

# O Sistema Imune

Dr. Jean Pierre Schatzmann Peron

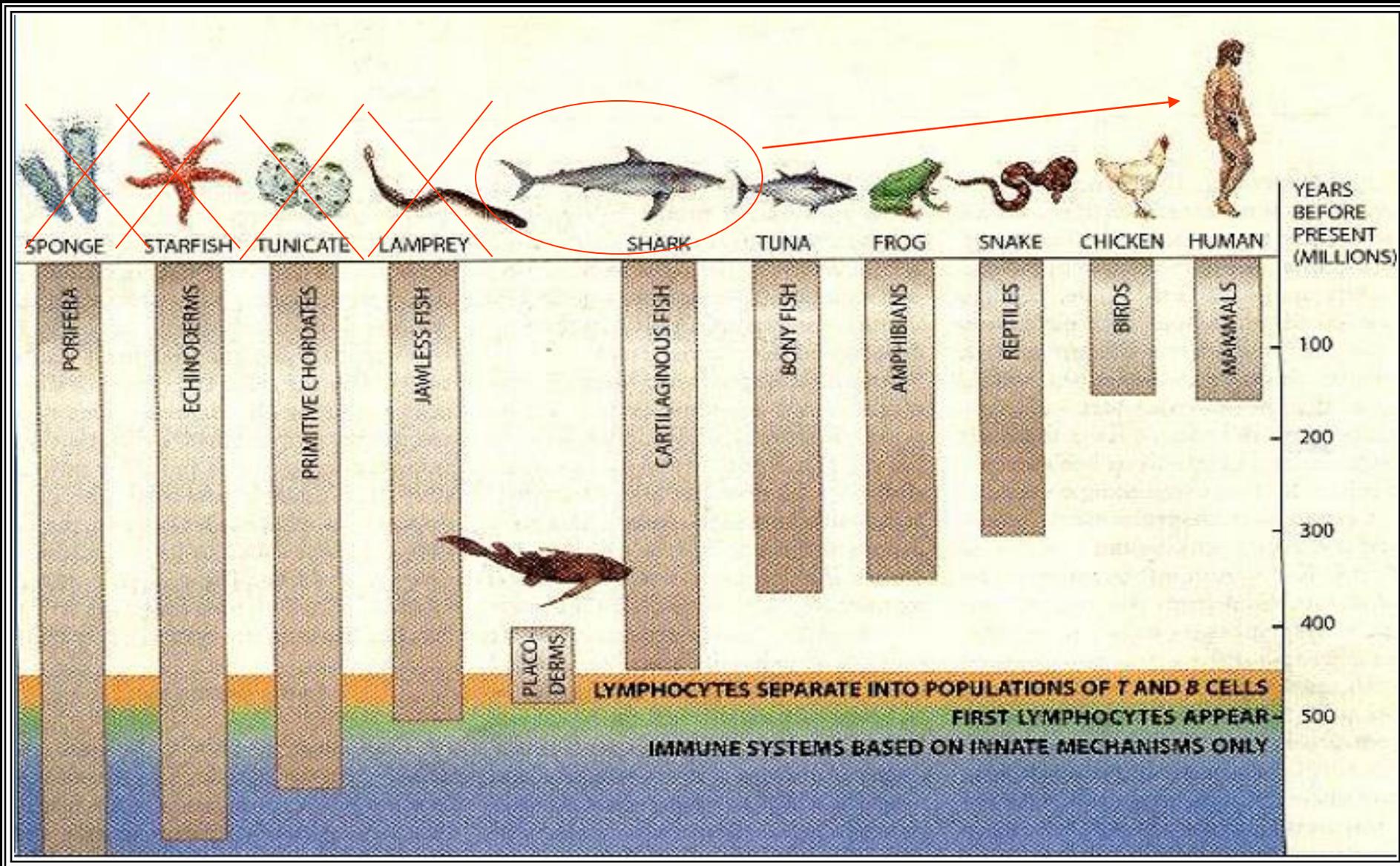
Prof. Dr. Luiz Vicente Rizzo

ICB IV - USP

# Objetivos

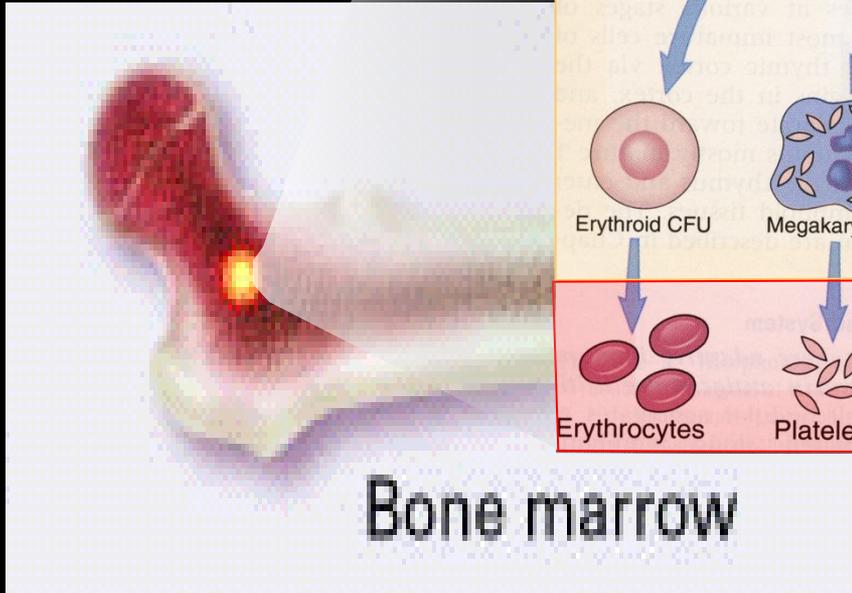
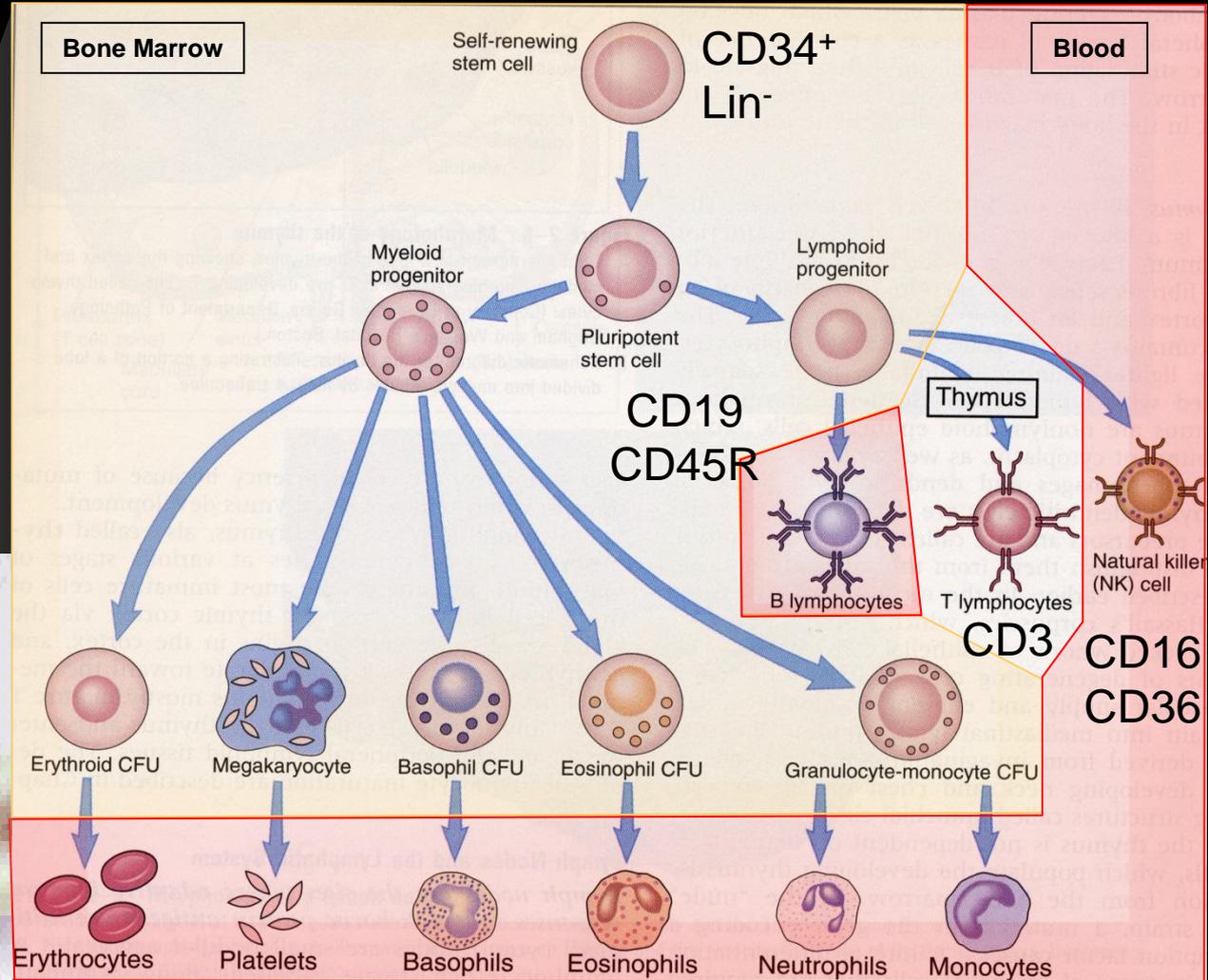
- Células do Sistema Imune
  - Organização
  - Interações celulares
- A Resposta imune *per se*
  - Auto-imunidade
- Esclerose Múltipla e seu modelo murino

# Uma História Imunológica



# Bases Celulares

## Origem das células do Sistema Imune



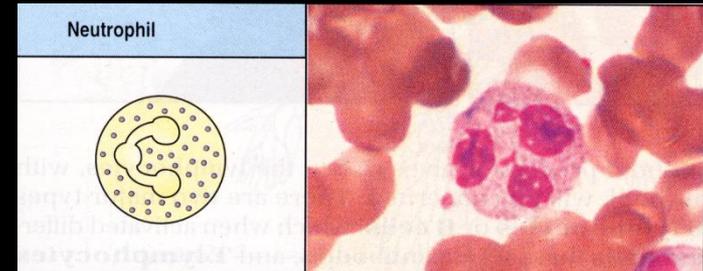
Gr-1<sup>+</sup>  
CD11b<sup>+</sup>

Gr-1<sup>+</sup>

CD11b  
CD14  
TLRs

# Células do Sistema Imune Inato

- **IMUNIDADE INATA**
- Primeiras células infiltrantes,
- Grande capacidade fagocítica e microbicida:
- Mecanismos efetores ROS RNS (SOD, NADPH Oxidase, iNOS, Mieloperoxidase)
  
