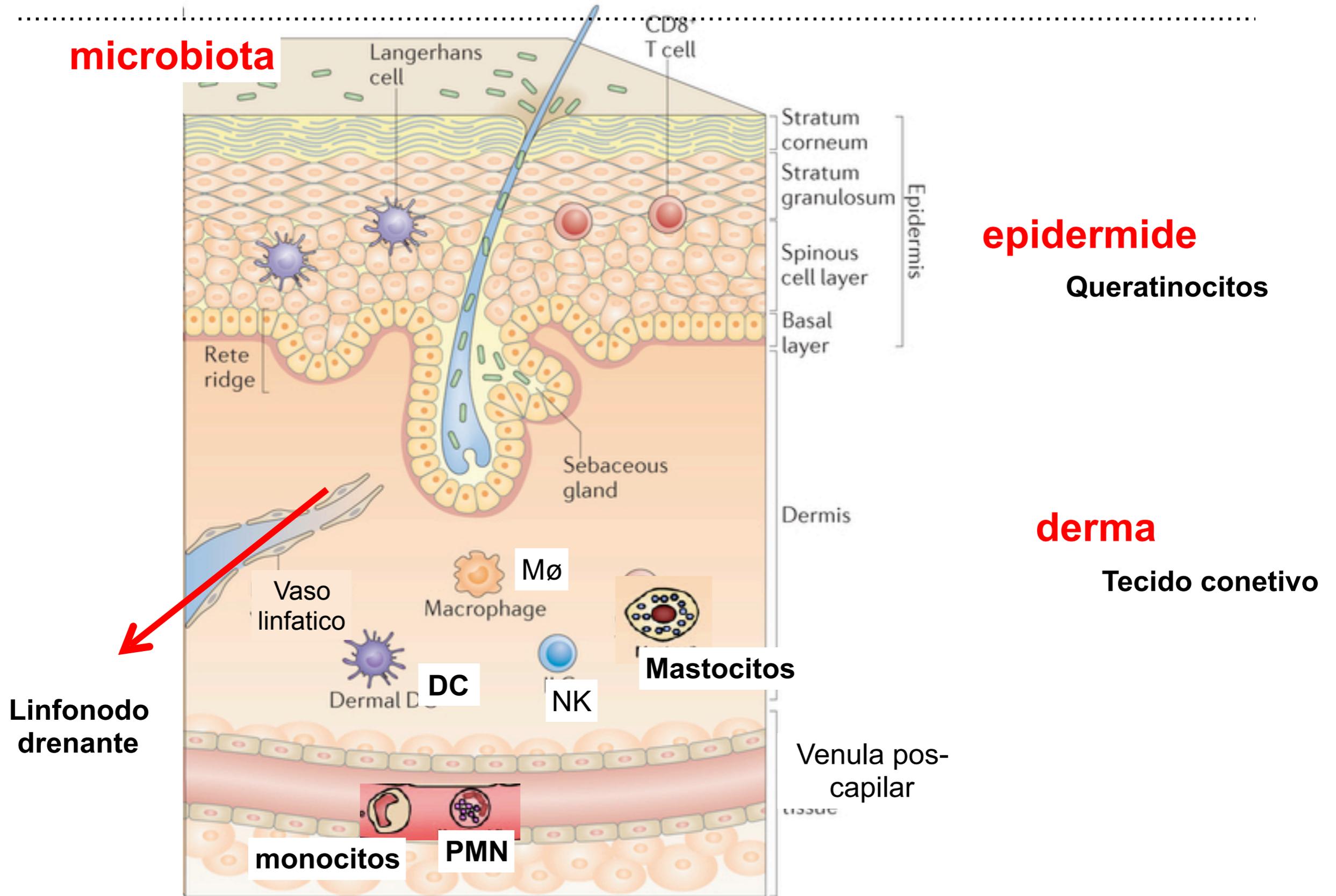
Produce cytokines - proteins that alter the behaviour of other cells

Produce chemokines - proteins that attract other cells

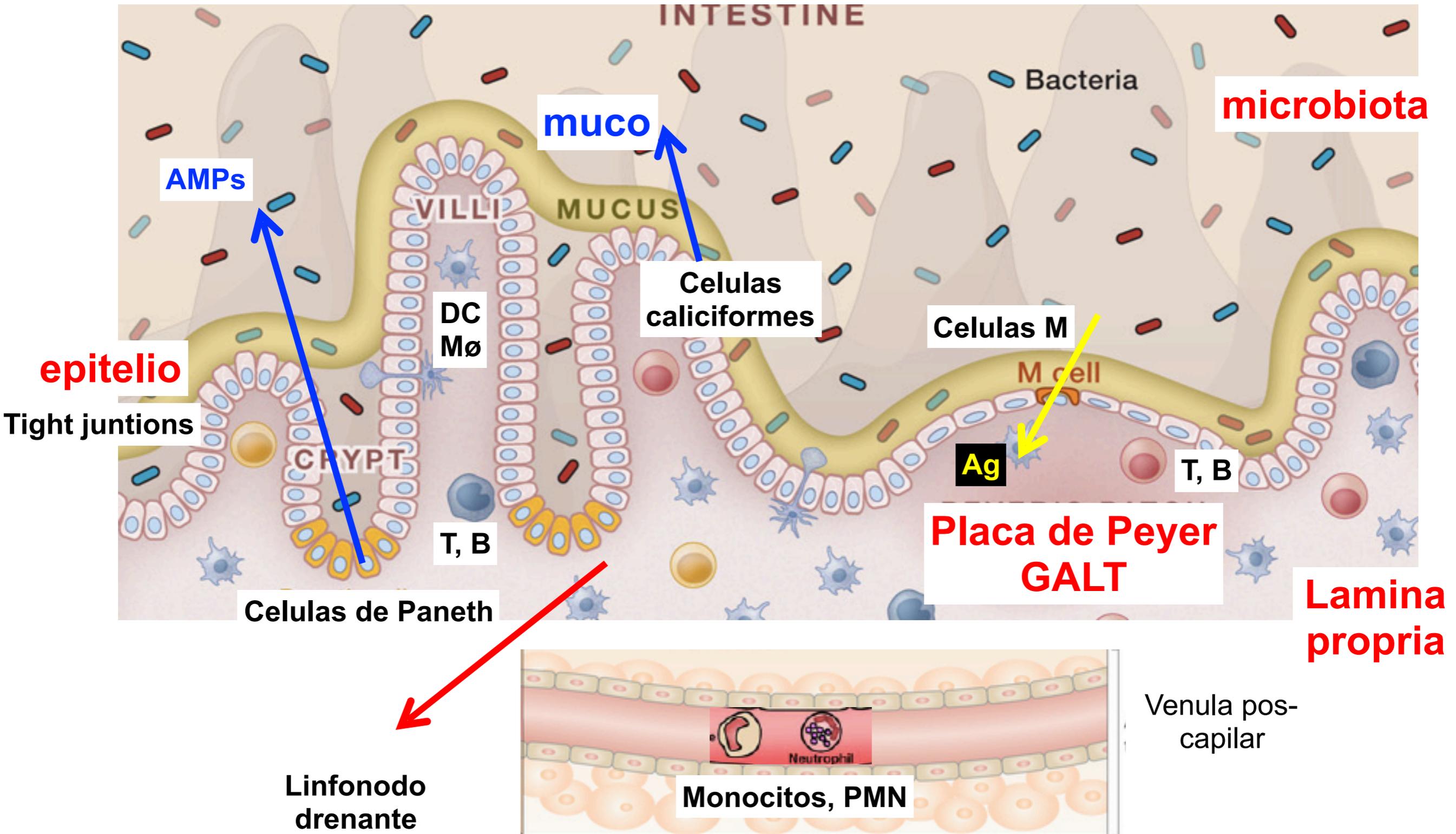
May produce mucins

Transport antibodies from 'inside' to 'outside'

Pele



Mucosa



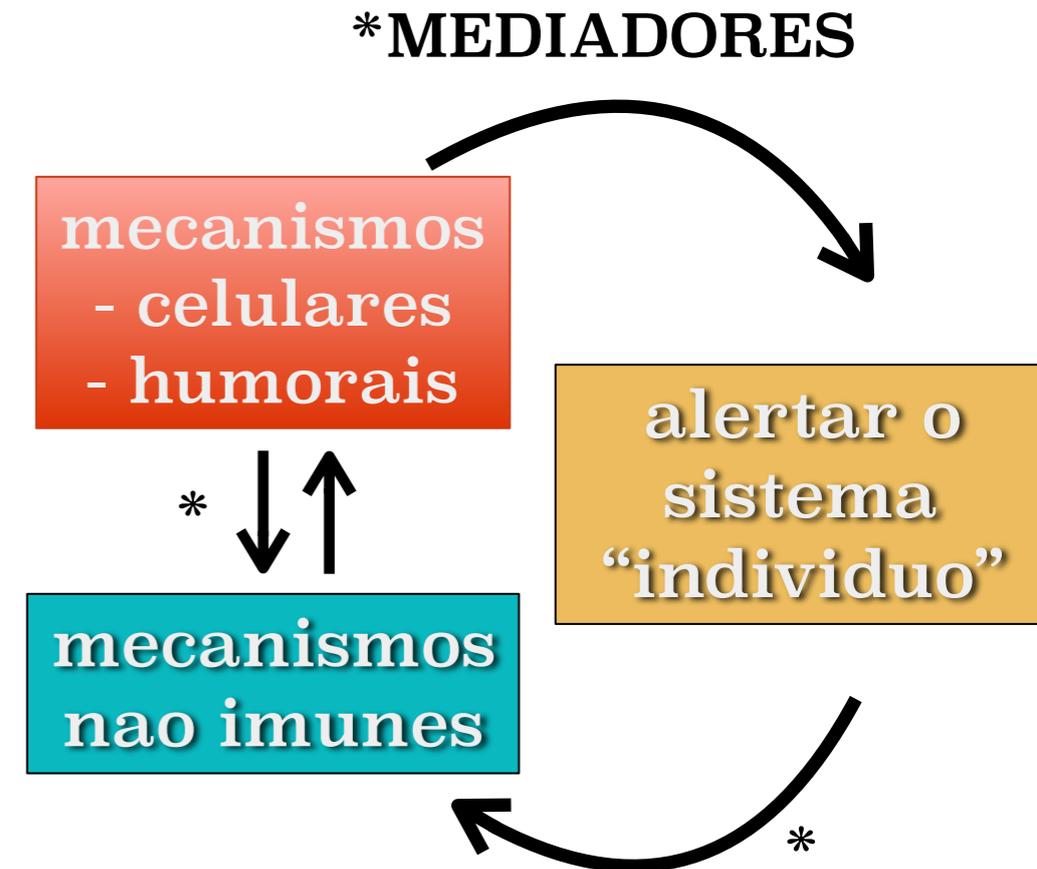
Moleculas antimicrobianas

TABLE 5-2 Some human antimicrobial proteins and peptides at epithelial surfaces

Proteins and peptides*	Location	Antimicrobial activities
Lysozyme <i>Enzima glicolitico</i>	Mucosal/glandular secretions (e.g., tears, saliva, respiratory tract)	Cleaves glycosidic bonds of peptidoglycans in cell walls of bacteria, leading to lysis
Lactoferrin <i>Prroteina sequestra Fe</i>	Mucosal/glandular secretions (e.g., milk, intestine mucus, nasal/respiratory and urogenital tracts)	Binds and sequesters iron, limiting growth of bacteria and fungi; disrupts microbial membranes; limits infectivity of some viruses
Secretory leukocyte protease inhibitor	Skin, mucosal/glandular secretions (e.g., intestines, respiratory, and urogenital tracts, milk)	Blocks epithelial infection by bacteria, fungi, viruses; antimicrobial
S100 proteins, e.g.: - psoriasin S100A7 - calprotectin S100A8/A9 <i>Proteinas baixo PM</i>	Skin, mucosal/glandular secretions (e.g., tears, saliva/tongue, intestine, nasal/respiratory and urogenital tracts)	- Disrupts membranes, killing cells - Binds and sequesters divalent cations (e.g., manganese and zinc), limiting growth of bacteria and fungi
Defensins (α and β) <i>AMPs</i>	Skin, mucosal epithelia (e.g., mouth, intestine, nasal/respiratory tract, urogenital tract)	Disrupt membranes of bacteria, fungi, protozoan parasites, and viruses; additional toxic effects intracellularly; kill cells and disable viruses
Cathelicidin (LL37)** <i>AMPs</i>	Mucosal epithelia (e.g., respiratory tract, urogenital tract)	Disrupts membranes of bacteria; additional toxic effects intracellularly; kills cells.
Surfactant proteins SP-A, SP-D <i>Lectinas/receptores soluveis</i>	Secretions of respiratory tract, other mucosal epithelia	Block bacterial surface components; promotes phagocytosis

Resposta imune inata

1. Reconhecimento
2. Resposta (SIM/NAO)
3. Eliminação da origem do dano
4. Volta a normalidade (homeostasia)



***MEDIADORES: moléculas solúveis**

citocinas: modulam comportamento de outras células (local, sistêmico)

quimiocinas: recrutam outras células imunes

mediadores lipídicos: modulam comportamento de outras células (músculo, leucócitos, endotélio)

COMO O SISTEMA IMUNE DISTINGUE PATOGENOS E TECIDOS PROPRIOS E MICROBOS NAO PATOGENICOS?

Most microorganisms do not cause disease in humans

Pathogens

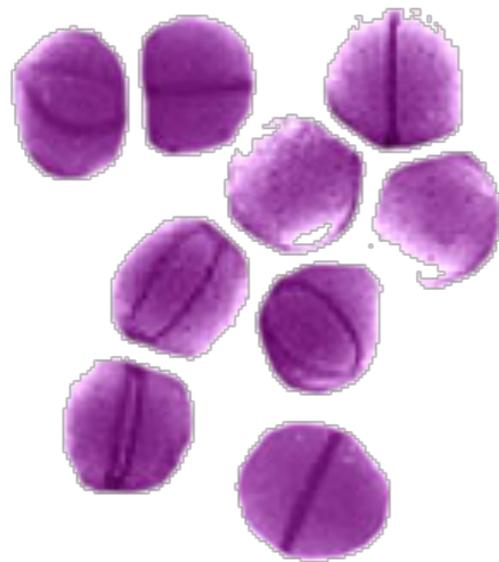
Disease - causing organisms

Protozoa, Bacteria, Viruses, Fungi, Worms etc

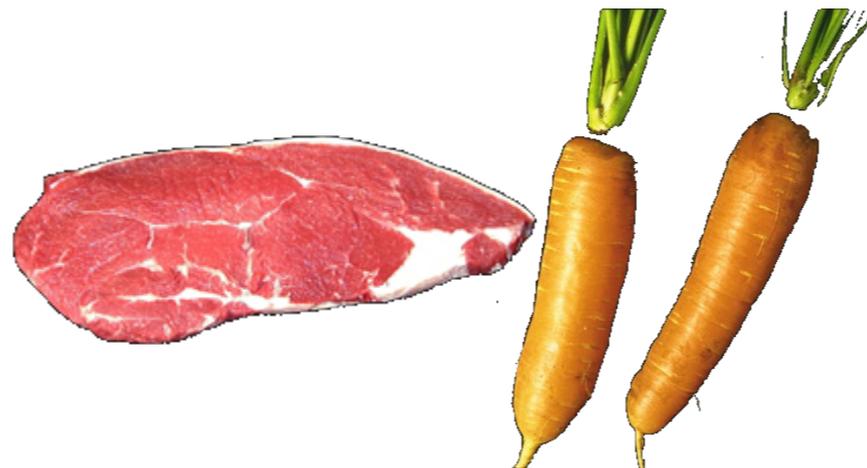


TANTO OS HOSPEDEIROS QUE OS PATOGENOS SAO FEITOS DE PROTEINAS, CARBOIDRADOS, LIPIDIOS, ACIDOS NUCLEICOS.....

COMO O SISTEMA IMUNE DISTINGUE ENTRE “O QUE é BOM” E “O QUE é RUIM”?



What about the non-self proteins of commensals and symbionts?



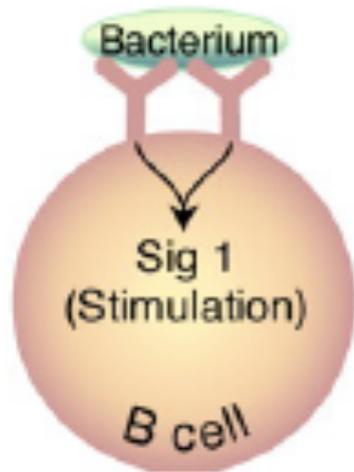
What about the non-self proteins in food?



What about the non-self proteins from microorganisms in food?

MODELOS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA IMUNE

Self-non self



a) 1959, original SNS model said that lymphocytes are activated by recognition of foreign things.

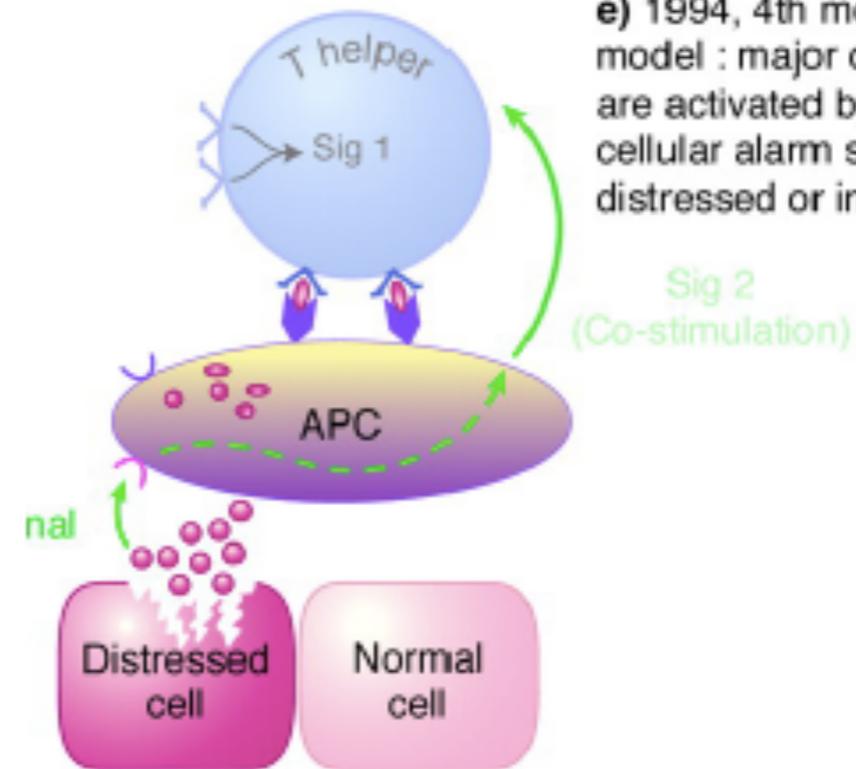
+ **F. M. Burnet. seleção clonal**
Deleção clones autoreativos

Resposta imune acontece quando o S.I. encontra “algo de fora”

Mas...

- Aquele que respiramos, comemos?*
- Microbiota?*
- O self muda ao longo da vida*
- Porque precisamos de adjuvantes?*
- porque mãe não rejeita feto?*

Danger model



e) 1994, 4th modification (Danger model : major change) APCs are activated by endogenous cellular alarm signals from distressed or injured cells.