- Importante contra helmintos
- Respostas alérgicas (tecidos conectivos das mucosas) (Asma)
- Receptores para IgG1(anafilática) e IgE (CD23)
- Grânulos: Proteína catiônica eosinofílica, peroxidase, hidrolases, lisofosfolipase
  
- Presença de grânulos básicos no citoplasma
- Envolvido na proteção de mucosas
- Secretam histamina que aumenta a permeabilidade vascular
- Raramente encontrados no sangue (0,5%-1%)



**Neutrófilos**



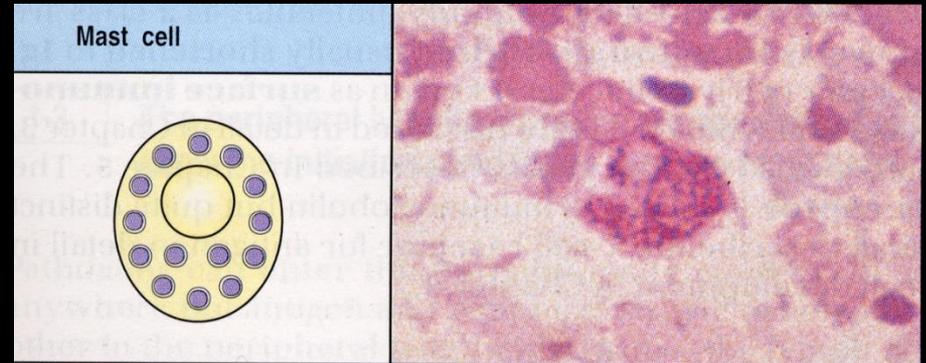
**Eosinófilos**



**Basófilos**

# Células do Sistema Imune Inato

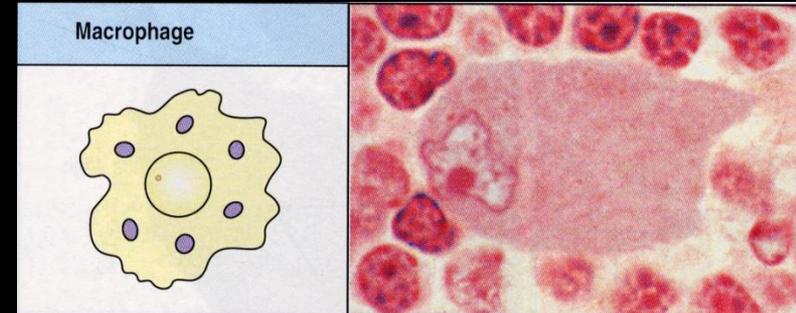
## Mastócitos



- Presente em mucosas
- Receptores de alta afinidade para IgE (CD23)
- Envolvidos em processos alérgicos
- Secretam histamina que aumenta a permeabilidade vascular
- Produzem IL-4 (citocina)