Resposta imune acontece quando o S.I. encontra um “perigo” (alarme) independentemente se “de fora” o “de dentro” (a resposta depende do tecido)

Reconhecimento

SISTEMA IMUNE INATO



PRRs



PADRÕES MOLECULARES
(PAMPs, DAMPs)



receptores das
células NK

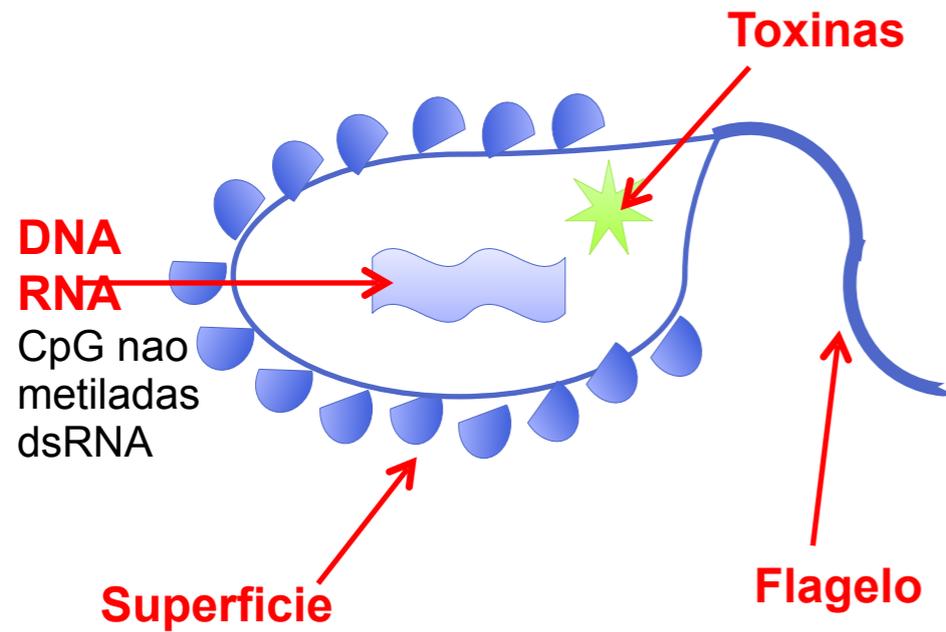


CÉLULAS PRÓPRIAS ALTERADAS
(infecções intracelulares, oncogênese)

PAMPs & DAMPs

PAMPs

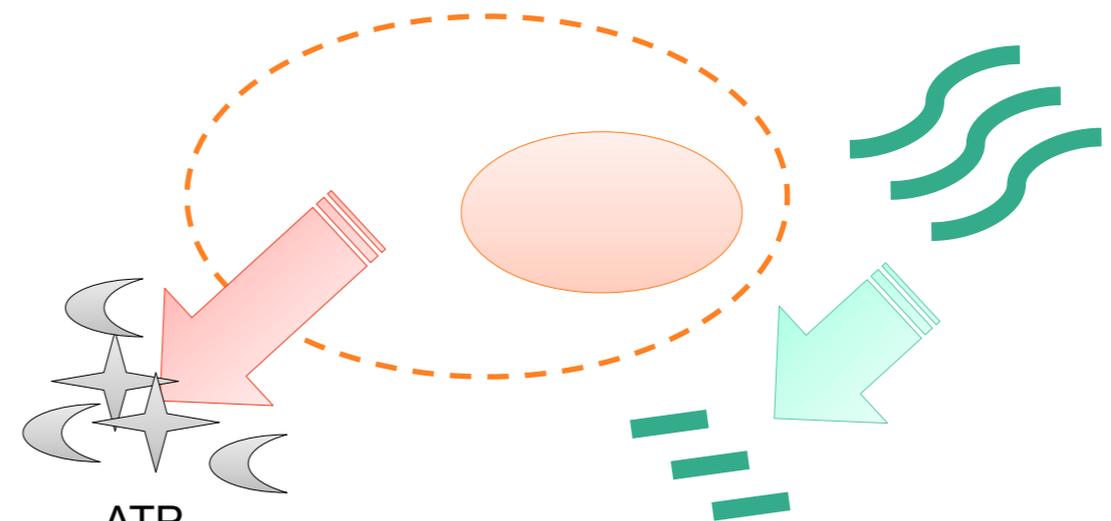
Moléculas ou porções de moléculas do microrganismo que não existem no hospedeiro. Essenciais para sobrevivência ou patogenicidade



- Lipopolisacarídeo (LPS)
- Peptidoglicano (PG)
- Ácido Lipoteicoico (LTA)
- Mannosio terminal nas glicoproteínas
- Proteínas do envelope viral
- Zymosan (fungo)
- Profilina (T gonodii)

DAMPs

Moléculas do hospedeiro (endógenas) produzidas por células danificadas/mortas ou produtos de degradação de proteínas (celular ou extracelular)



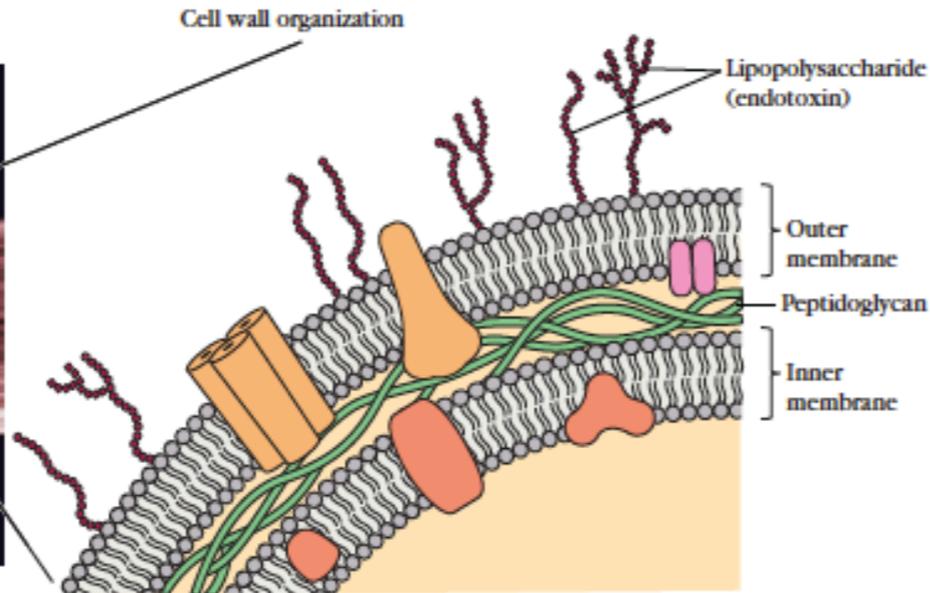
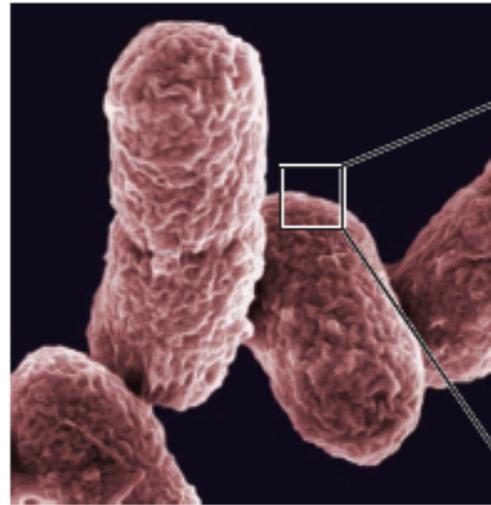
- ATP
- DNA/RNA
- Ácido urico
- HMGB1
- HSP
- Metabolic intermediates
- High Cholesterol
- High Glucose
- β-amiloid

- Heparansulfato
- Hialuronano

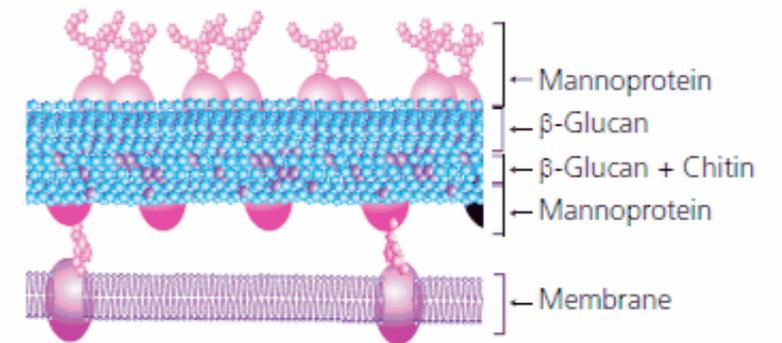
PAMPs & DAMPs

O microbo carrega multiplos PAMPs

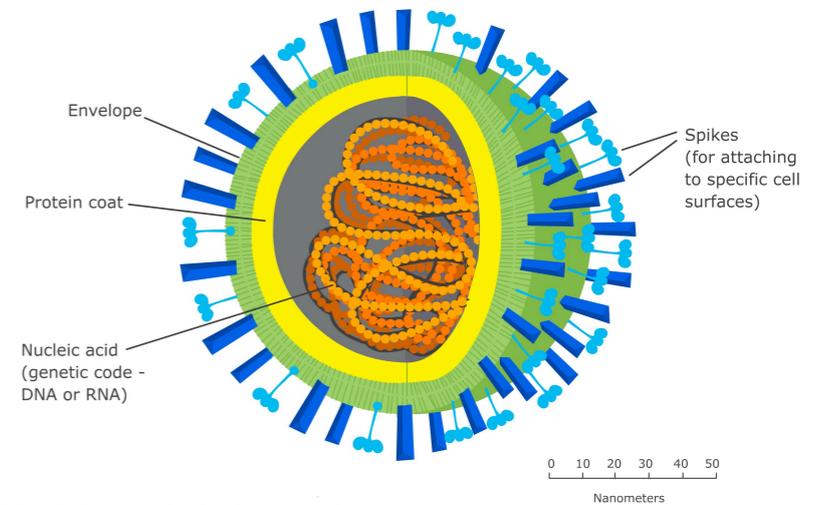
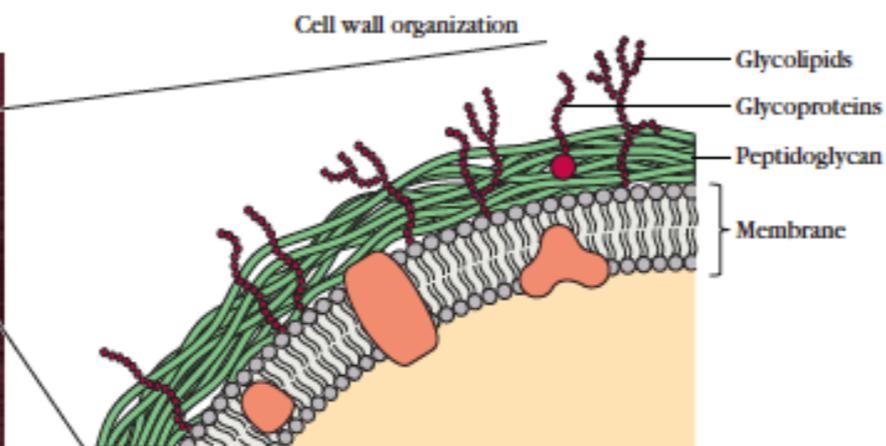
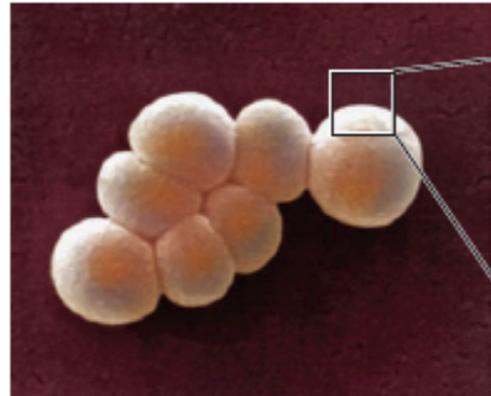
(a) Gram negative bacteria
E. coli



Yeast Cell Wall



(b) Gram positive bacteria
S. aureus

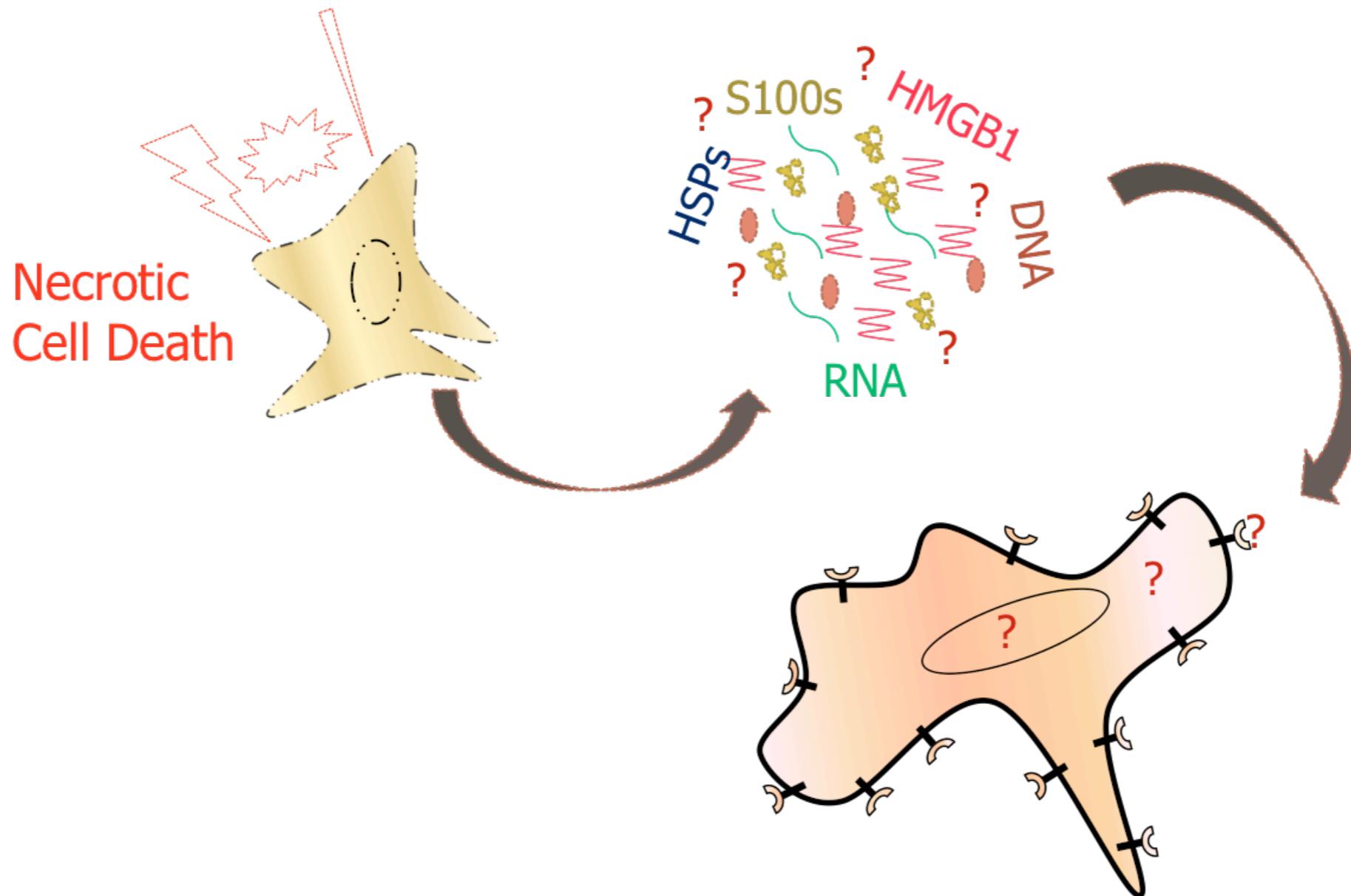


© 2007-2010 The University of Waikato | www.sciencelearn.org.nz

Pode gerar dano (DAMPs)
(Exclusivo de organismos patogênicos!)

PAMPs & DAMPs

O dano/stress pode gerar múltiplos DAMPs



VAMPs: venom-associated molecular patterns

ACAMPs: apoptotic cells molecular patterns (fosfatidilserina, anexina)

Dano, morte & ativação do S.I.



Staphylococcal
infection

Sunburnt skin

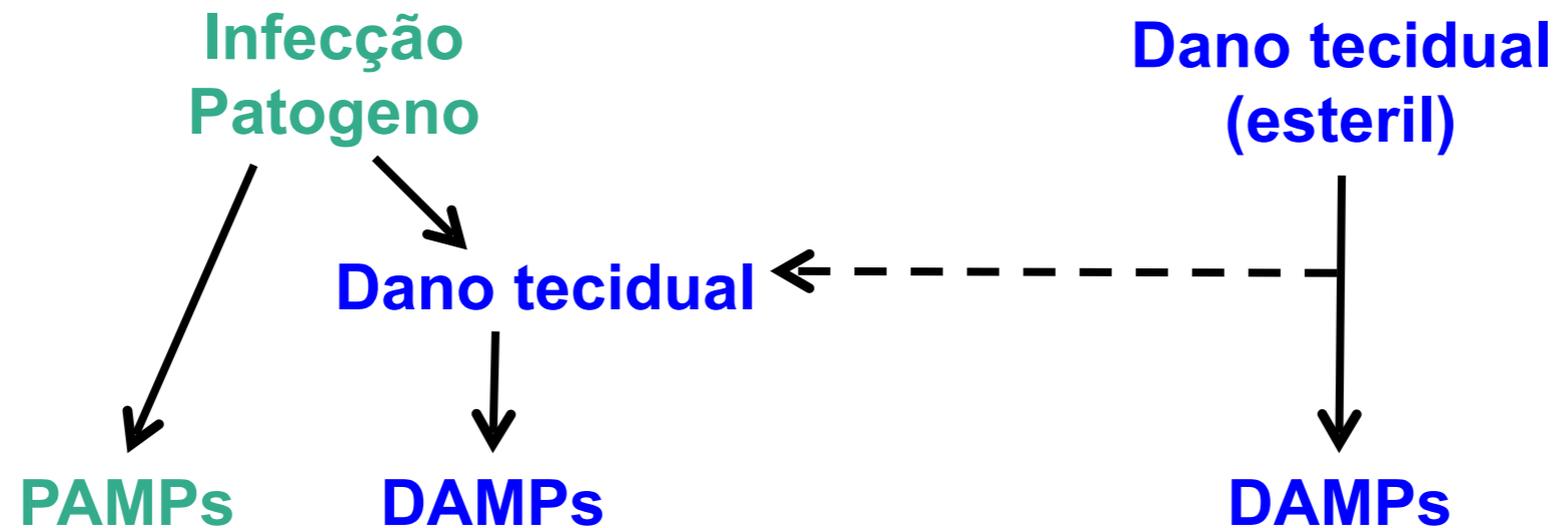
Burns cause skin cells to die prematurely by a non-programmed mechanism leading to inflammation



DANO —> MORTE —> resposta imune / inflamação

MORTE....qual tipo?
“necrose” versus “apoptose”

Reconhecimento por PRRs



Sistema imune inato = “orgao de percepção”

Reconhecimento feito por quase todas as celulas somaticas

Receptores de reconhecimento de padroes: PRRs

Receptores de Reconhecimento de PAMPs/DAMPs

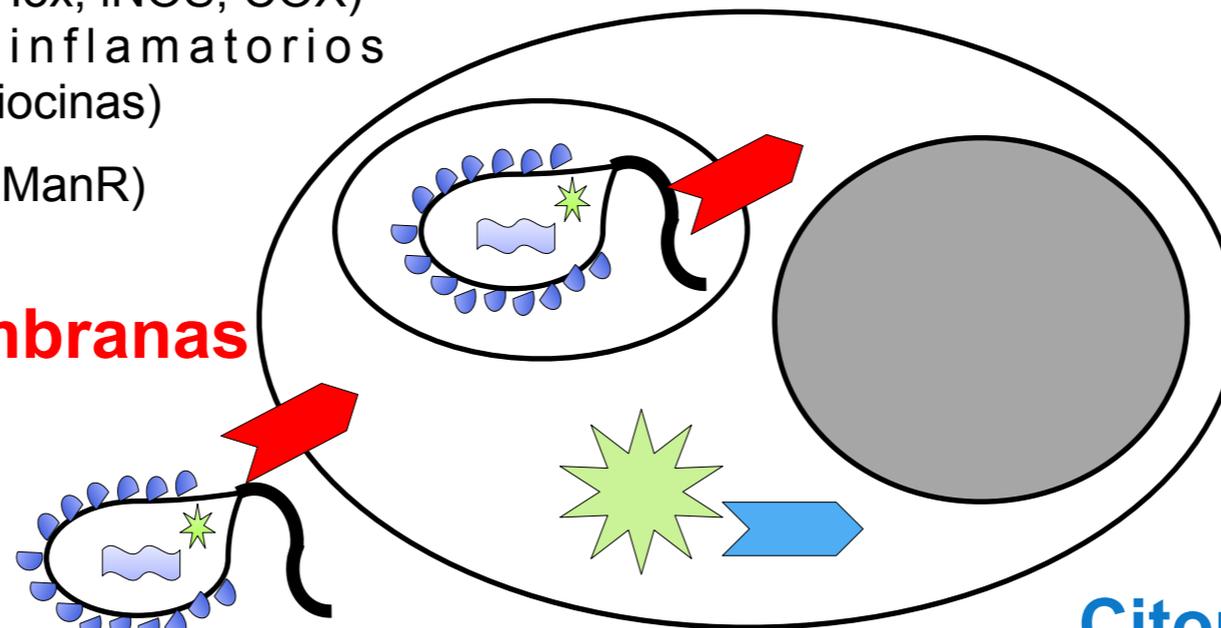
PRRs

(TLRs) **Induzem ativação/transcrição de**

- Moléculas antimicrobianas
- Enzimas (NADPHox, iNOS, COX)
- Mediadores inflamatórios (Citocinas, Quimiocinas)

Medeiam a fagocitose (ManR)

Associados a membranas



Solúveis/Secretados ("tag")

produzidos pelo fígado (cel. imunes)

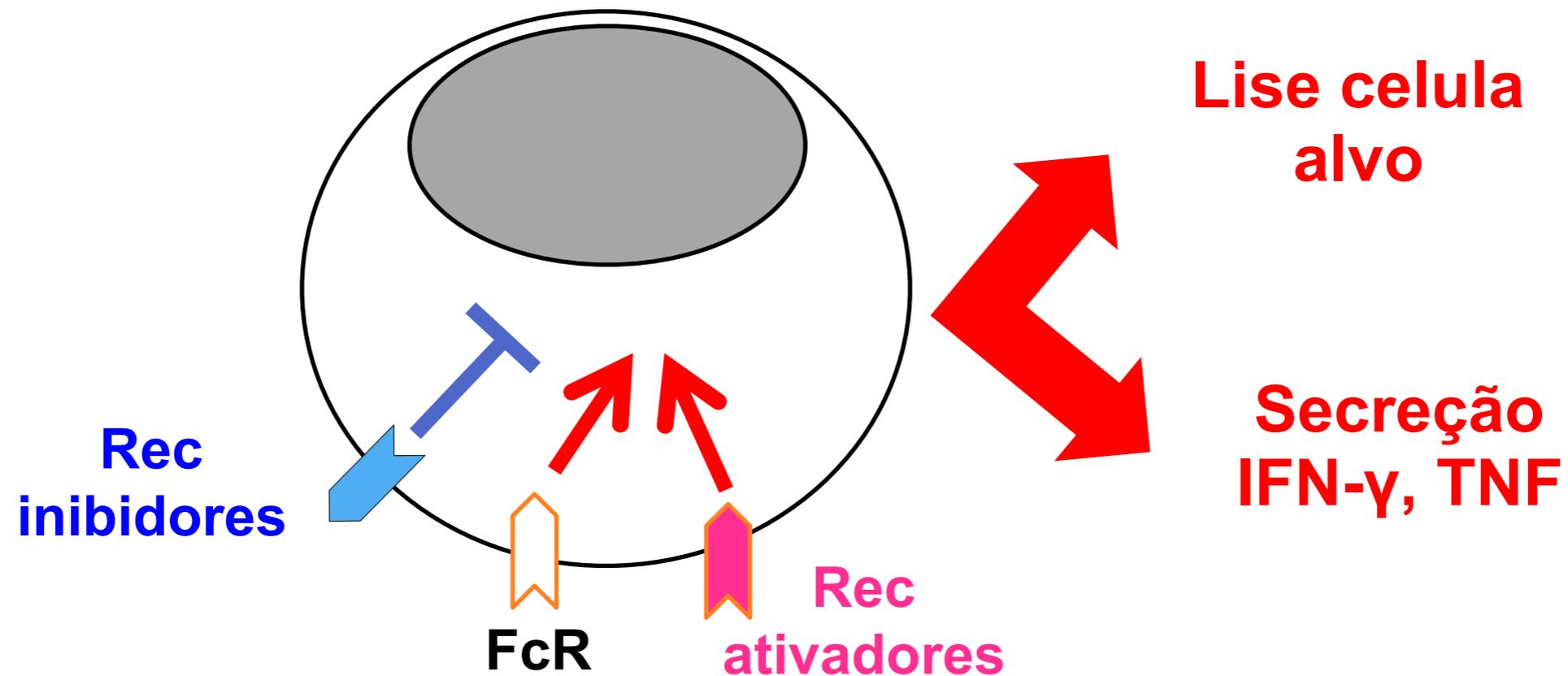
- S. Complemento (C1-C9)
- Collectinas (MBL), pentraxinas (PCR, SAA)