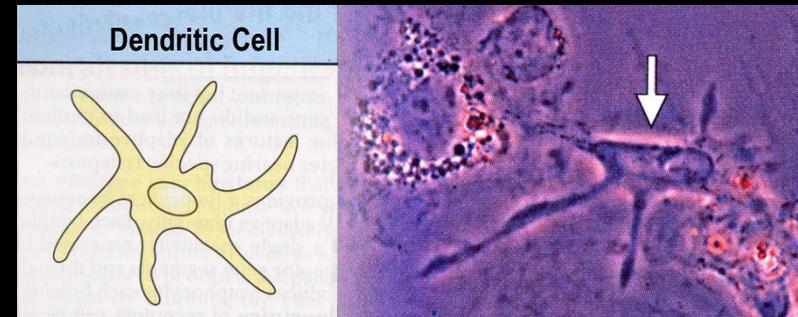
# Células do Sistema Imune Inato

- Receptores para IgG / Complemento (CD11b+)
- Receptores tipo TLR (PAMPS)
- Capacidade fagocítica e microbicida (= Neutrófilos)
- Importantes Células Apresentadoras de Antígeno (APC)
- *LINK* com a IMUNIDADE ADAPTATIVA



**Monócitos / Macrófagos**

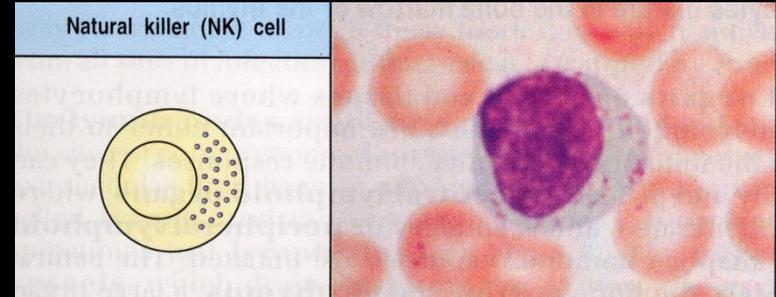
- Importante para a IMUNIDADE ADAPTATIVA
- Progenitor linfóide, CD8<sup>+</sup> e produtoras de IL-12
- Progenitor mielóide, CD14<sup>+</sup> e não-produtoras de IL-12
- Células de Langerhans (epitélios de revestimento) – Mielóide
- Presentes em vários tecidos
- Capacidade fagocítica
- MAIS IMPORTANTES APCS



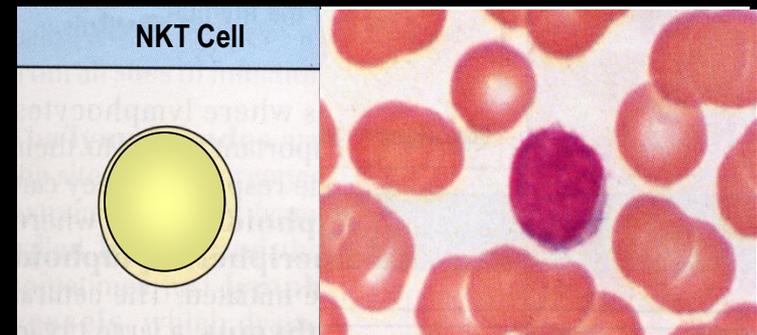
**Células Dendríticas**

# Células do Sistema Imune Inato

- **Destruição de células infectadas com vírus ou células tumorais**
  - **Citotoxicidade mediada por anticorpos (ADCC) via CD16 (FcγRIII)**
  - **Outros receptores (?):**  
CD2 / integrinas / receptor para MHC I (?): lise das células sem ligantes
  - **Grânulos citoplasmáticos (perforina e granzima)**
  - **Modulam as IMUNIDADES INATA E ADAPTATIVA (IFN-γ)**
- 
- **Reconhecem α-Galactoseramida via CD1(a-d) glicolípídeos**
  - **Receptor na membrana: TCR Vβ11Vα24 (humanos)**  
TCR Vβ8Vα14 (camundongos)
  - **Podem produzir IL-4 ou IFN-γ e IL-17**

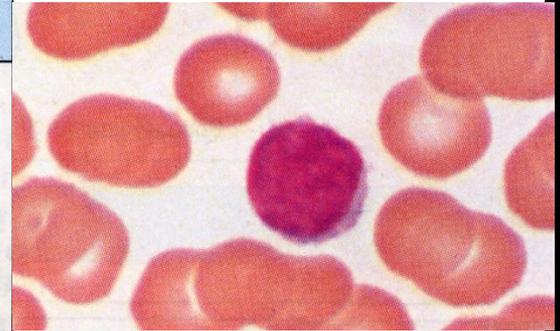
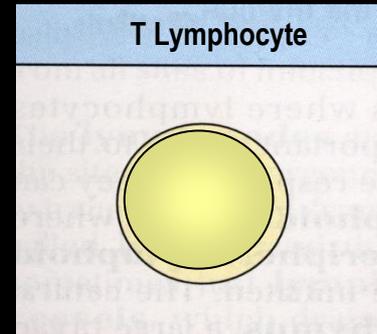
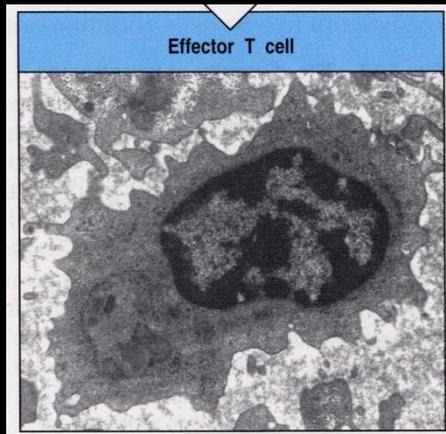


**Células NK**



**Células NKT**

# Células do Sistema Imune Adaptativo



Linfócitos T

- **IMUNIDADE ADAPTATIVA**

- **Receptor antígeno-específico: TCR**

- **CD4, CD8, TCR $\alpha\beta$  ou TCR $\gamma\delta$**

- **Atuam:**

**Infecções virais ou tumores (Células TCR $\alpha\beta$  CD8<sup>+</sup>)**

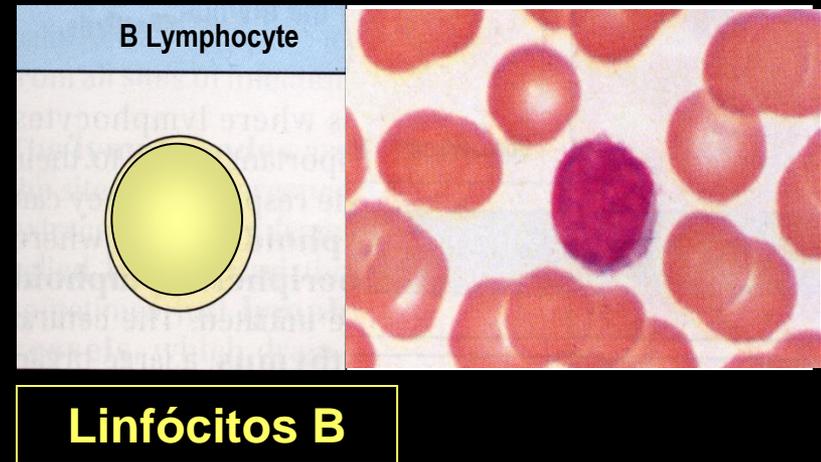
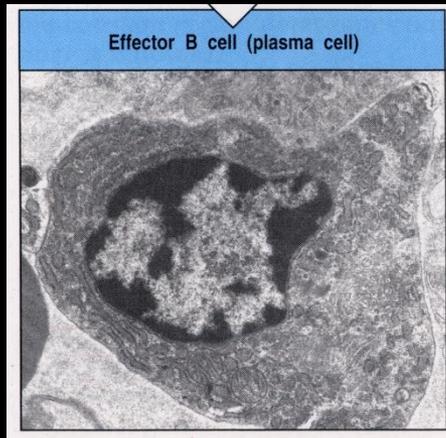
**Infecções bacterianas ou por protozoários**

**São caracterizados segundo citocinas / função (Th1, Th2, Th3, Th17, Tregs)**

**ou seus CDs (*Clusters of differentiation*) (CD4, CD8, CD45RB...)**

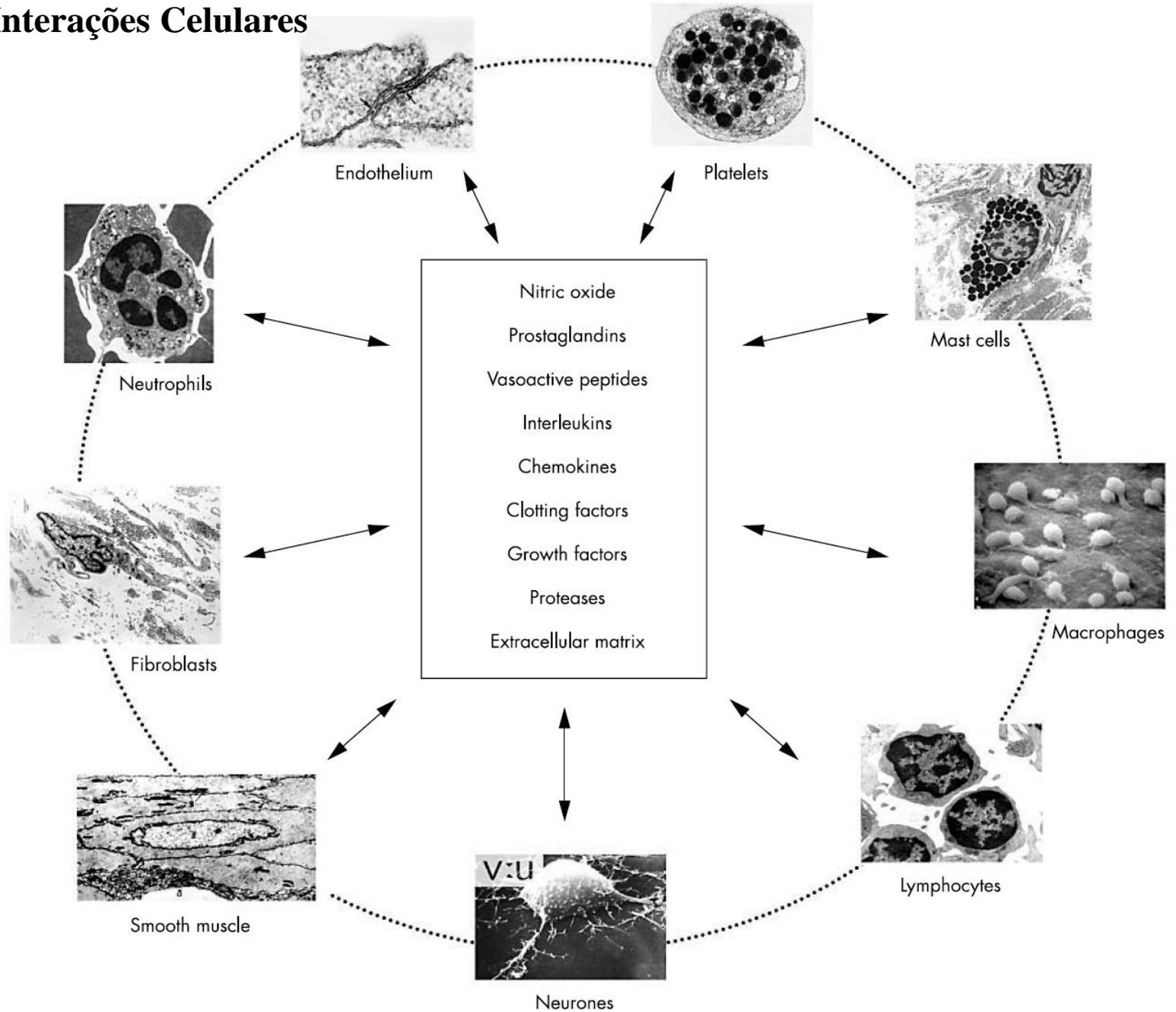
**Reconhecem Ags peptídicos via apresentação MHC**

# Células do Sistema Imune adaptativo



- **IMUNIDADE ADAPTATIVA**
- **Receptor antígeno-específico: BCR (Igs de membrana)**
- **Produzem anticorpos**
- **Plasmócitos (estágio terminal de ativação)**
- **Células Apresentadoras de Antígeno**
- **Produzem citocinas**
- **Reconhecem Ags diretamente**