Citoplasmáticos

Induzem ativação/transcrição de

- Moléculas antimicrobianas
- **IFN- β**
- Enzimas (iNOS)
- Mediadores inflamatórios (Citocinas, Quimiocinas)

Reconhecimento por NK



Receptores de células danificadas/infectadas

- **Inibidores** reconhecem ligandos nas células saudáveis
- *Rec Inib para MHC-I*
- **Ativadores** reconhecem ligandos nas células danificadas/infectadas
- **FcγR** ligam AC (ADCC)

Imunidade inata celular

- Quando as barreiras são ultrapassadas
- **Fagocitos** (macrófagos, neutrófilos) rapidamente internalizam e digerem micróbios/material extracelulares
- **Granulócitos** (eosinófilos, mastócitos) desgranulam conteúdo antimicrobiano e imunomodulador (e histamina)
- **Células NK** induzem apoptose nas células próprias alteradas
- **Células dendríticas** carregam antígenos e migram até linfonodos

Ação efetora dos fagocitos

- Fagocitose & Killing
- Produção de mediadores
- Capacidade de fagocitose aumentada na presença de **OPSONINAS** (C3b, anticorpos)
- Killing aumentado na presença de IFN- γ
- Resolução da inflamação (macrofagos)

Fagocitose

Medeiam a fagocitose (ManR)

1 reconhecimento

PRRs

(TLRs) **Induzem ativação/transcrição de**

- Moléculas antimicrobianas
- Enzimas (NADPHox, iNOS, COX)
- Mediadores inflamatórios (Citocinas, Quimiocinas)

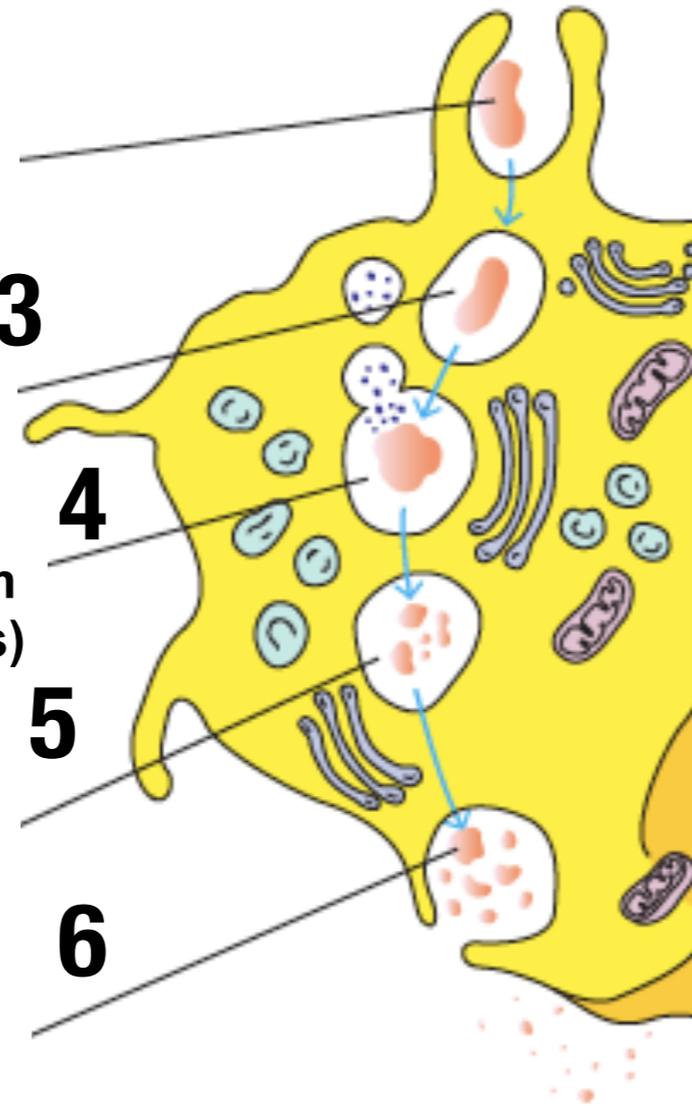
2
A bactéria é reconhecida e “presa” pelos pseudopodia

3
A bactéria é ingerida (FAGOSOMA)

4
O fagosoma se funde com os lisossomos (em PMN, tbm com granulos)

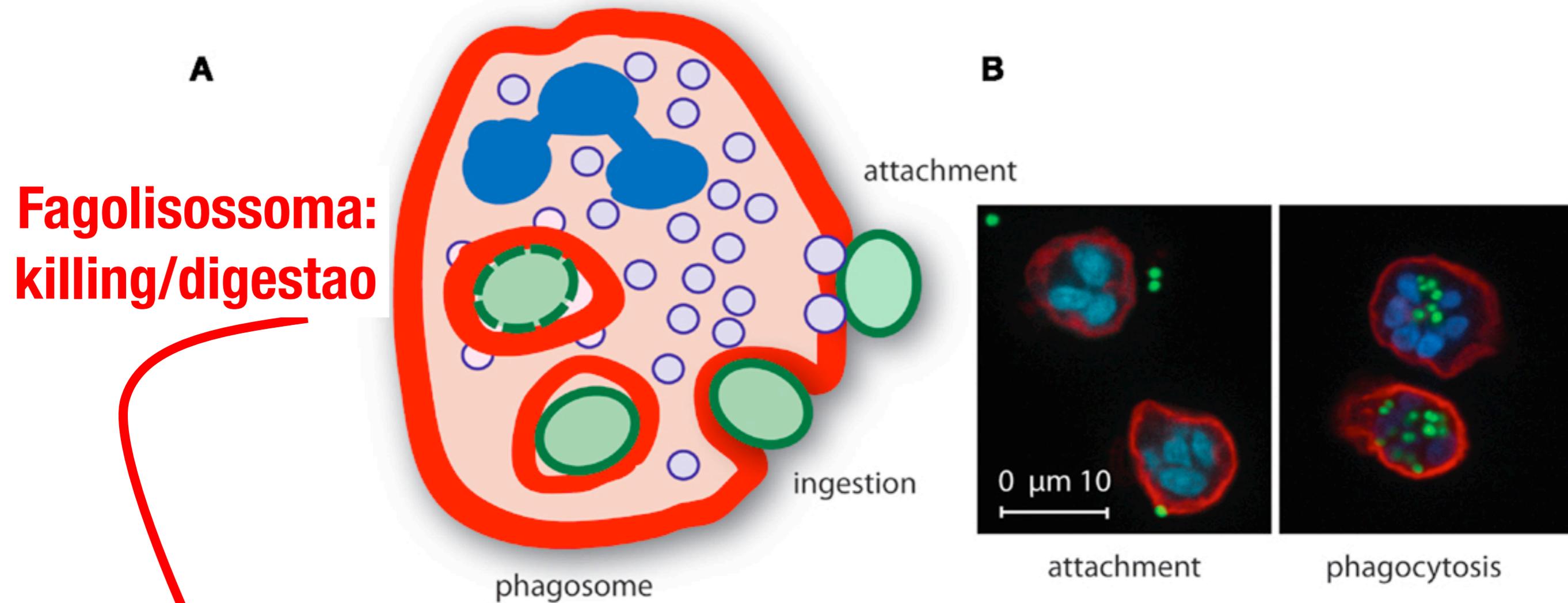
5
DIGESTAO/KILLING no FAGOLISSOSOMA

6
Produtos da digestao são liberados por exocitose ou “apresentados”



**“comer” partículas
(patógenos extracelulares,
células mortas, material)
para elimina-las**

Fagocitose



**Fagolisossoma:
killing/digestao**

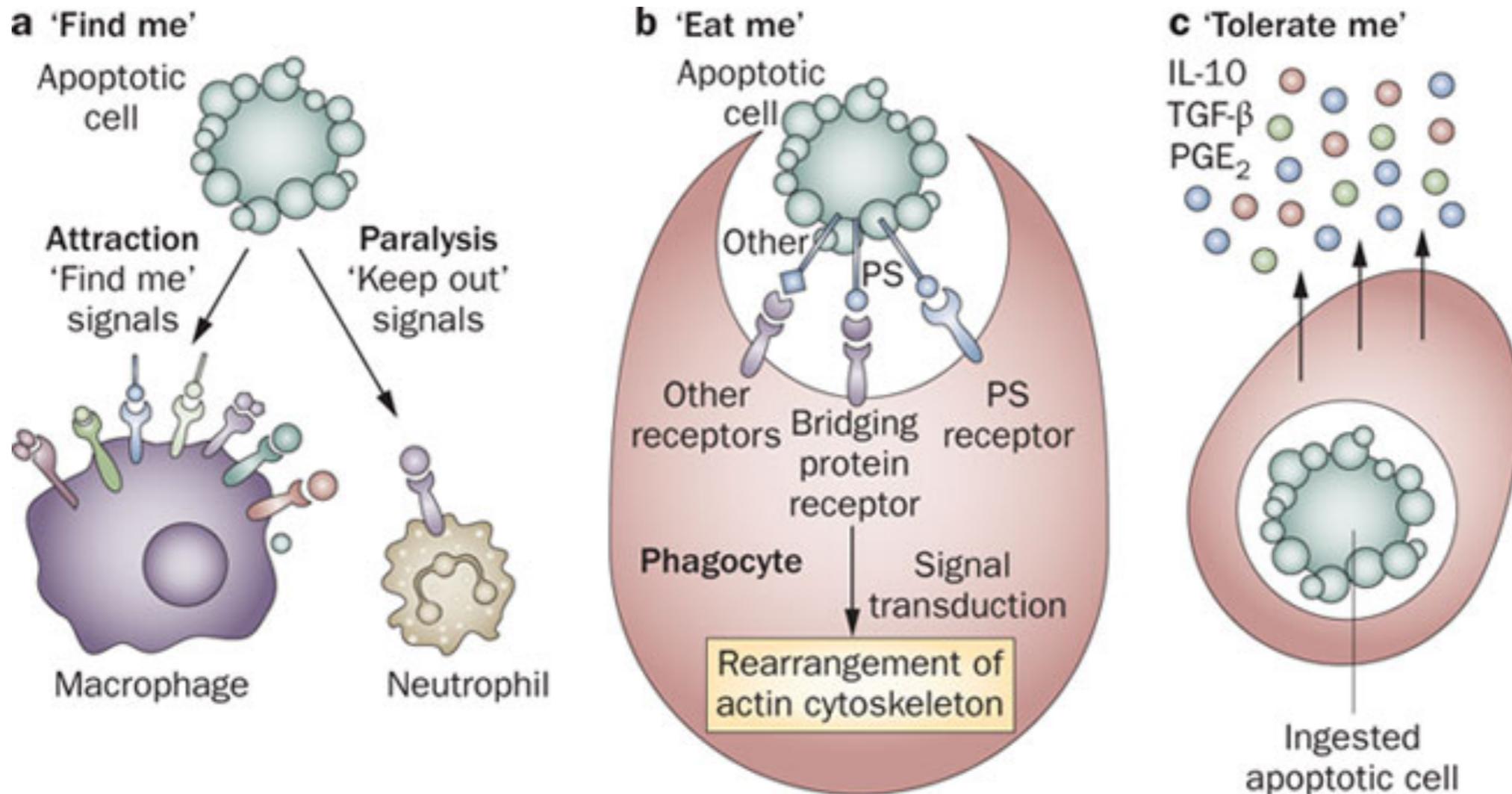
Agentes anti-microbianos

- Proteínas e peptídeos antimicrobianos
- pH ácido
- Enzimas hidrolíticas ativadas a pH ácido (lisozima, protease)
- ROS produzidos via NADPH-oxidase
- ROS+NO (produzido via iNOS) → RNS

Fagocitose “fisiologica”

- Celulas mortas (necrose, apoptose)
- Debris celulares
- Emacias velhas (figado/Kupffer c.; baço/Mø)
- Complexos Ag/AC

Silence please



<https://youtu.be/rsHyQ6A6Pcl>

https://youtu.be/Z_mXDvZQ6dU

Ação efetora dos granulócitos

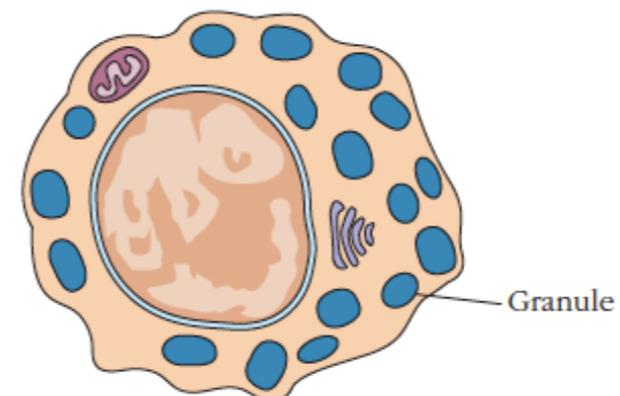
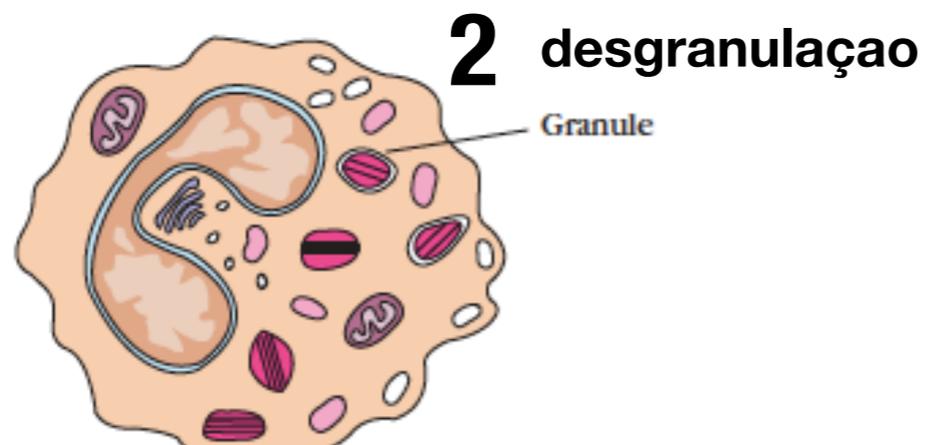
- DESGRANULAÇÃO do conteúdo celulo-especifico
 - A. moléculas anti-microbianas
 - B. enzimas digestivos
 - C. histamina (mastocitos)
- Produção de mediadores

1 reconhecimento **PRRs**

Medeiam a desgranulação

(TLRs) **Induzem ativação/transcrição de**

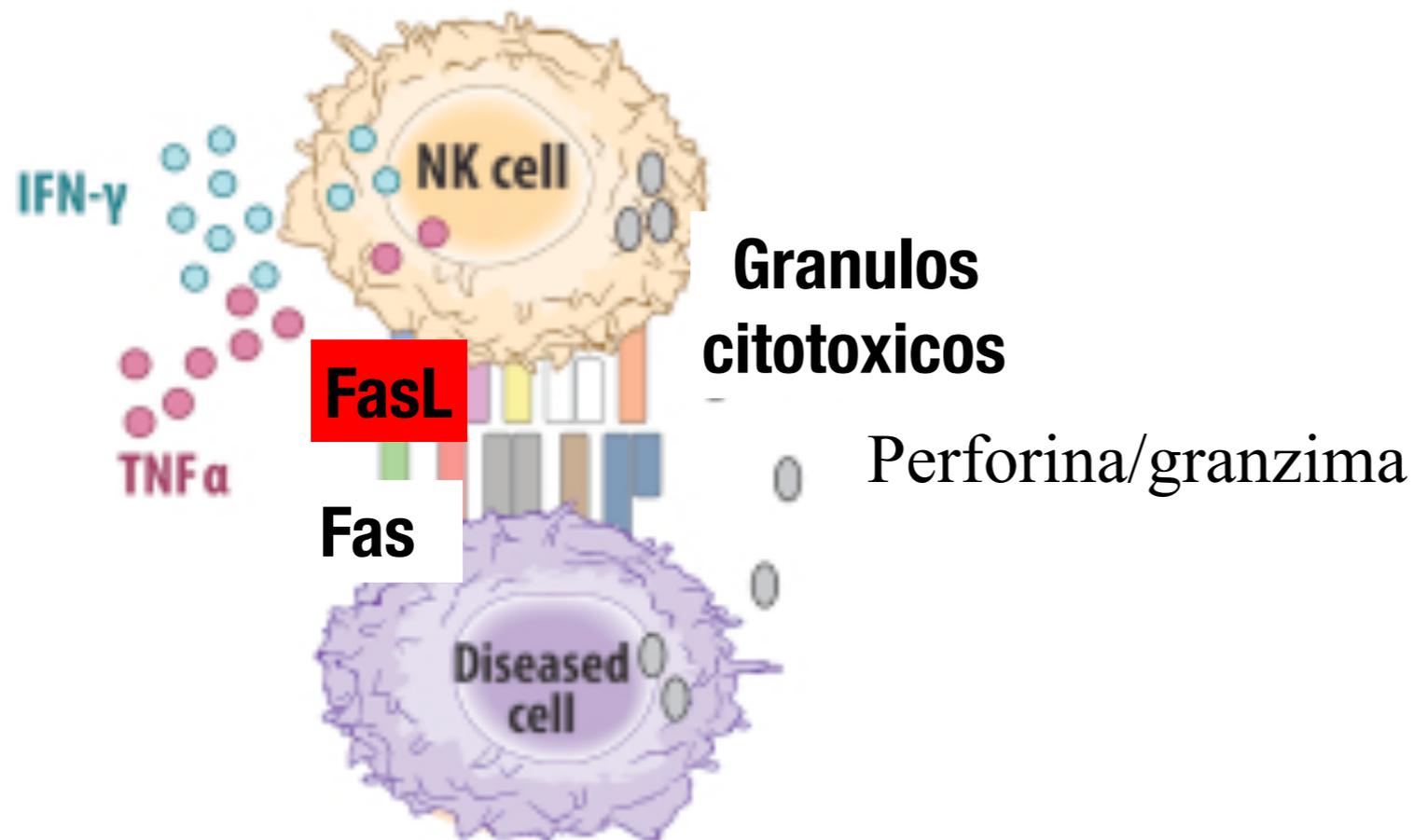
- Moléculas antimicrobianas
- Enzimas (COX)
- Mediadores inflamatórios (Citocinas, Quimiocinas)



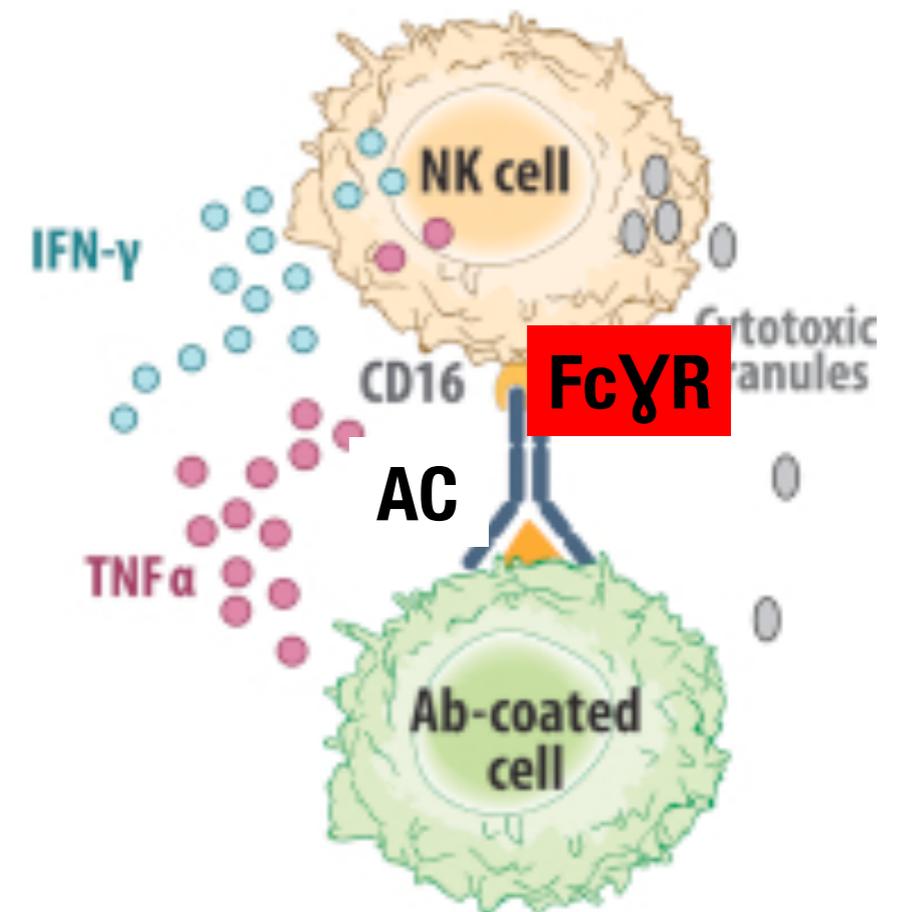
Ação efetora das NK

- Atividade citotóxica contra células alteradas (**indução de apoptose**)
- Produção de mediadores (TNF, IFN- γ)
- Atividade citotóxica pode ser aumentada na presença de anticorpos (ADCC)

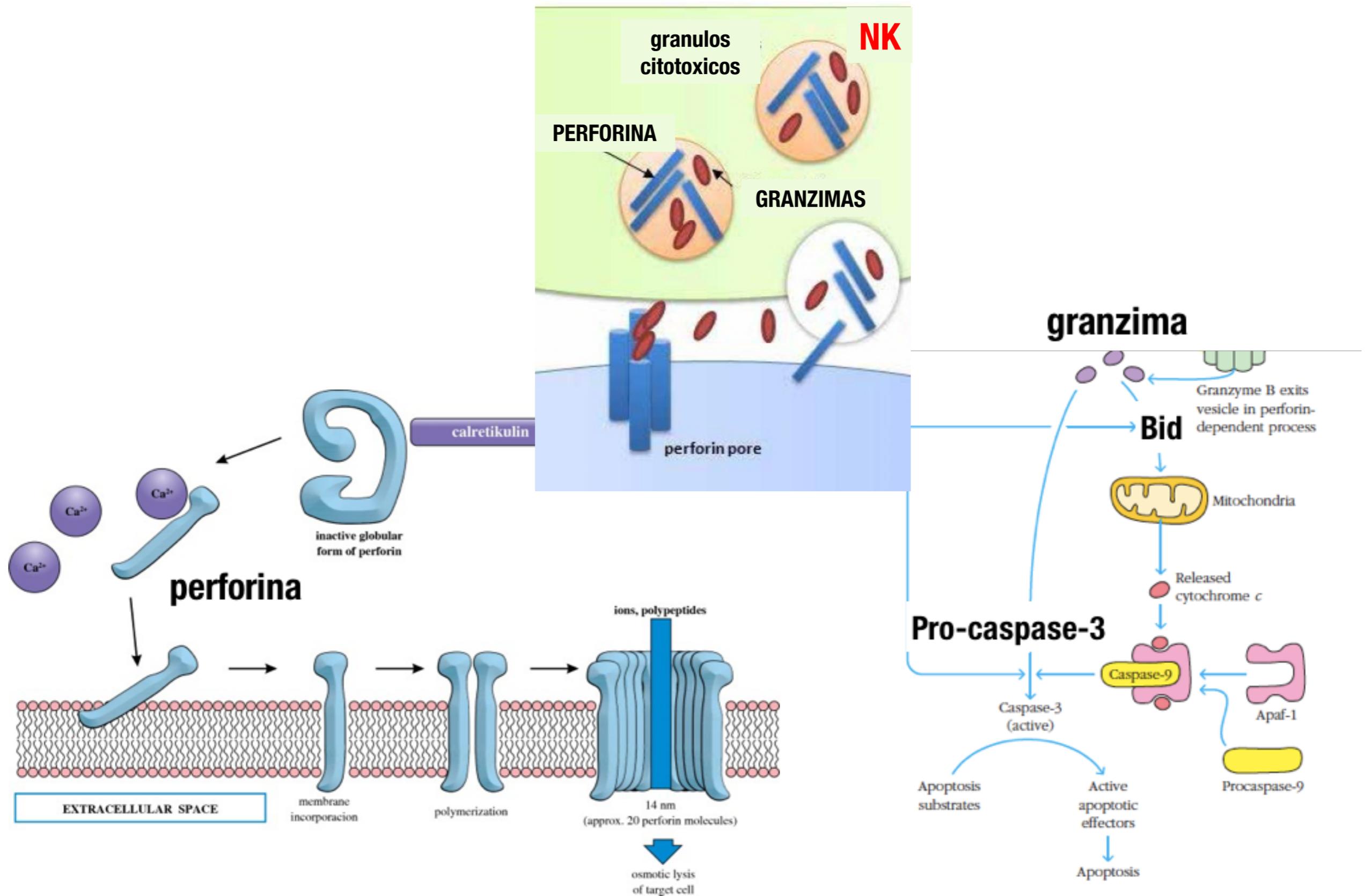
Natural cytotoxicity



Antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)

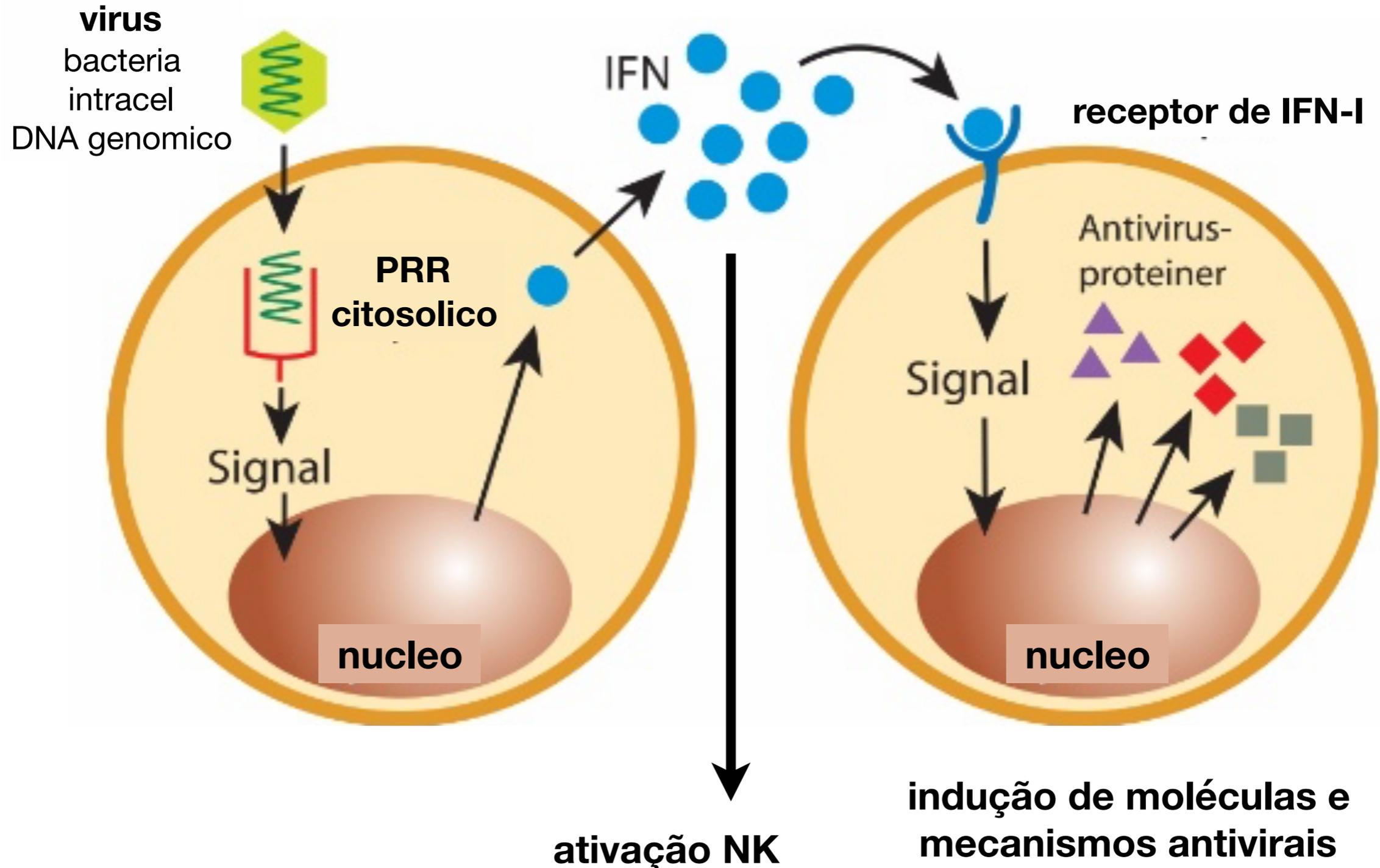


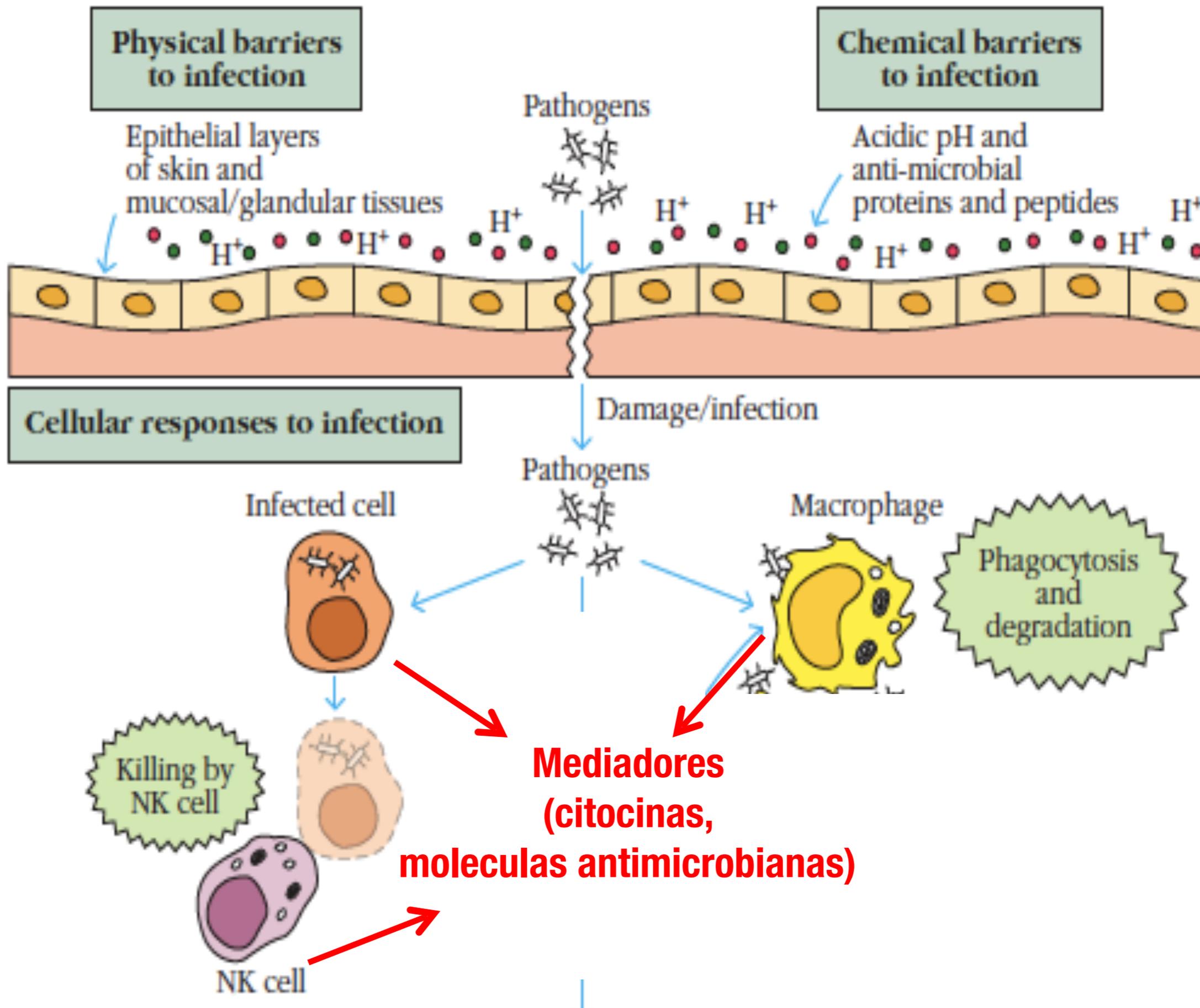
Ação citotóxica de perforina/granzimas



Ação anti-viral dos IFN tipo I

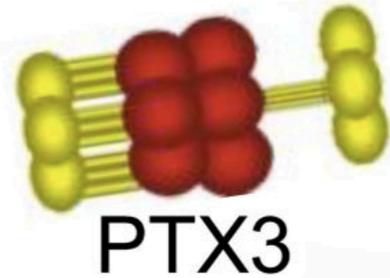
IFN-I produzido pela célula infectada atua nas células vizinhas



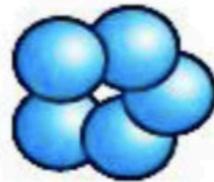


Imunidade inata humoral

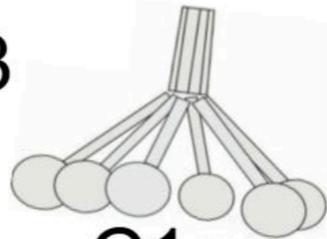
PENTRAXINAS



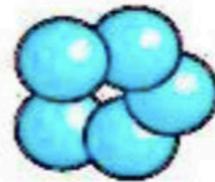
PTX3



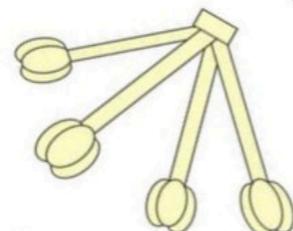
SAP



C1q



CRP



FICOLINAS

COLECTINAS

MBL, SP-A, SP-D

PRRs solúveis
(produzidas pelo
fígado e cel imune)

Reconhecimento
de patógeno/
célula danificada
(circulante/tecidual)

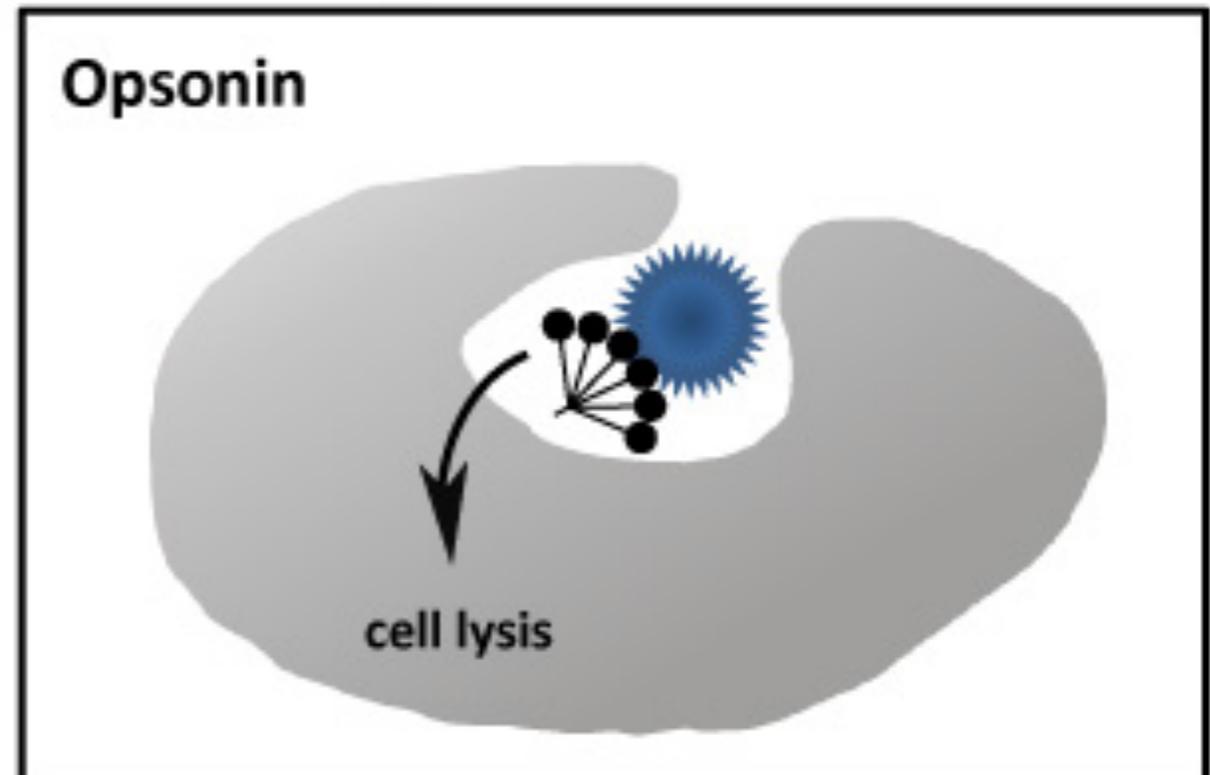
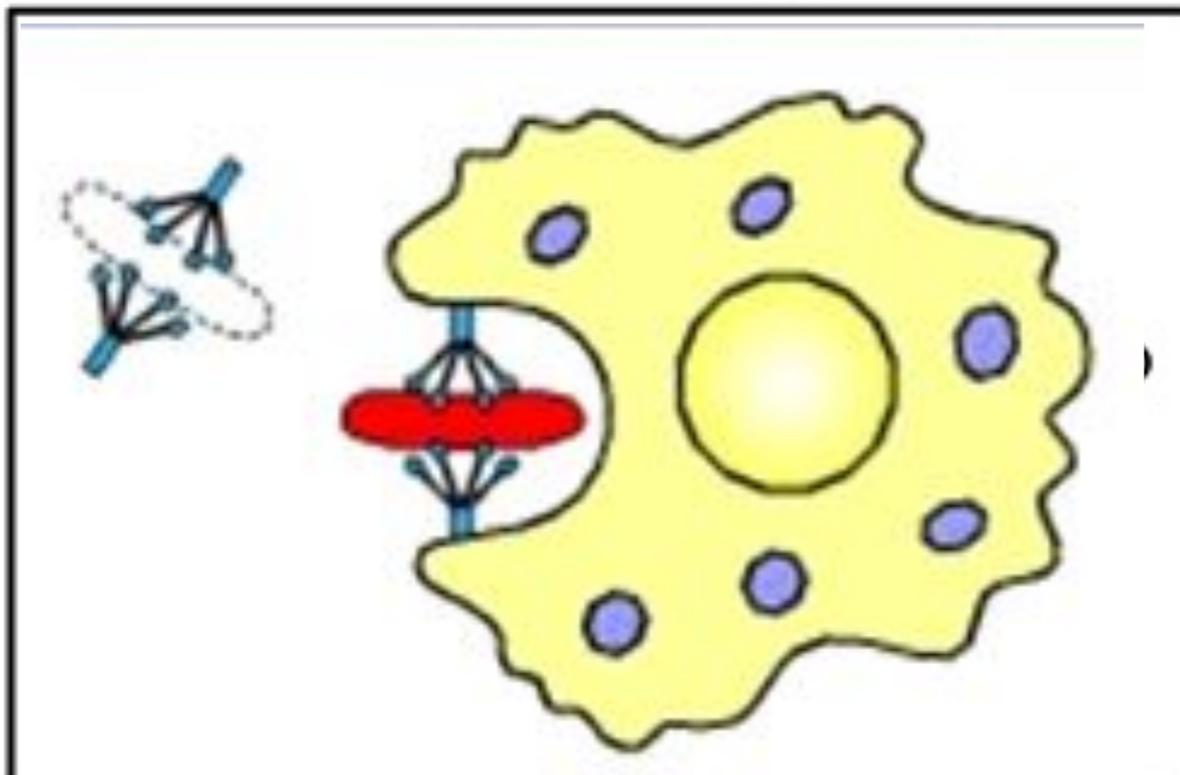
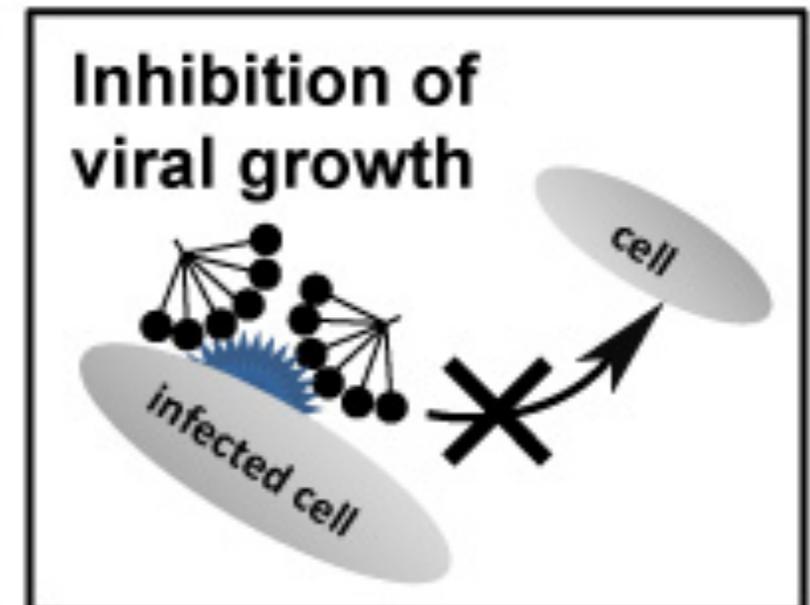
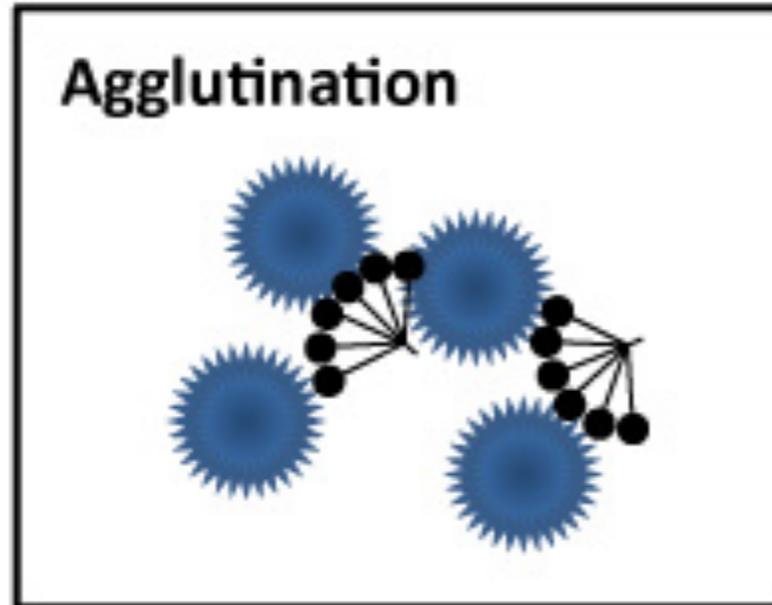
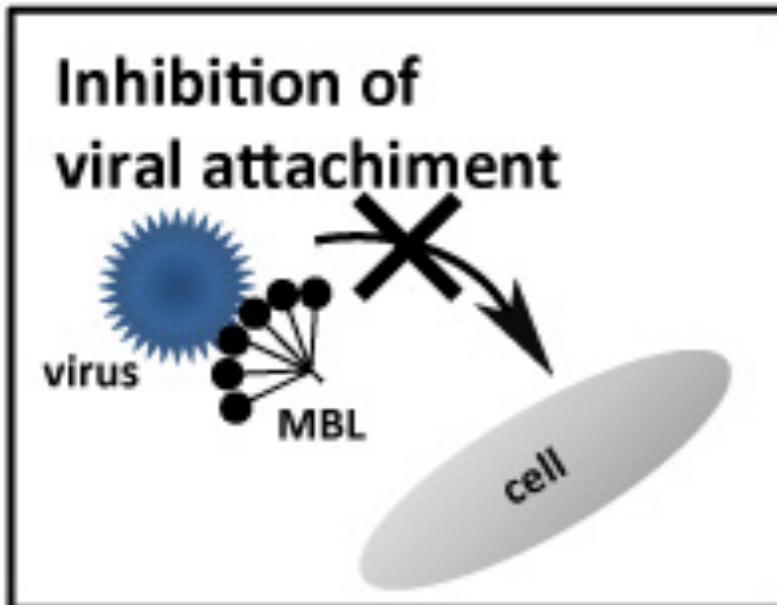
Ação efetora