# Interações Celulares



# Citometria de Fluxo



Eritrócitos

Linfócitos

Monócitos

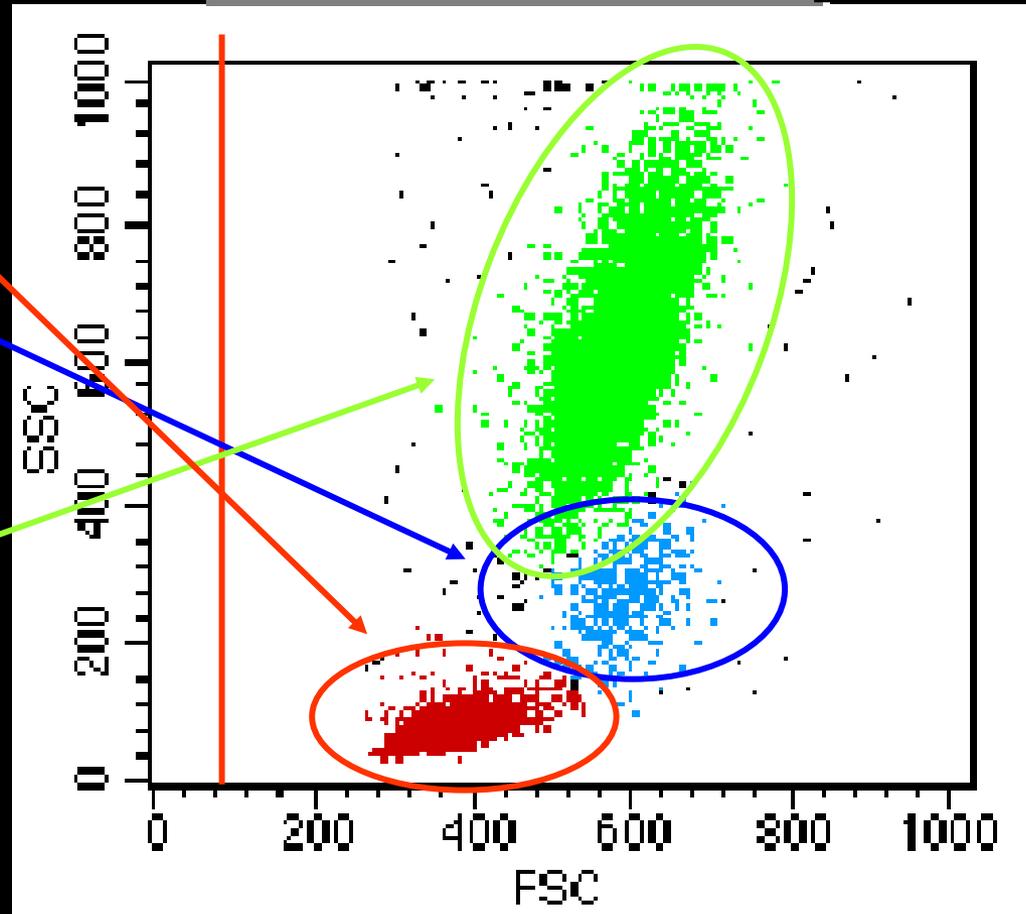
Neutrófilos

Eosinófilos

Basófilos

Trombócitos

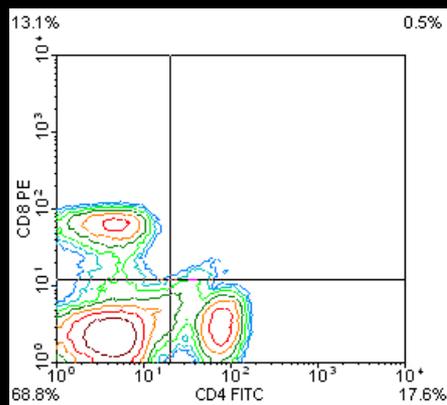
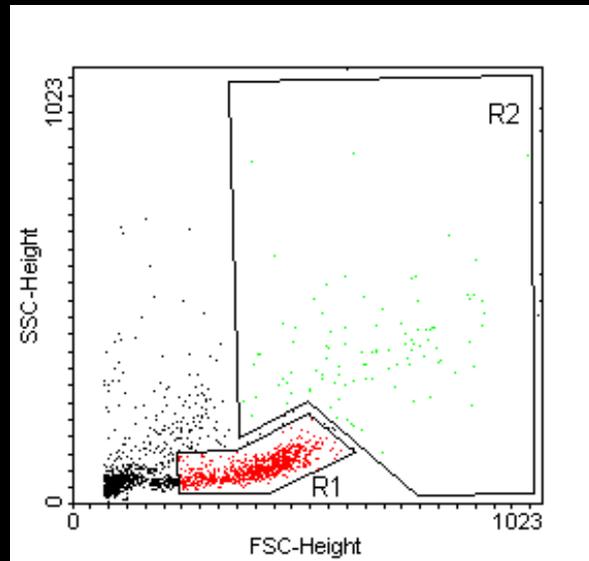
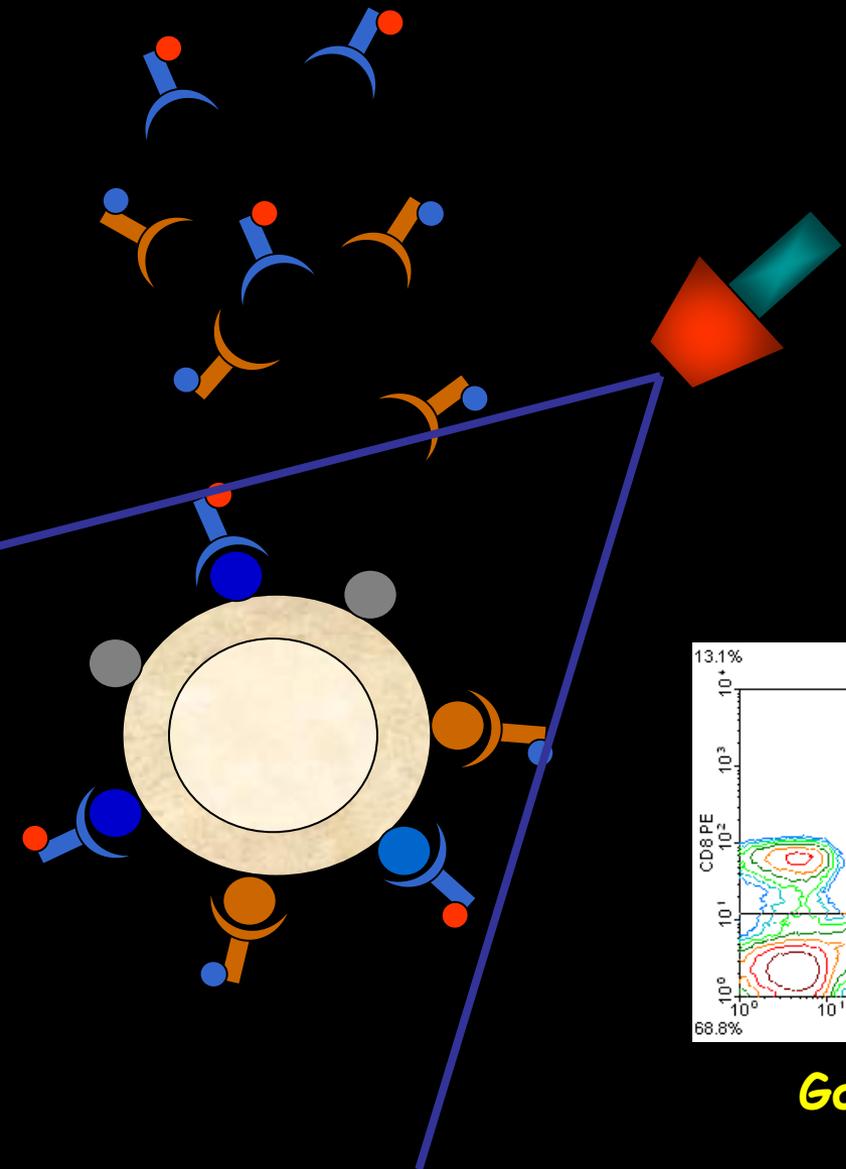
Tamanho X Granulosidade



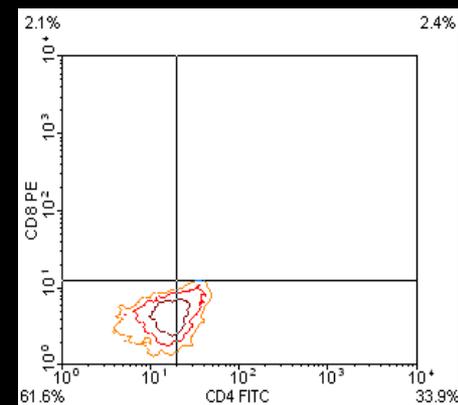
Obs: Amostras não marcadas.