- **Sistema complemento**
- Opsonização (fagocitose)
- Aglutinação
- Neutralização
- Prevenção expansão viral

Ação efetora dos PRRs solúveis

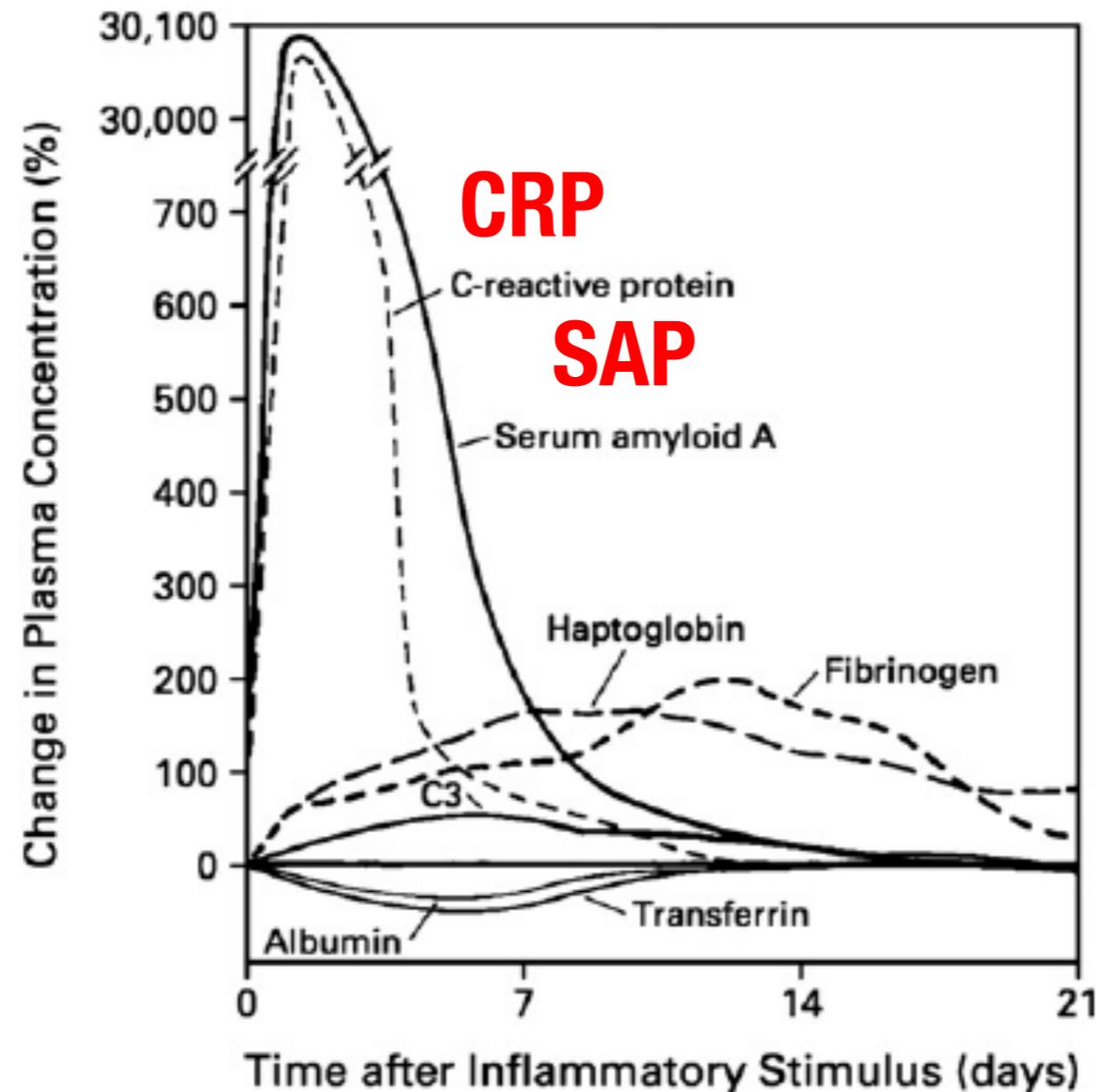
- Oponização (fagocitose)
- Aglutinação
- Neutralização

- Prevenção expansão viral
- Cascadas proteicas



Alguns PRRs solúveis como marcadores de inflamação

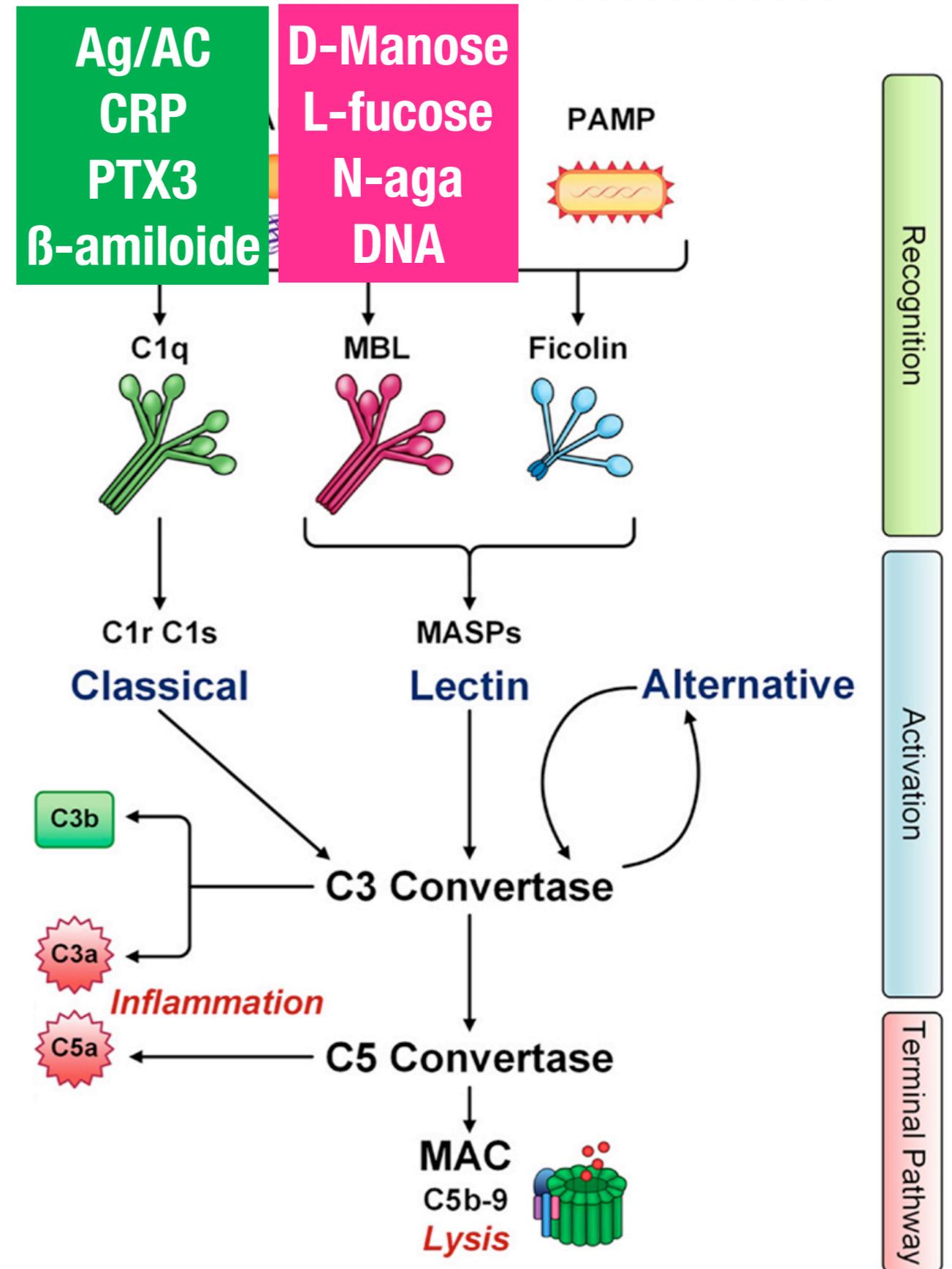
Proteínas de fase aguda



Sistema complemento

Conjunto de proteínas (C1-C9) do soro que cooperam com o S.I. inato e adquirido para eliminar patógenos sanguíneos e teciduais

- ✓ A cascata de ativação começa com reconhecimento (*inato ou adquirido*)
- ✓ 3 vias de ativação (**classica, lectinica, alternativa**)
- ✓ As 3 vias convergem na **ATIVACAO da C3 CONVERTASE**
($C3 \rightarrow C3a + C3b \rightarrow \uparrow C3b$)
- ✓ C3b atua como opsonina, e ativa **C5 CONVERTASE** ($C5 \rightarrow C5a + C5b$)
- ✓ **Formação do MAC (C6-C9)**: poro no revestimento do patógeno/célula danificada
- ✓ Alguns “pedaços” atuam como **opsoninas** (C3b) ou mediadores inflamatórios (**anafilotoxinas**: C3a, C5a)



Sistema complemento

Via classica

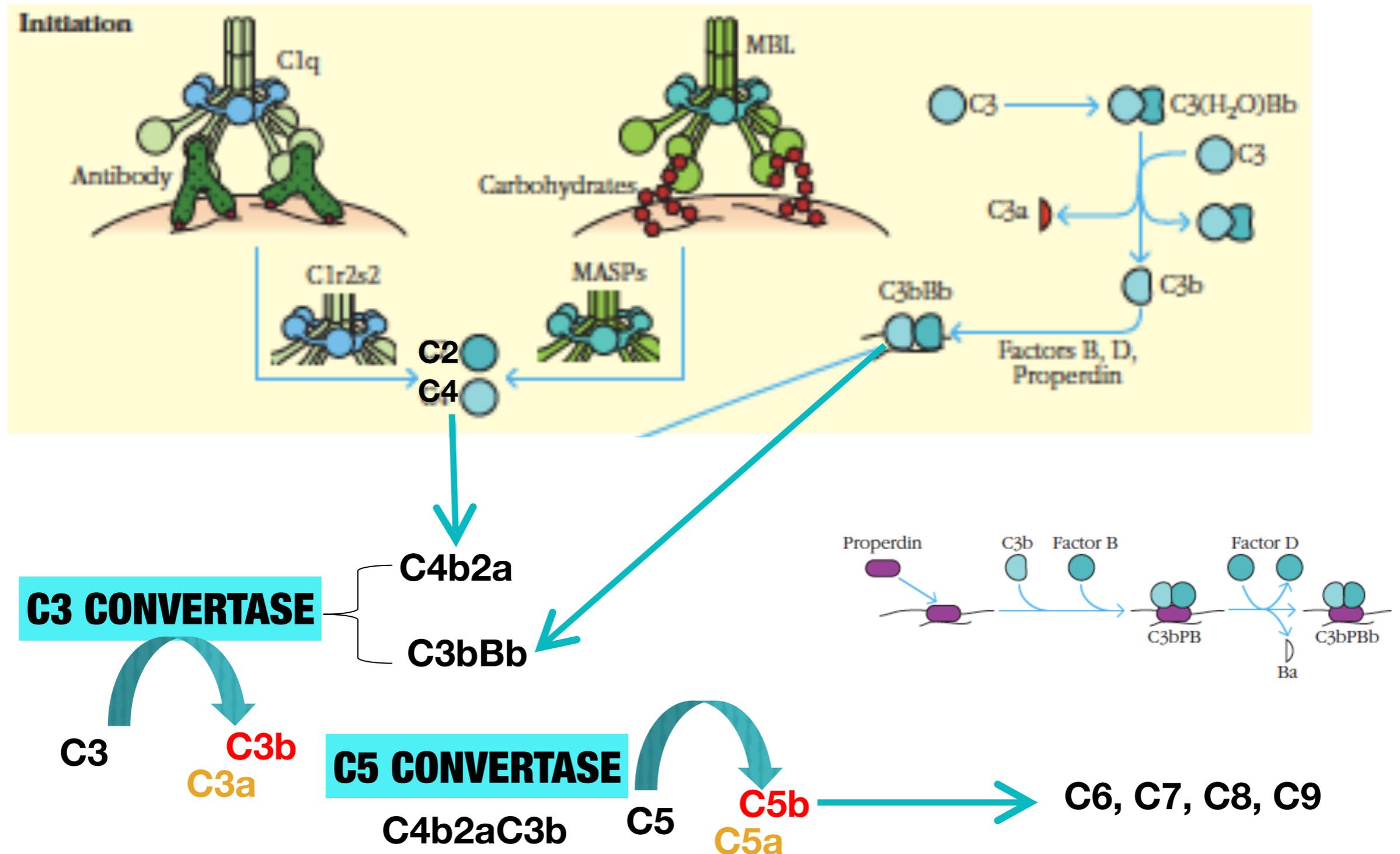
Complexos Ag-AC
/C1q

Via lectinica

PAMPs ou DAMPs
/Lectinas

Via alternativa

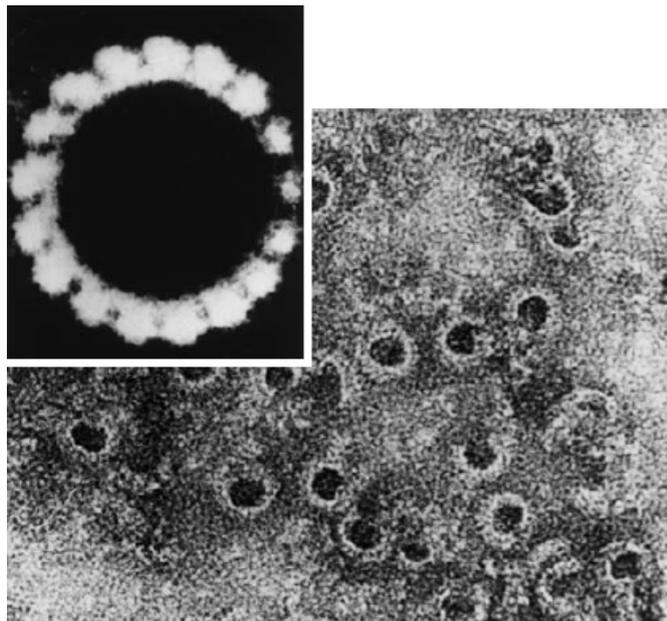
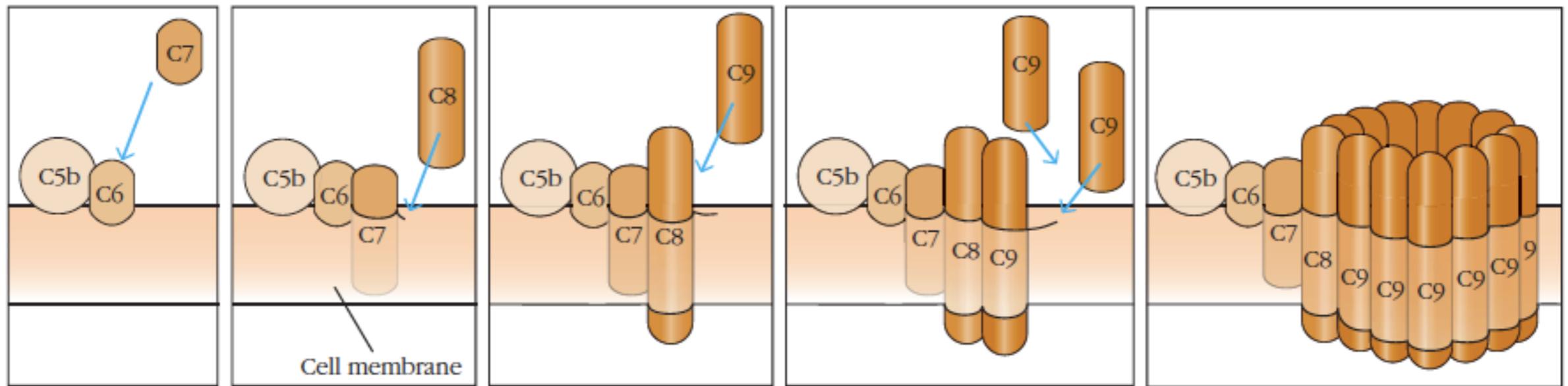
Hidrolisi espontanea do C3
(C3 convertase solúvel, vida curta)



Sistema complemento

FUNCOES

1) FORMACAO DO MAC/PORO → LISE MEMBRANAS

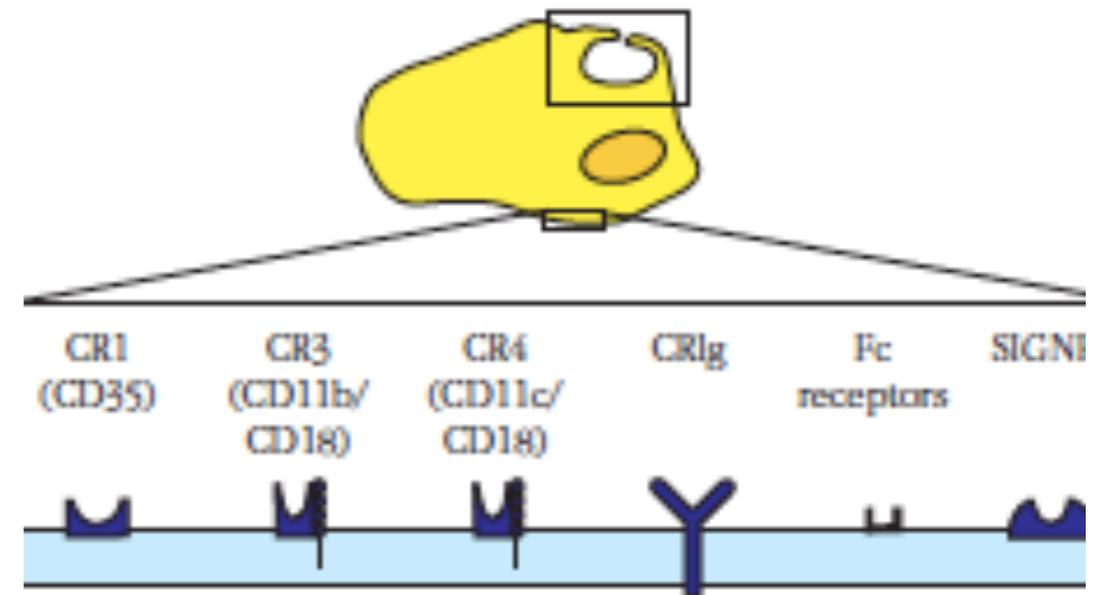
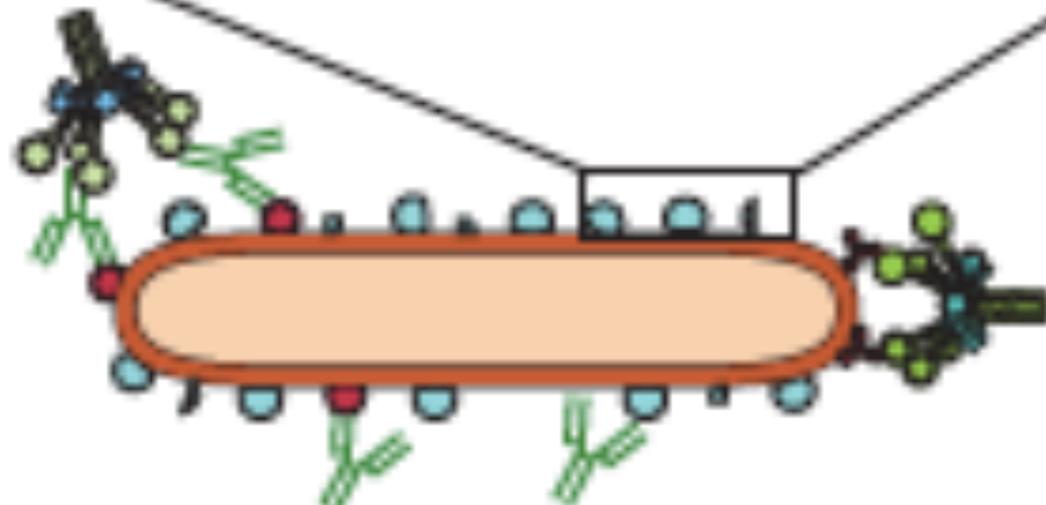
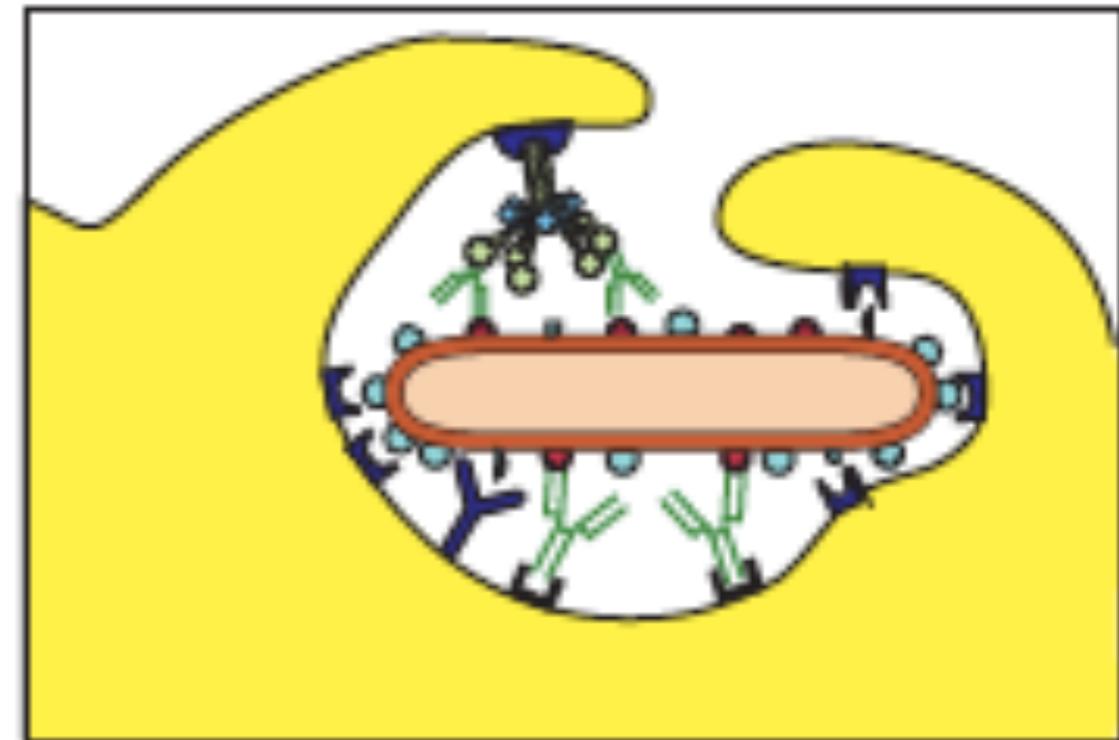
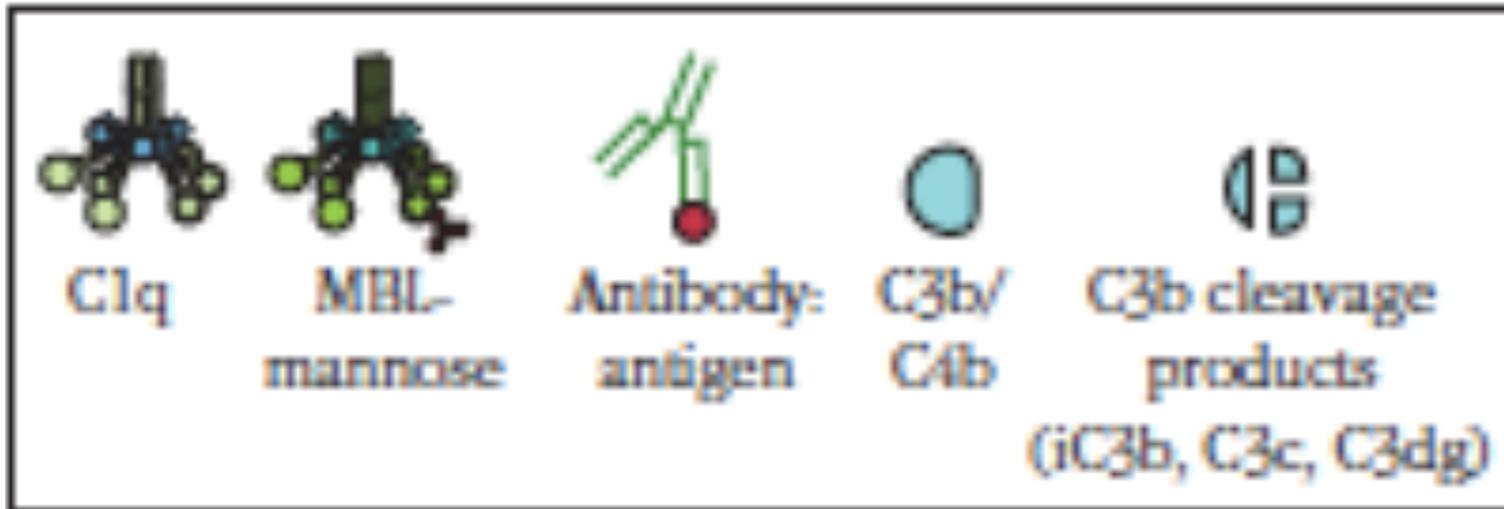


Sistema complemento

FUNCOES

2) OPSONIZACAO → FAGOCITOSE

Fagocitose de patognos
mediada por complemento



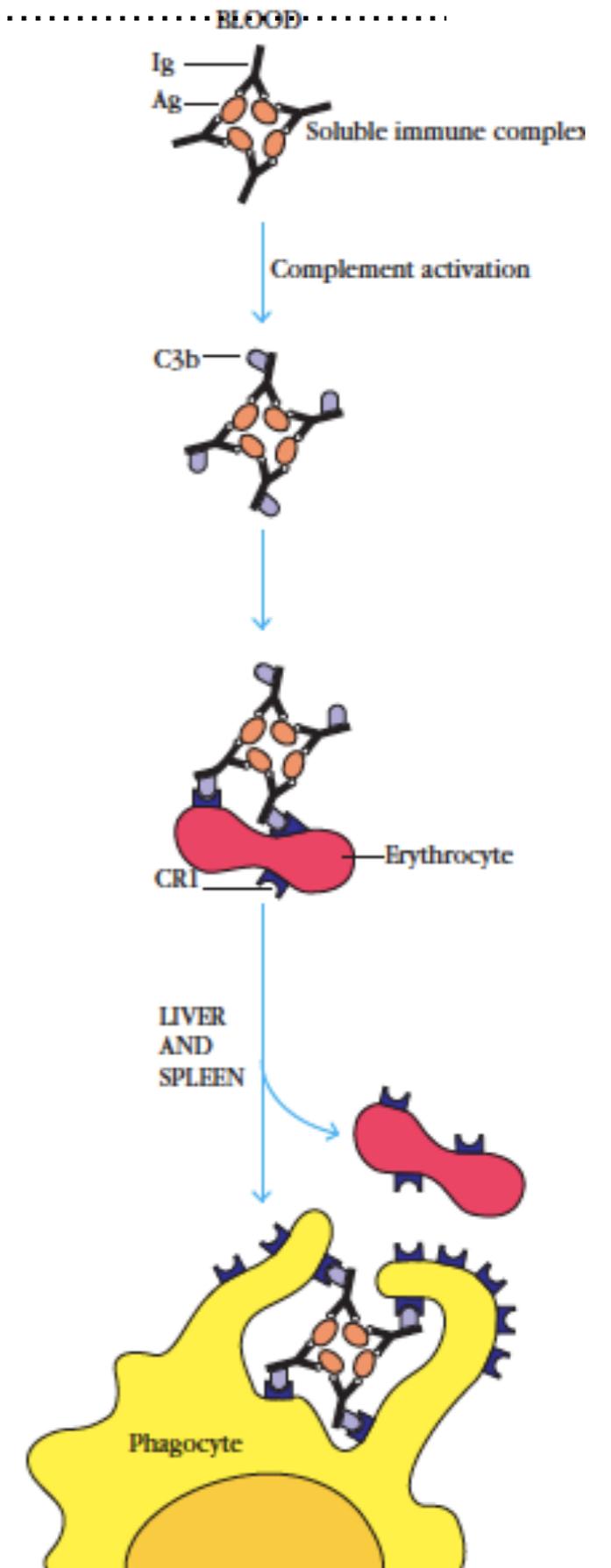
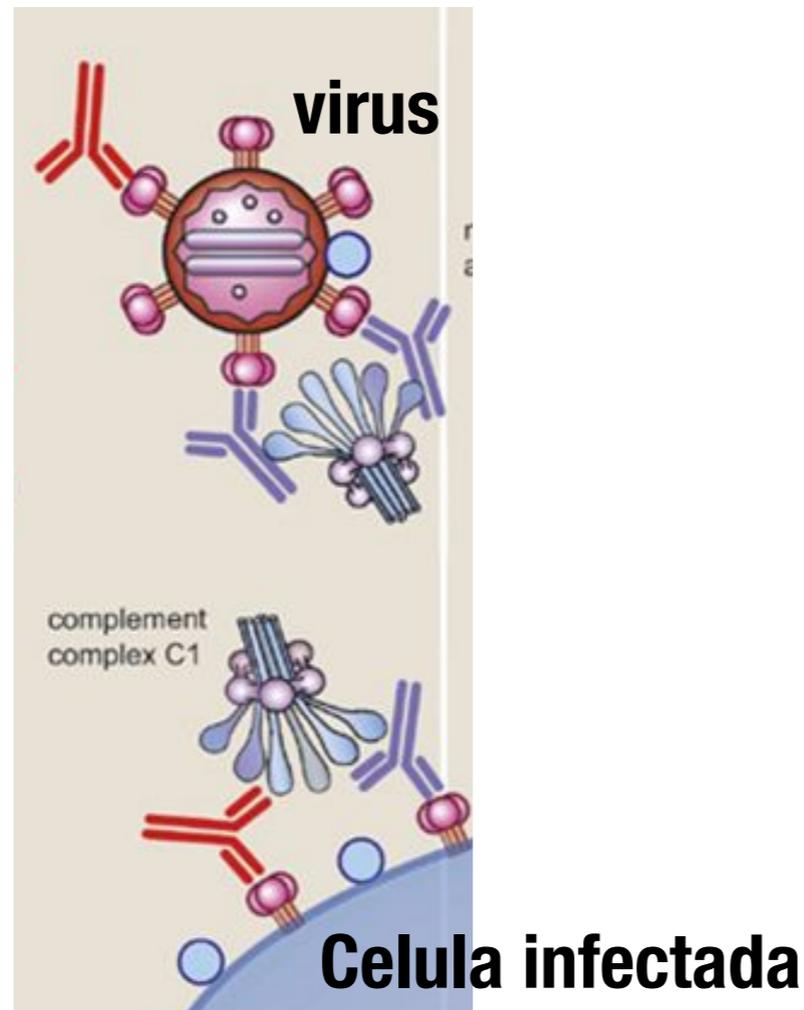
Sistema complemento

FUNCOES

2) OPSONIZACAO

→ REMOCAO DE IMUNOCOMPLEXOS

→ NEUTRALIZACAO/FAGOCITOSE VIRUS



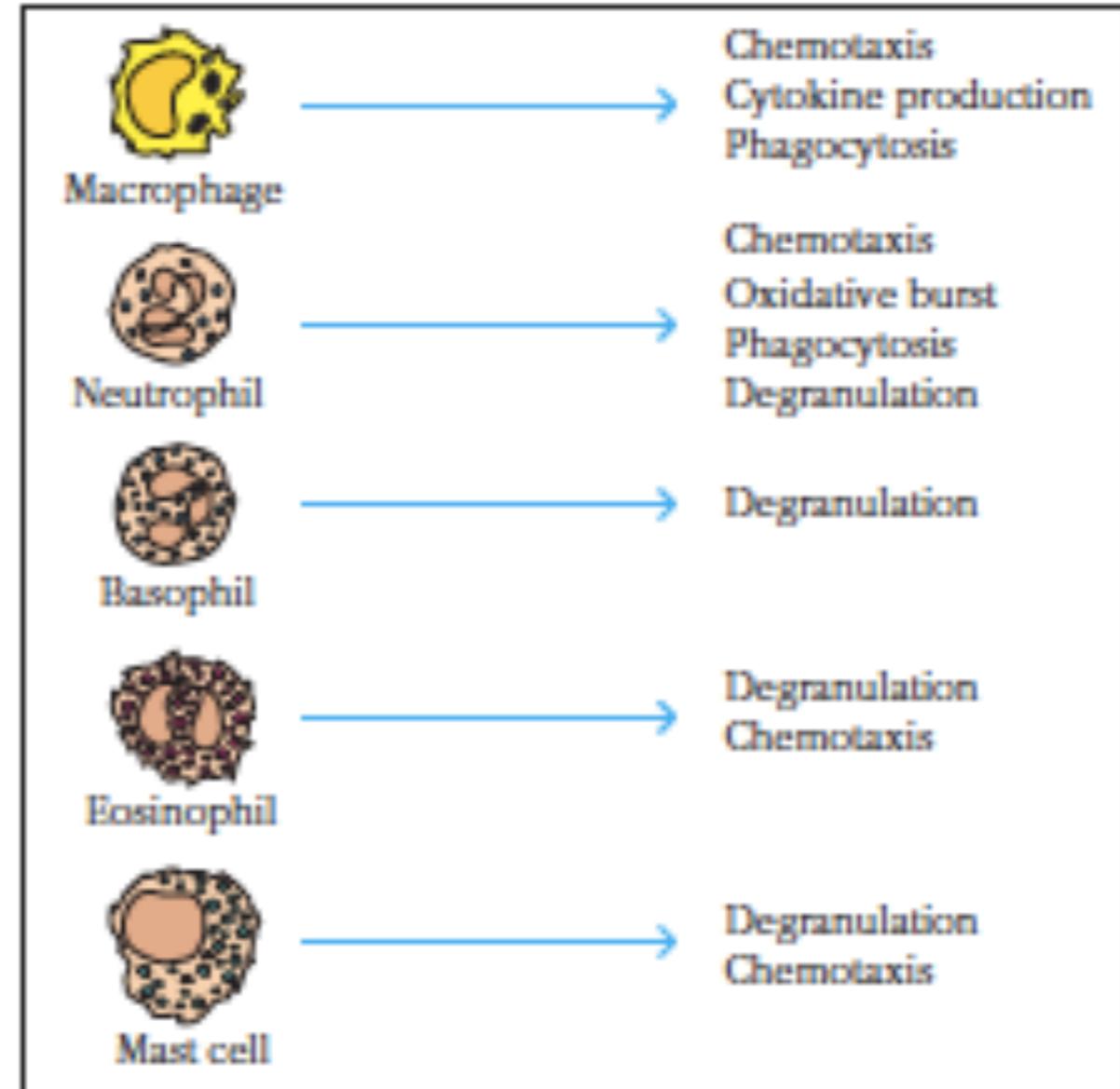
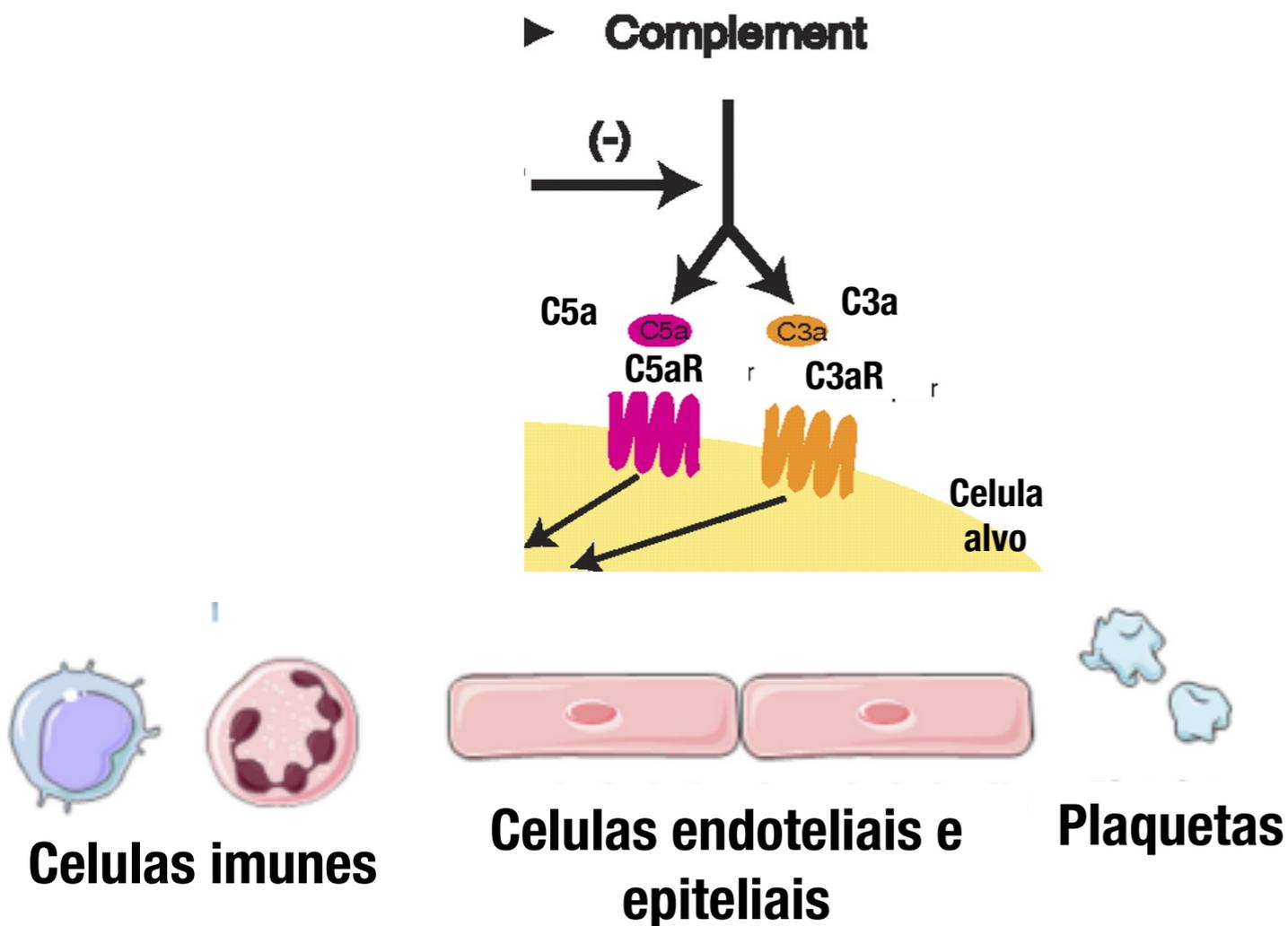
Sistema complemento

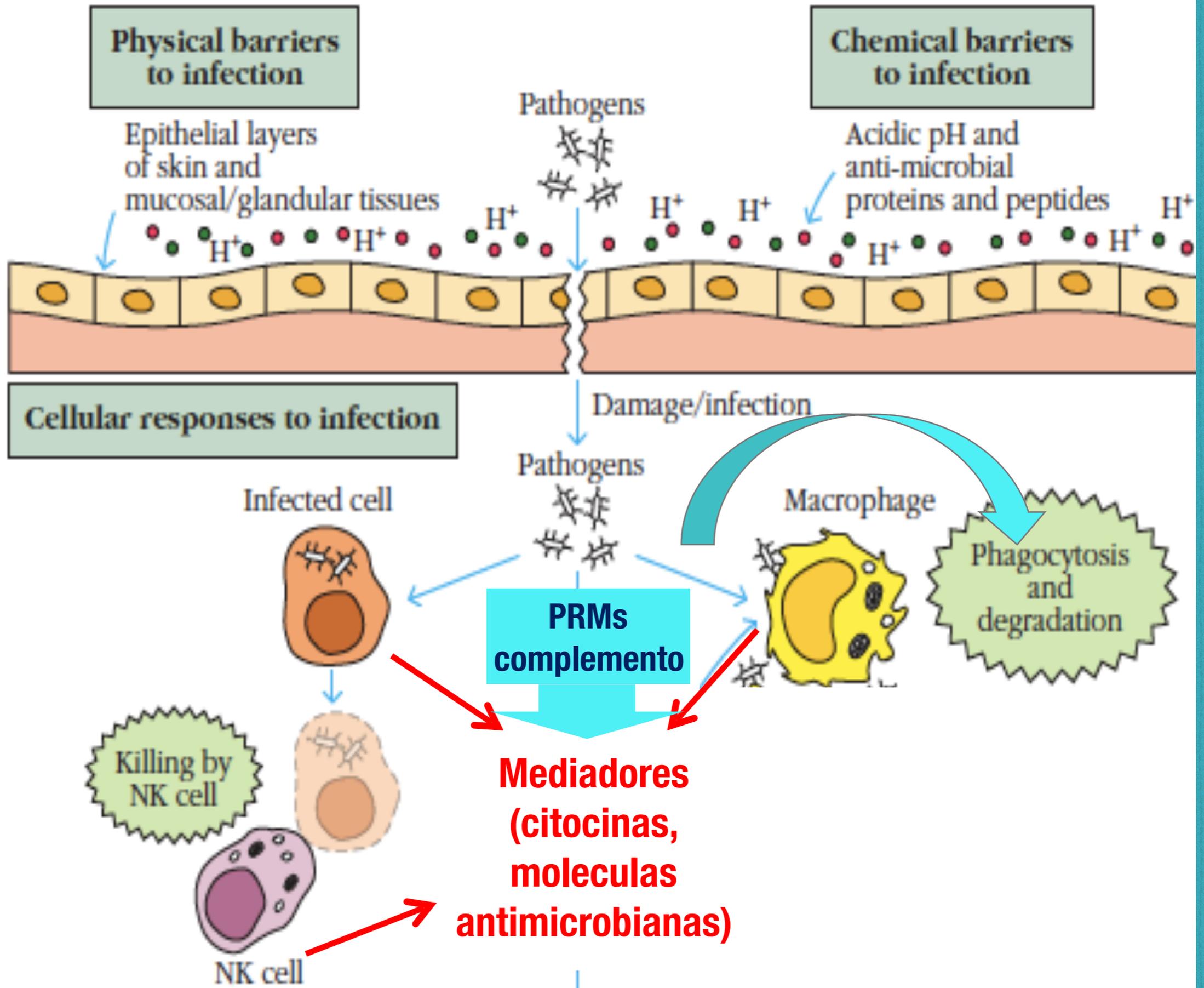
FUNCOES

3) PROMOÇÃO DA INFLAMAÇÃO

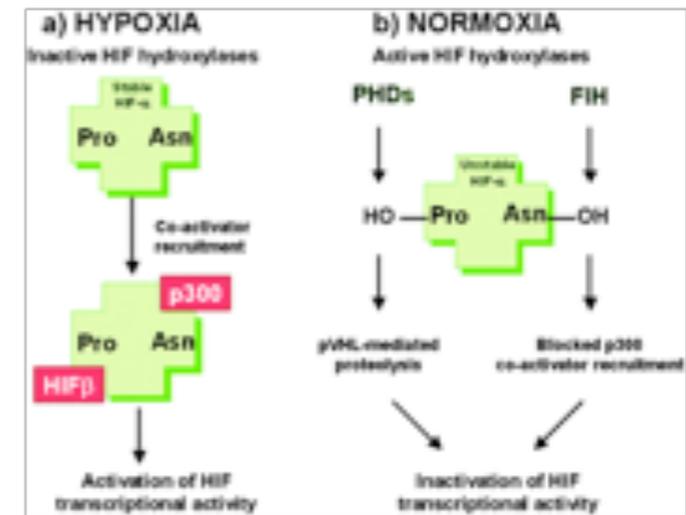
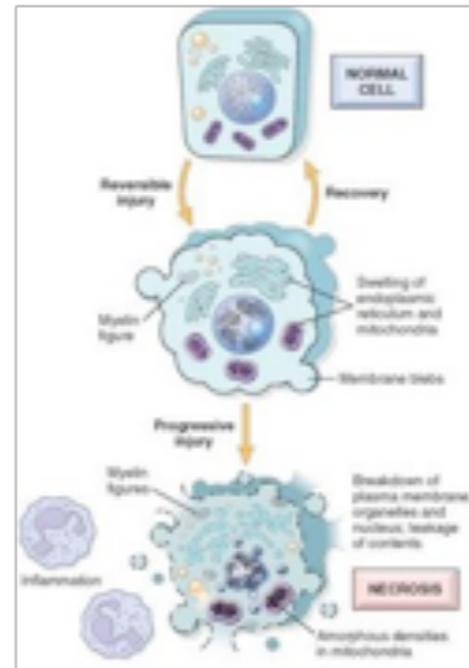
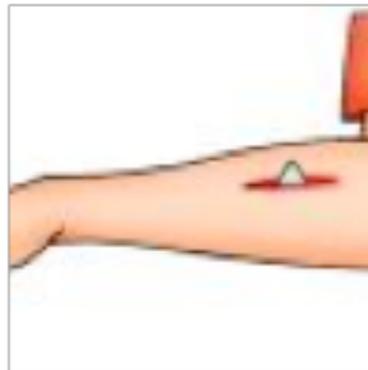
→ ATIVAÇÃO CELULAS ALVO