# Marcação com Fluorocromos

Anti-CD4  
Anti-CD8

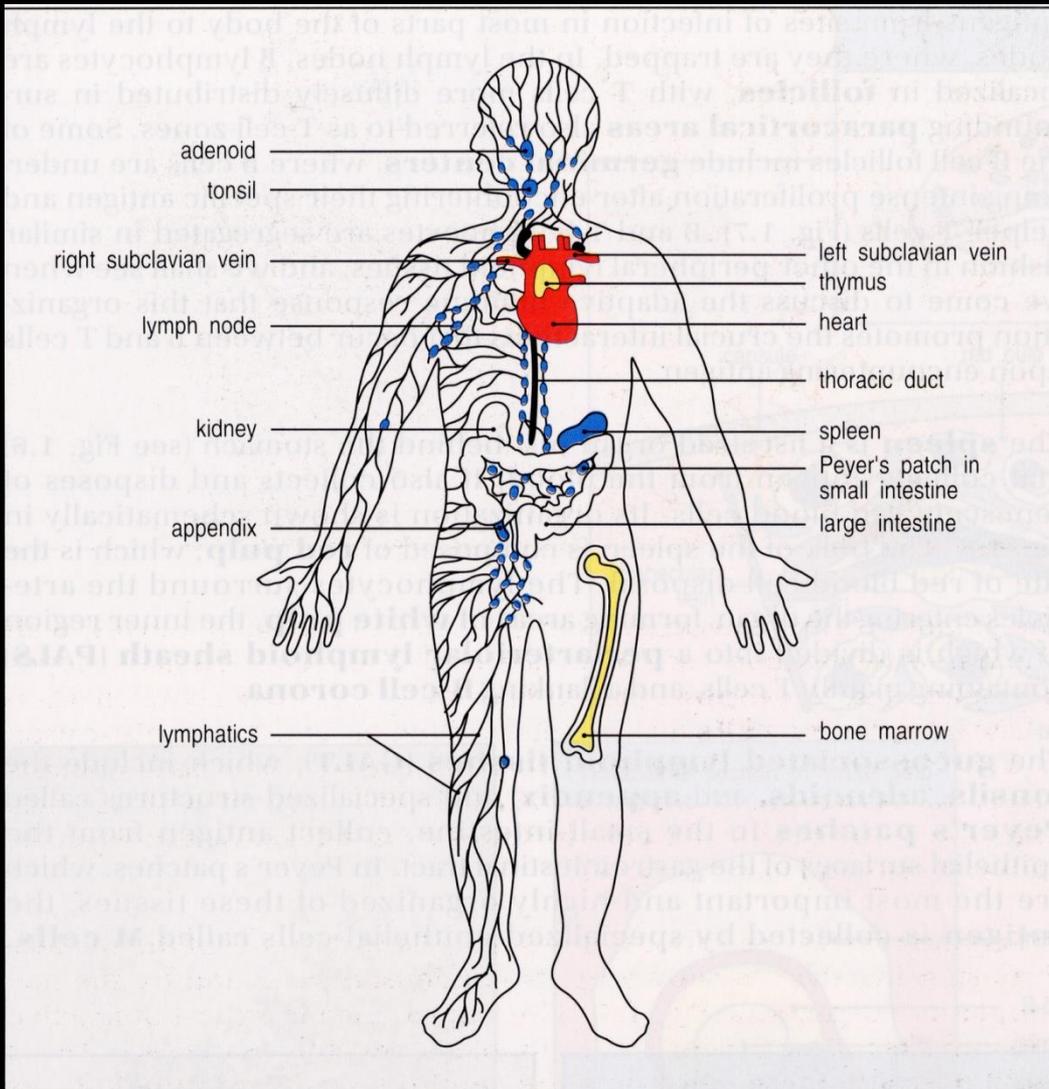


Gate R1

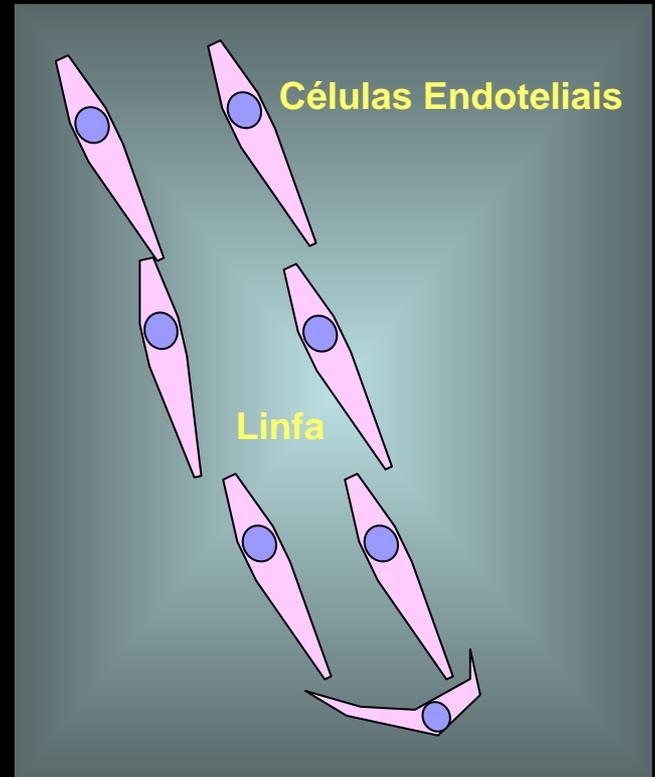


Gate R2

# Órgãos Linfóides



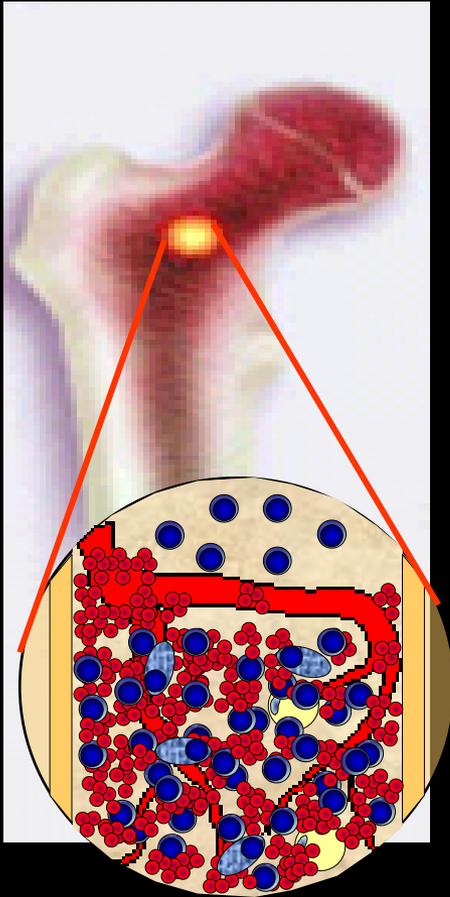
## Vasos Linfáticos



**Linfa: plasma coletado dos tecidos, rico em nutrientes e antígenos**

# Órgãos Linfóides Centrais

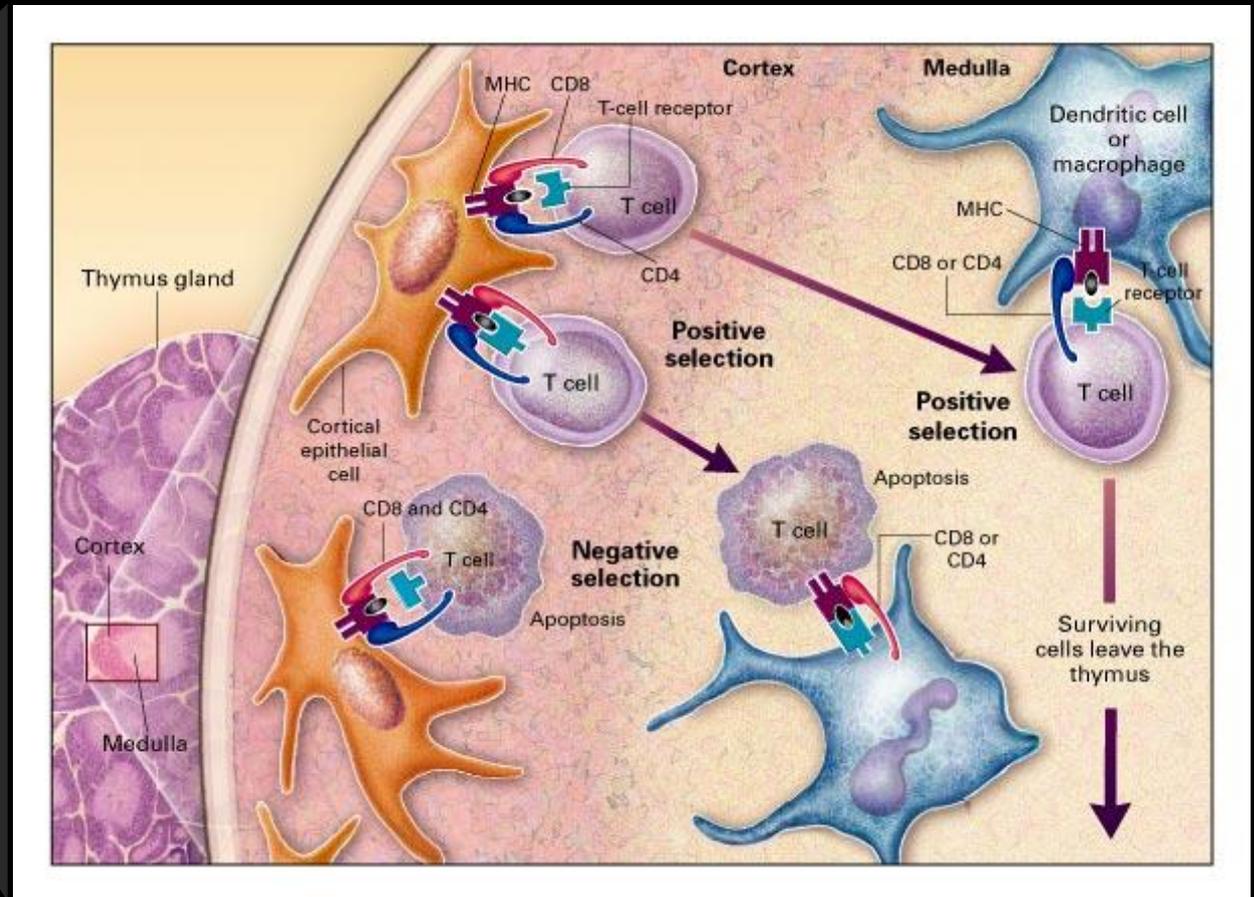
## Medula Óssea



- **Hematopoiese**  
saco vitelino → fígado → baço → medula óssea
- **Ossos achatados**
- **Células pluripotentes: CD34<sup>+</sup> Sca-1<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup>**
- **Produção de Fatores Estimuladores de Colônias (CSF)**
- **Grande concentração de Plasmócitos**
- **Maturação de Linfócitos B**