→ QUIMIOTAXIA LEUCOCITOS





Inflamação

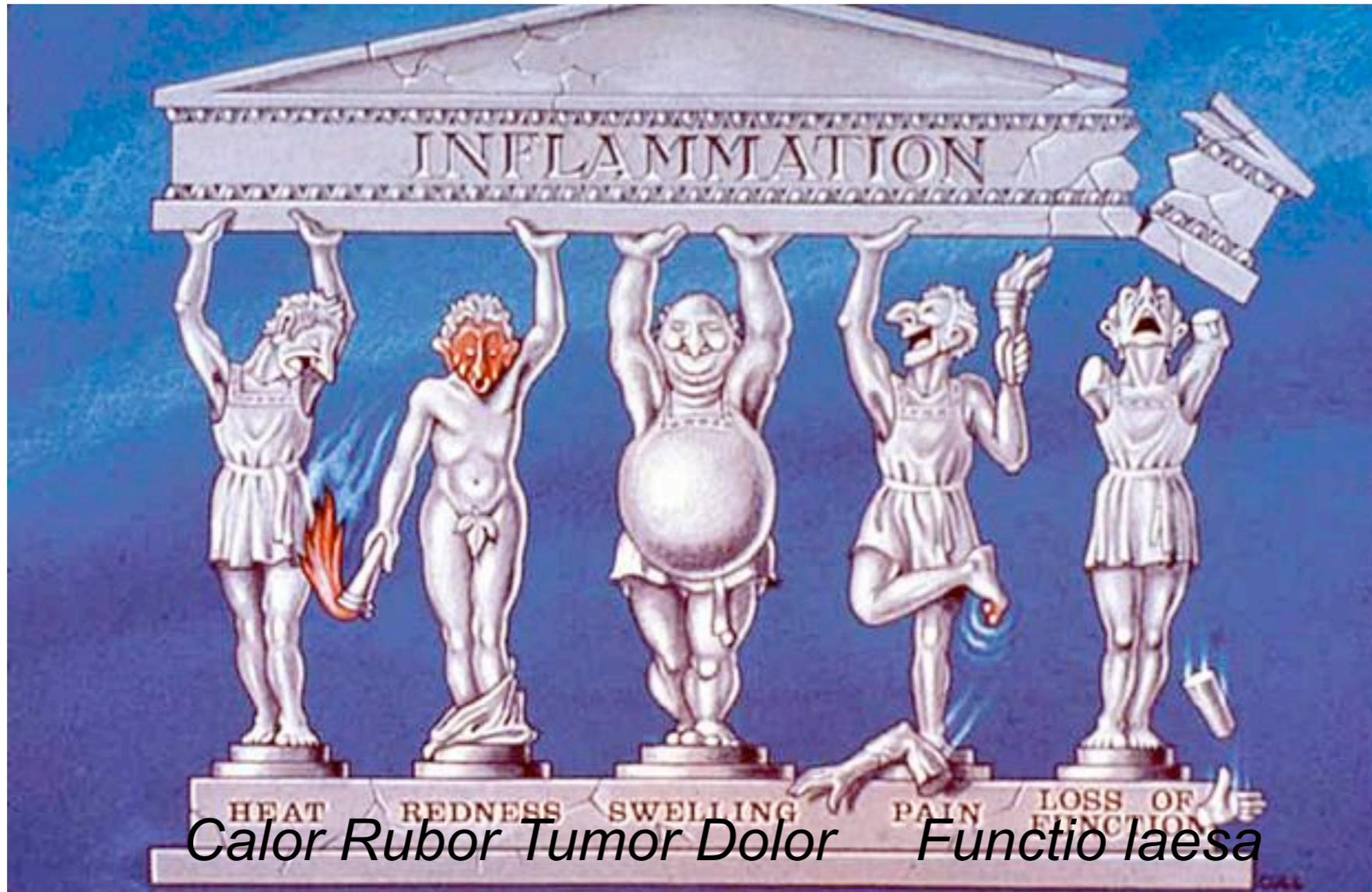


Inflamação

Quando as barreiras epiteliais (primeira linha de defesa) são danificadas, ativam-se mecanismos da resposta imune inata contra patógenos e/ou dano tecidual que podem levar a uma cascata complexa de eventos conhecida como **RESPOSTA INFLAMATORIA**

- ✓ Iniciada **dentro de poucas horas** após a infecção ou ferimento/dano
- ✓ Tem a **função** de combater a infecção ou reestabelecer a homeostasia:
 1. levar leucócitos e moléculas efetoras do sangue para o local (aumentar os mecanismos de destruição dos invasores)
 2. induzir a coagulação sanguínea local (impede a perda de sangue; coágulo de fibrina cobre o patógeno e previne a sua propagação na corrente sanguínea)
 3. promover o reparo do tecido danificado
- AGUDA (breve, contribui para a eliminação do patógeno/dano, seguida da reparação do tecido)

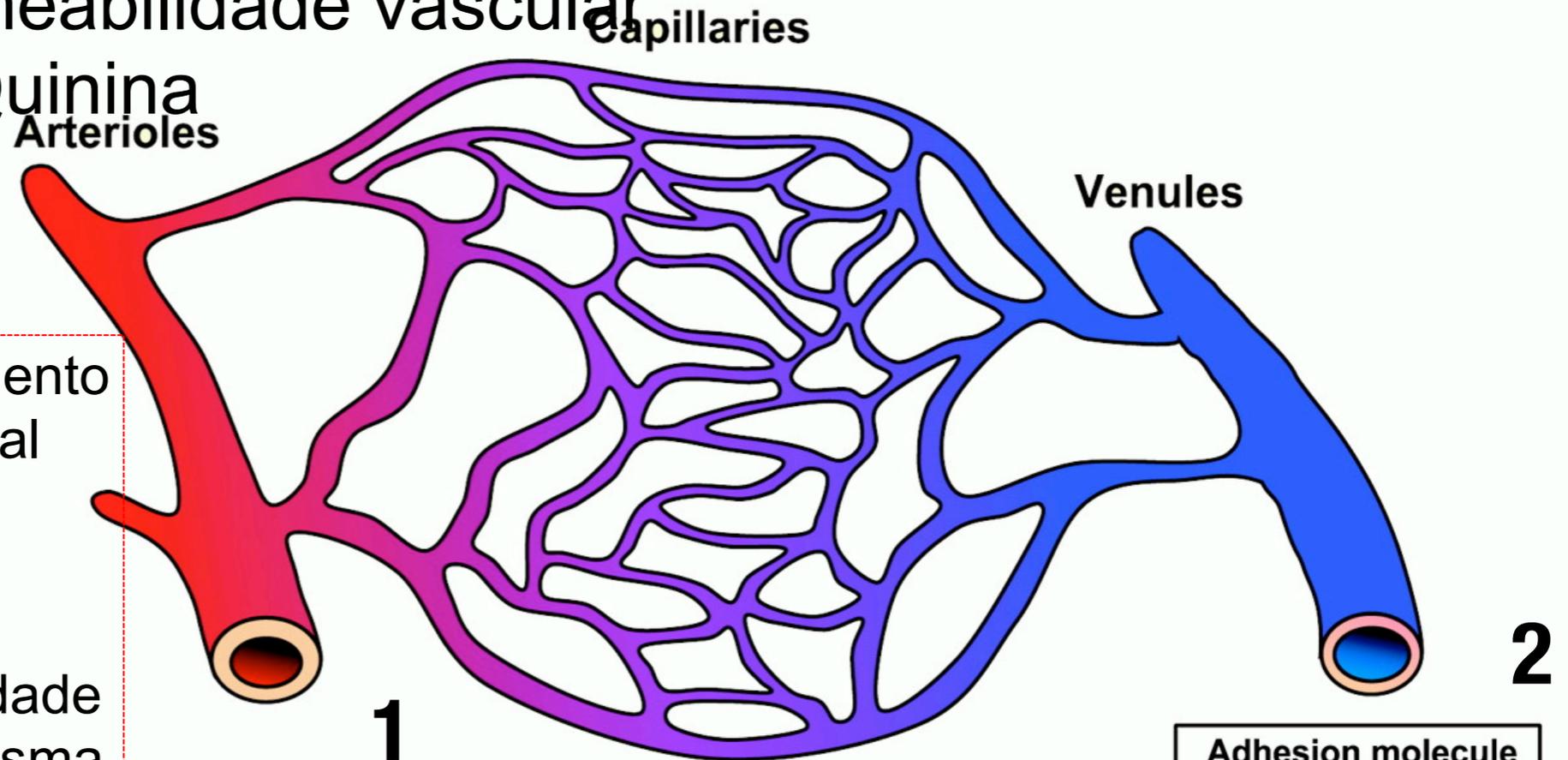
Inflamação - sintomas



Esses sintomas refletem 4 tipos de mudanças nos vasos sanguíneos locais

Modificação da microcirculação

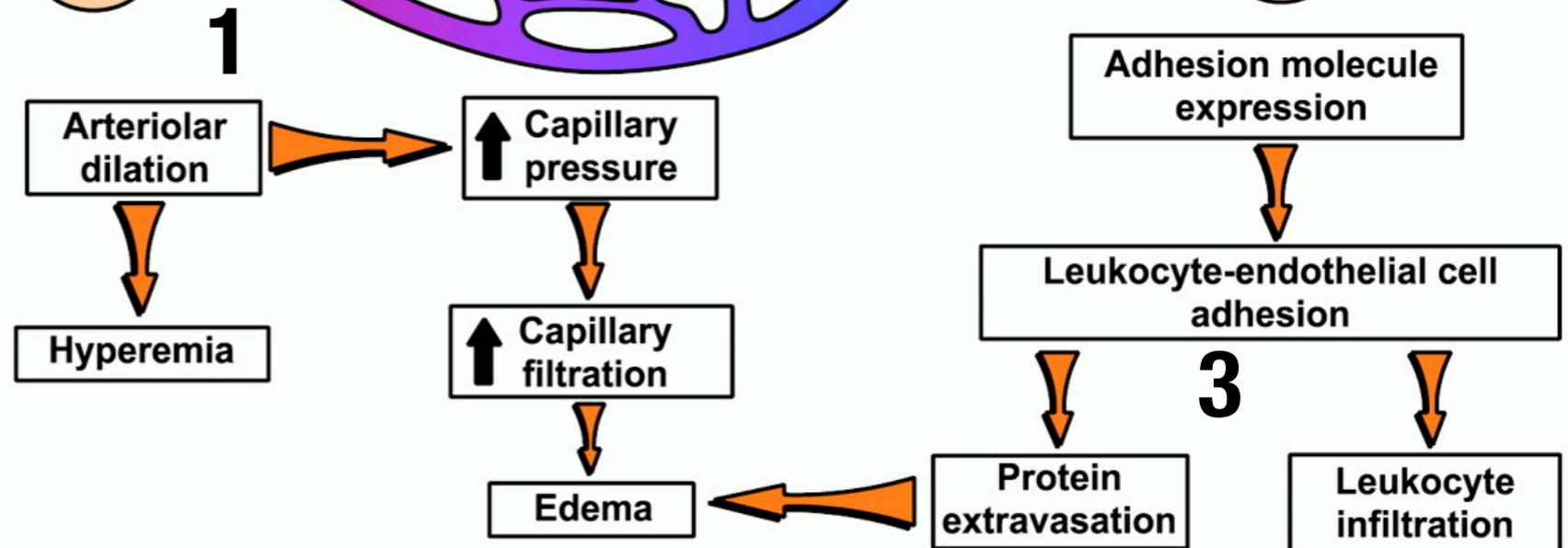
1. Aumento diâmetro vascular
2. Ativação do endotélio
3. Aumento permeabilidade vascular
4. Coagulação/Quinina



1- vasodilatação → aumento do fluxo de sangue no local da infecção/dano
Mais sangue - **calor/rubor**

2/3 - aumento permeabilidade dos vasos → saída de plasma para os tecidos (**edema**) - **tumor**

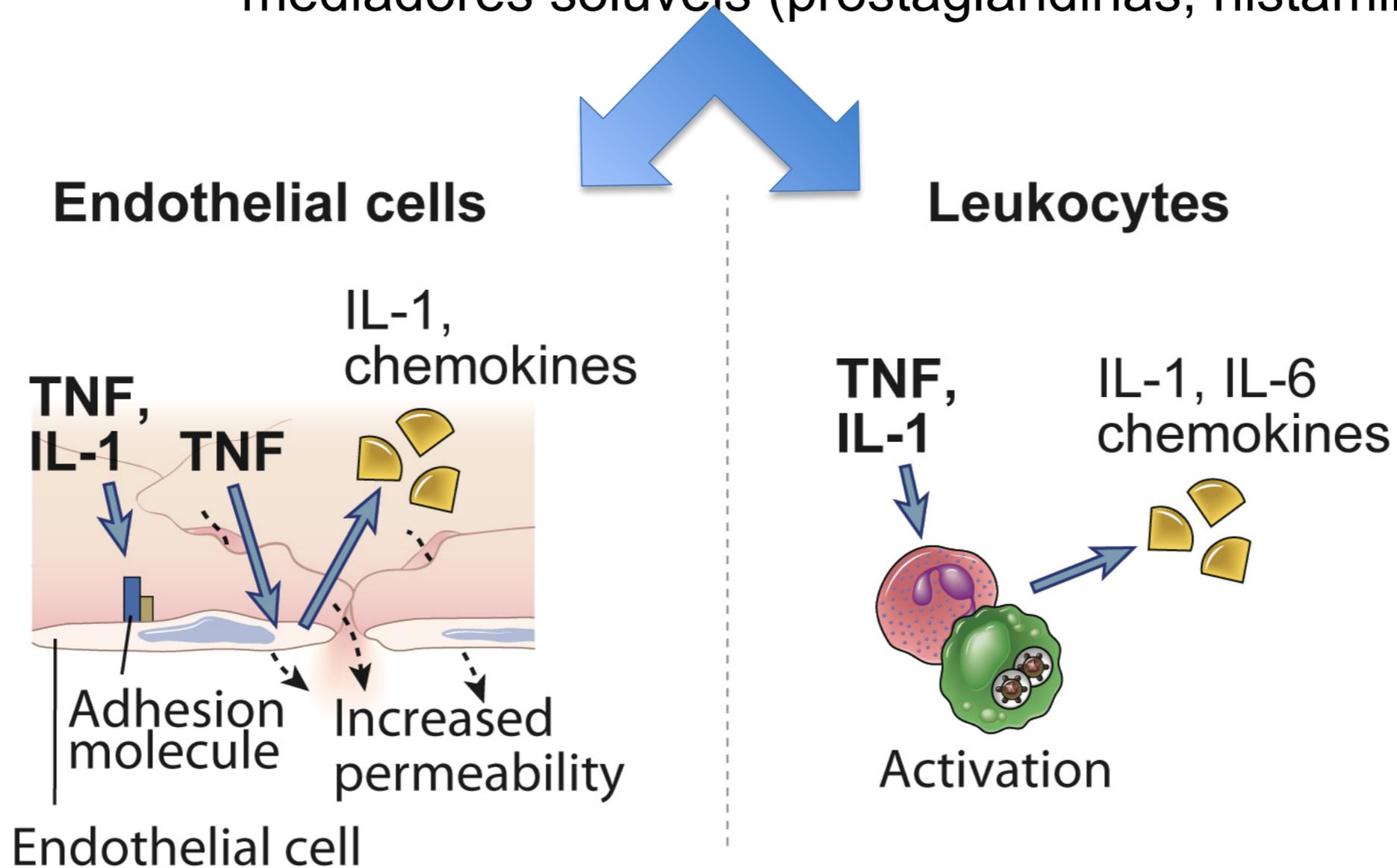
4 - formação de fibrina (coágulo) e bradiquinina (peptídeo vasoativo) - **dolor**



Inflamação

A resposta inflamatória é originada pela **ativação das células residentes** no tecido infectado/leso (Mø, DC, mastocitos, células epiteliais)

PAMPs/DAMPs - citocinas (IL-1 β , TNF, IL-6)
- quimiocinas (IL-8, MIP1 β)
- mediadores solúveis (prostaglandinas, histamina)



Inflamação local

Alteração microcirculação sanguínea local (histamina, PGs e LTs)

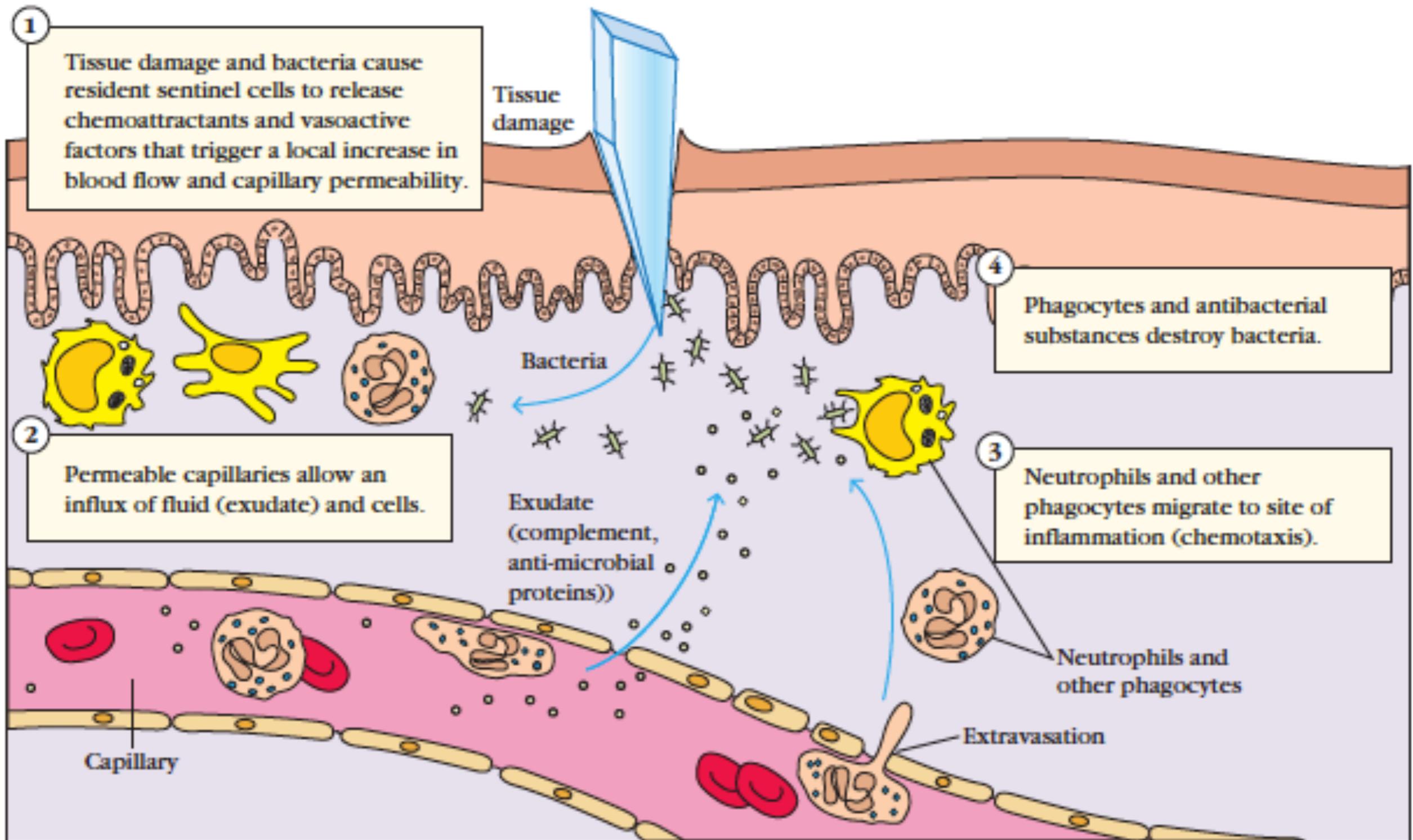
Ativação endotélio dos vasos sanguíneos locais

- Aumento permeabilidade vascular
- Indução da expressão de moléculas de adesão celular
- Quimiocinas (IL-8)

Recrutamento (**transmigração ou diapedese**) e ativação dos leucócitos do sangue para o local para ajudar a eliminar o patógeno e/ou o dano

- Fagocitose de bactéria/debris
- Amplificação da resposta produzindo outros mediadores
- Chegada de PRMs e complemento tbm

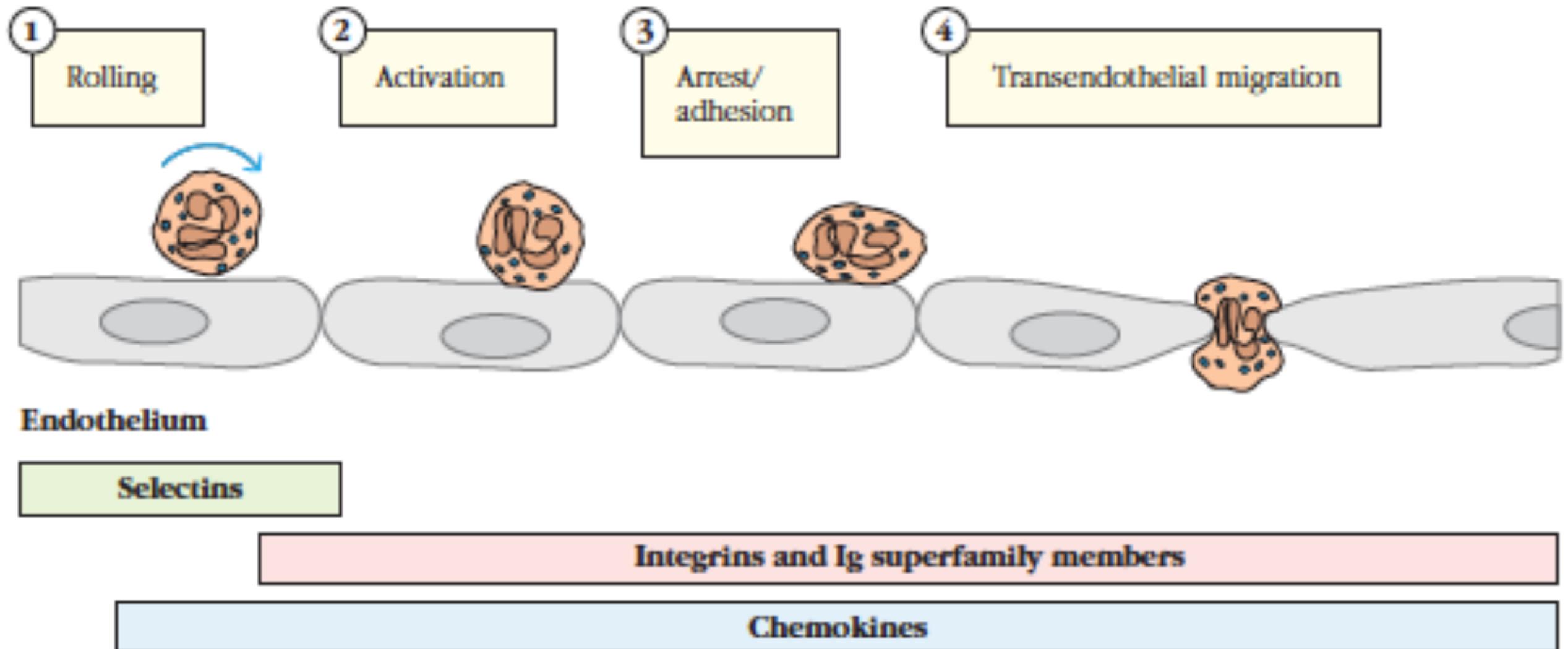
Inflamação local



Extravasação dos leucocitos

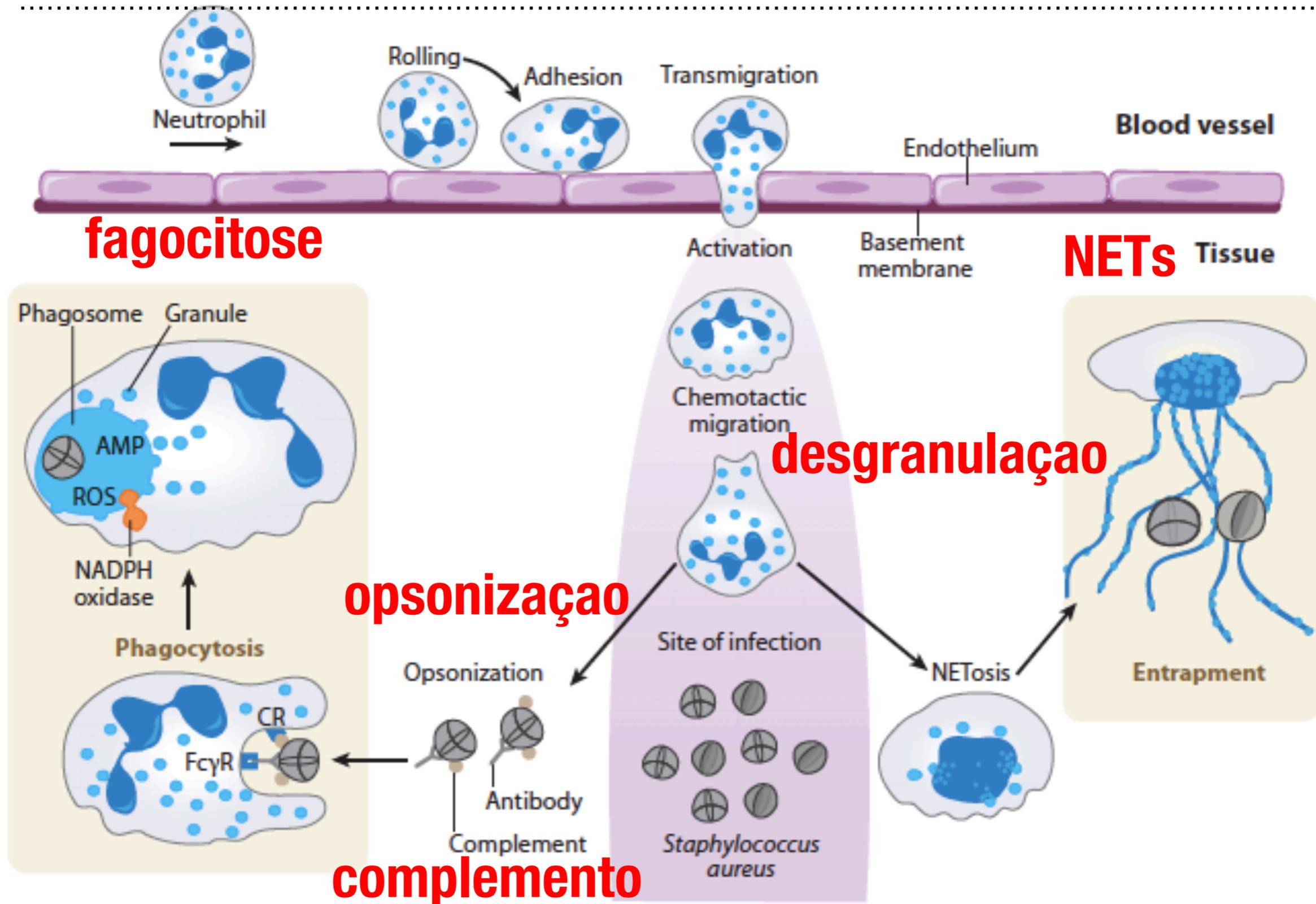
Moléculas de adesão e quimiocinas são responsáveis pela migração dos leucócitos

Rolling and extravasation



Extravasação de leucócitos
(neutrófilos > monócitos > linfócitos)

Ação local das células e moléculas



Inflamação Sistêmica

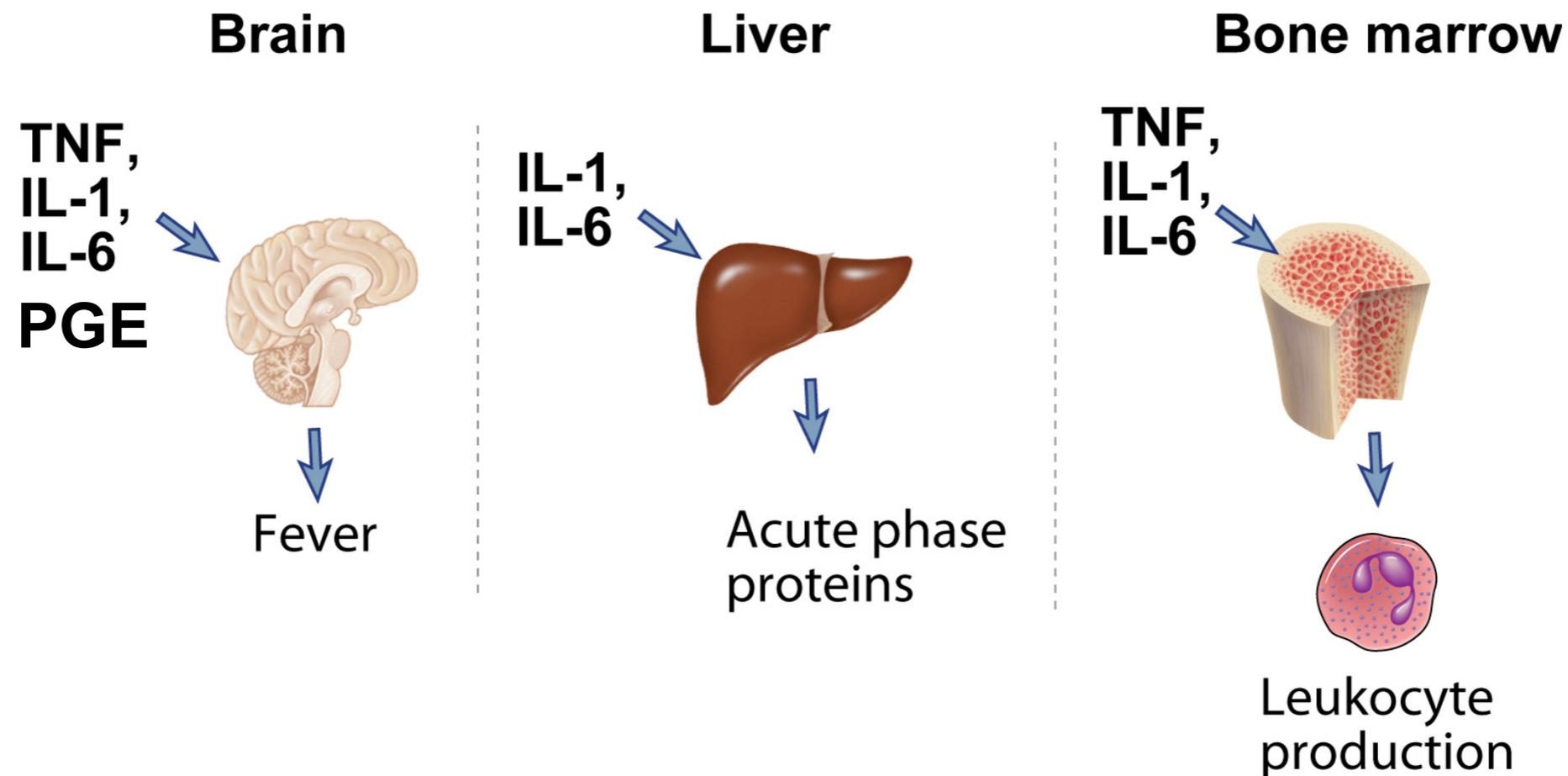
A resposta inflamatória é originada pela **ativação das células residentes** no tecido infectado/leso (Mø, DC, mastocitos, células epiteliais)

PAMPs/DAMPs – citocinas (IL-1 β , TNF, IL-6)

- quimiocinas (IL-8, MIP1 β)

- mediadores solúveis (prostaglandinas, histamina)

ATIVAÇÃO SISTEMICA



Resolução da Inflamação

Eliminação do patógeno/dano

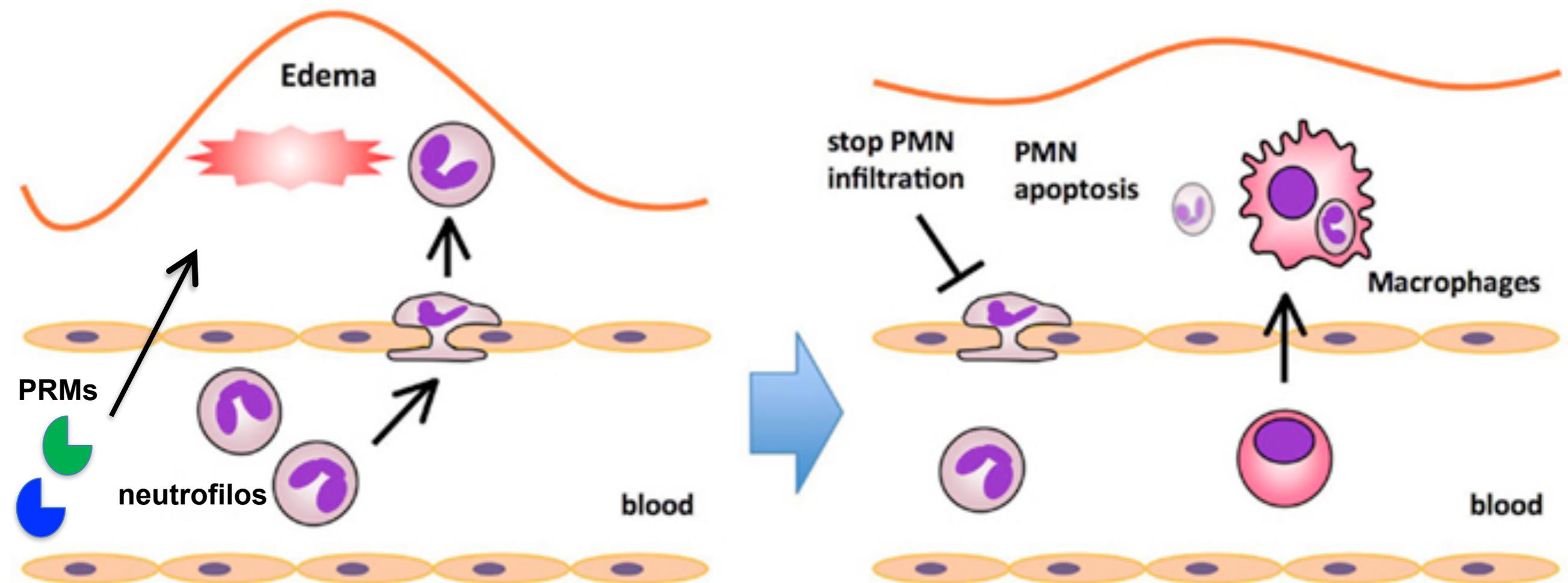
Volta a normalidade a micro-circulação

Para a infiltração de leucocitos e plasma

PMN apoptóticos, “debris” são removidos por Mø

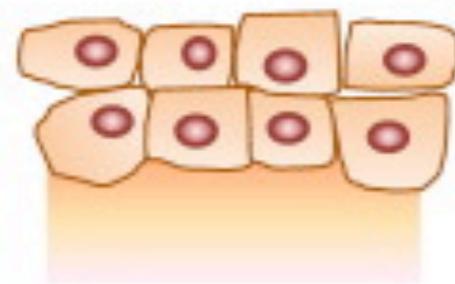
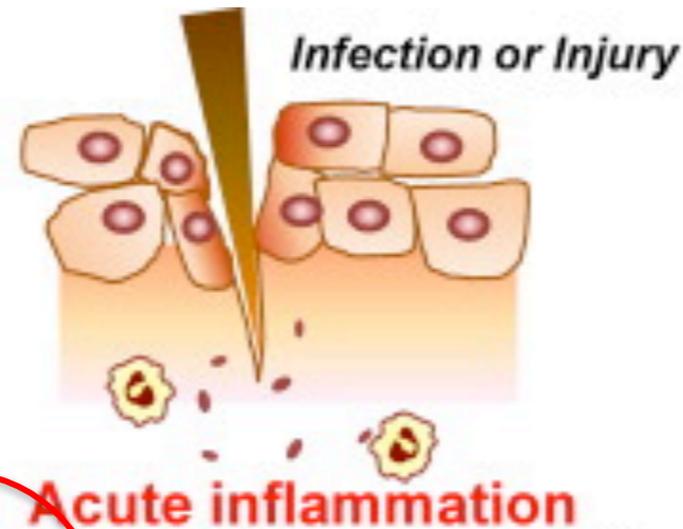
Acute Inflammation

Resolution



Resolução da Inflamação

RESPOSTA
INFLAMATORIA CRONICA
(nao resolutive, demorada)
→ patologias



Resolution

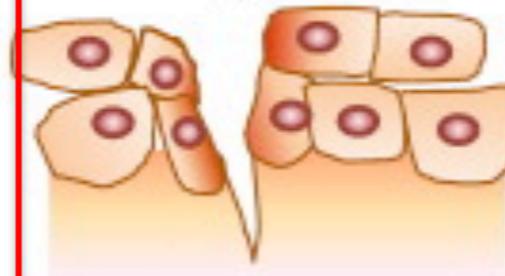


Return to homeostasis

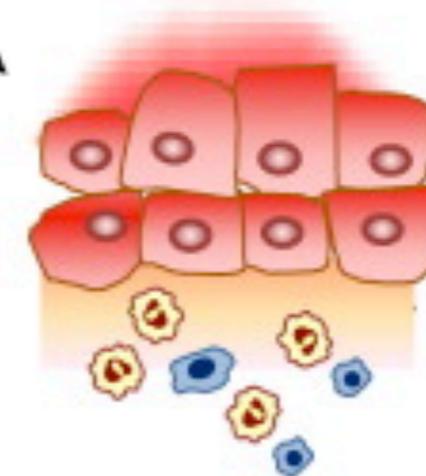
M ϕ M2

Acao anti-inflamatoria
(IL-10, TGF β)

Acao de remodelamento tecidual
(FGF, VEGF)



Scar

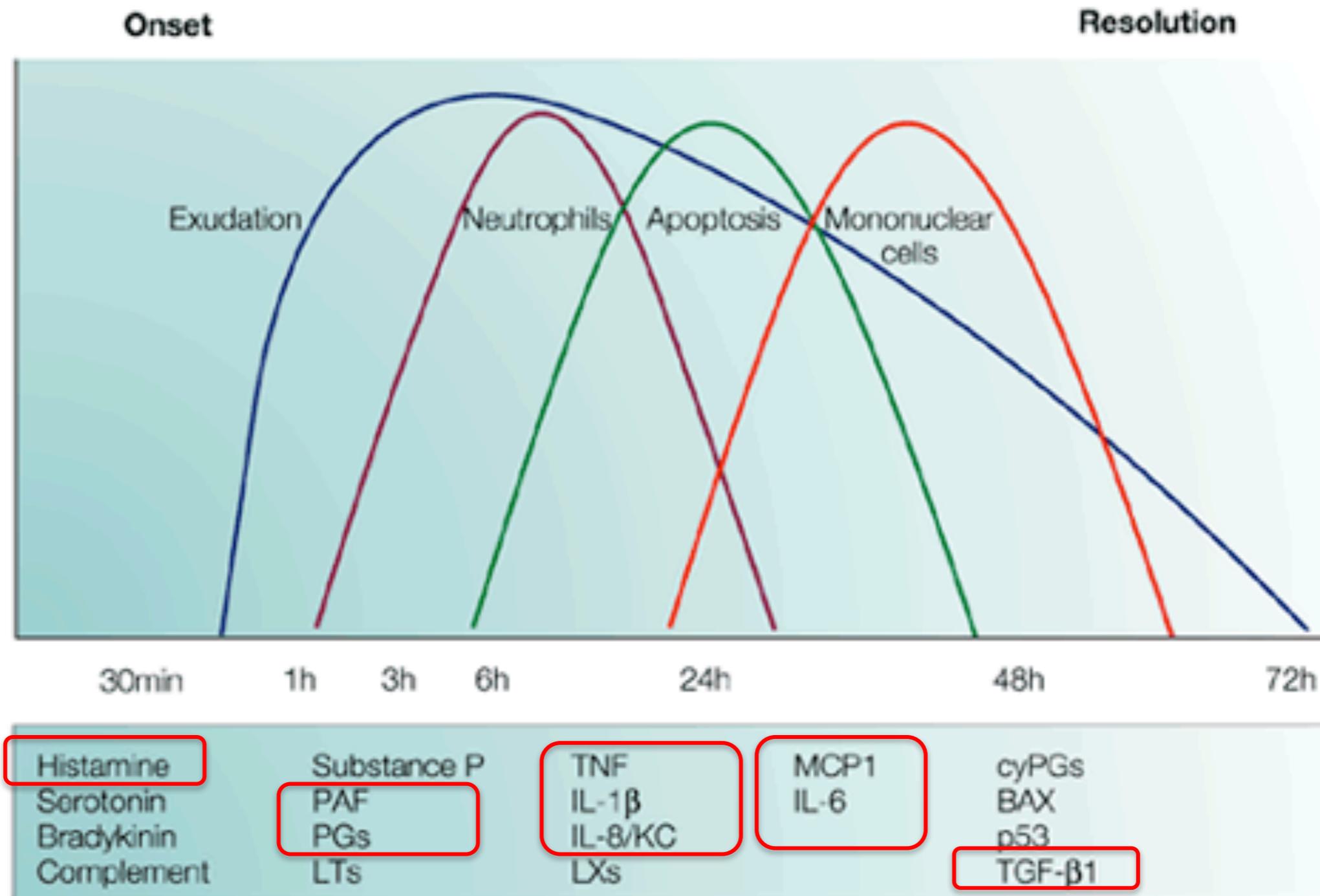


Chronic inflammation



- Atherosclerosis
- Asthma
- Multiple sclerosis
- Rheumatoid arthritis
- Inflammatory bowel disease
- Obesity
- Cancer

Fases da Inflamação



Farmacos anti-inflamatorios