# Órgãos Linfóides Centrais

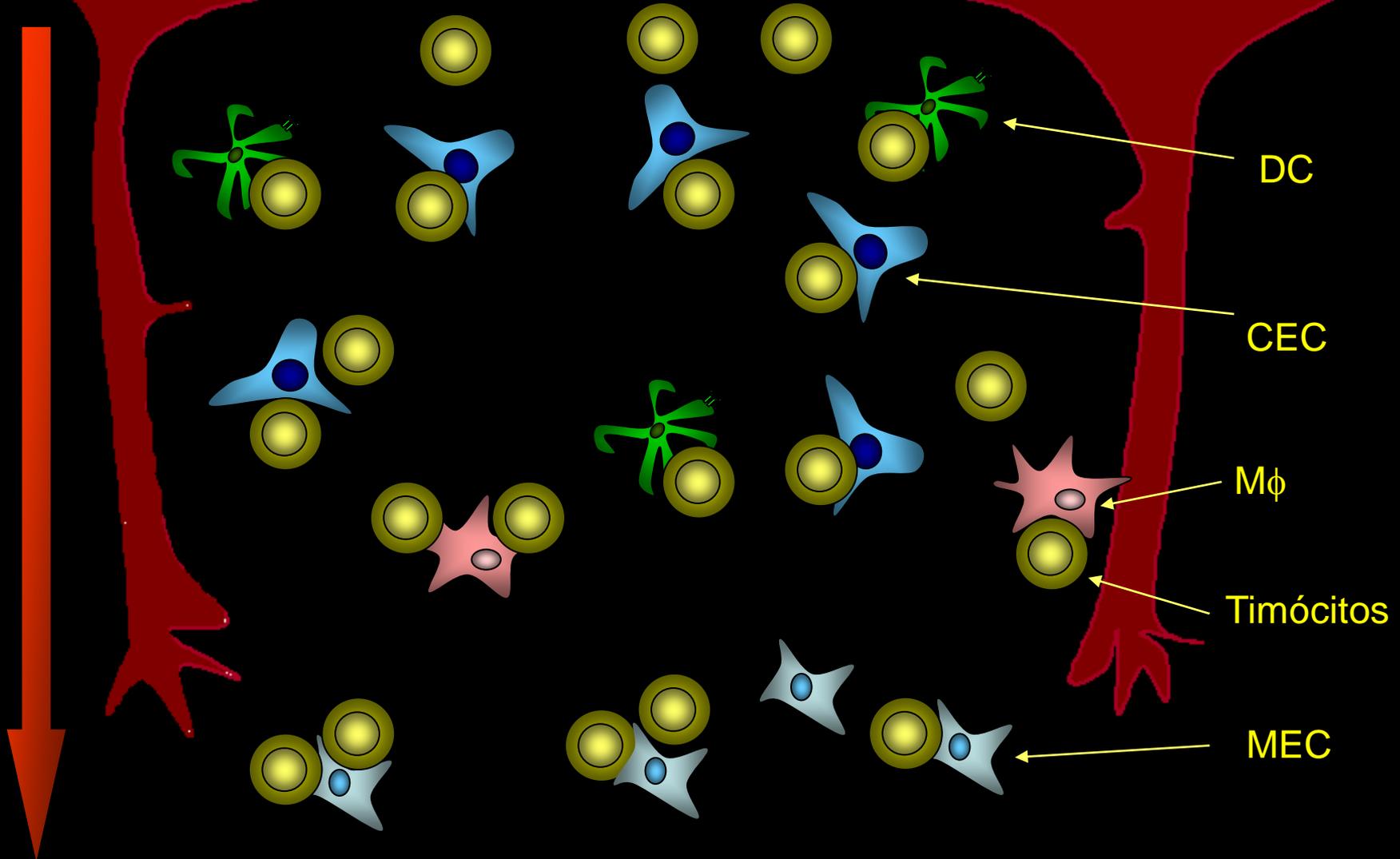
## Timo



- Bilobado
- NUDE: sem pelos e timo
- Maturação de Linfócitos
- Migração do Córtex para a Medula

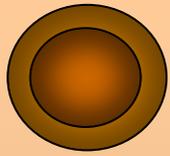
# Migração Intra-Tímica e Maturação das Células T

Maturação



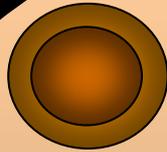
# Maturação

Medula



CD4<sup>-</sup>  
CD8<sup>-</sup>  
TCR<sup>-</sup>

Timo

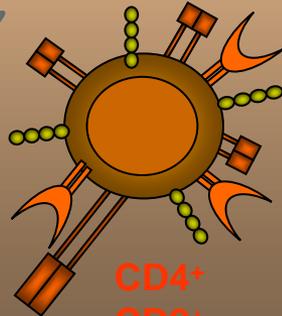


CD4<sup>-</sup>  
CD8<sup>-</sup>  
Rearranjo  
TCR

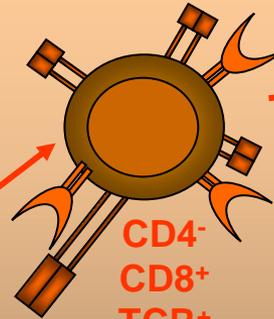
MHC I



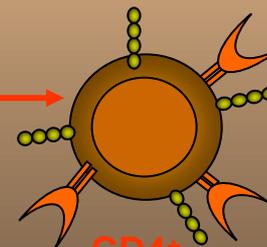
MHC II



CD4<sup>+</sup>  
CD8<sup>+</sup>  
TCR<sup>low</sup>

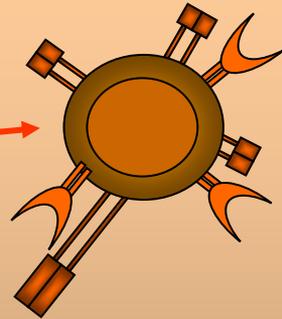


CD4<sup>-</sup>  
CD8<sup>+</sup>  
TCR<sup>+</sup>

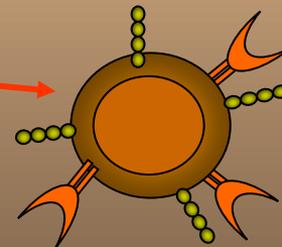


CD4<sup>+</sup>  
CD8<sup>-</sup>  
TCR<sup>+</sup>

Periferia



T Citotóxico



T helper

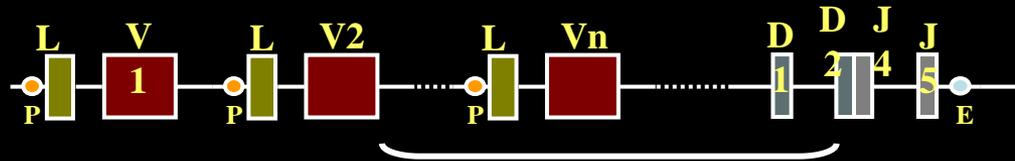
Córtex

Medula

# Rearranjo V(D)J do TCR

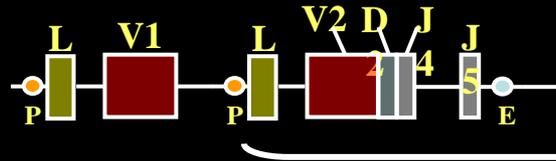


Rearranjo DJ



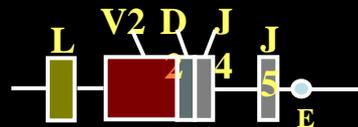
DNA

Rearranjo VDJ



DNA

Transcrição



— RNA Primário

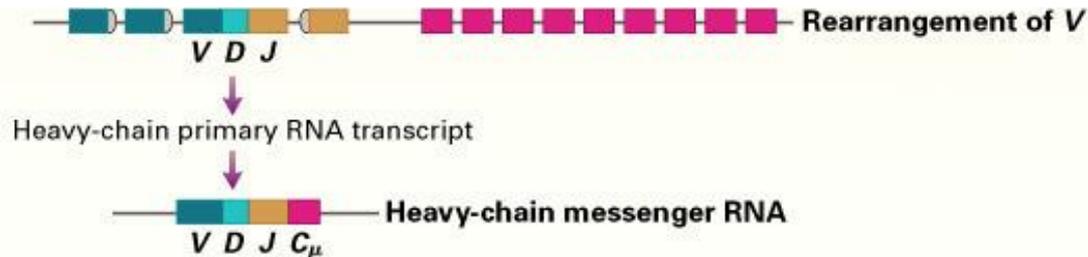
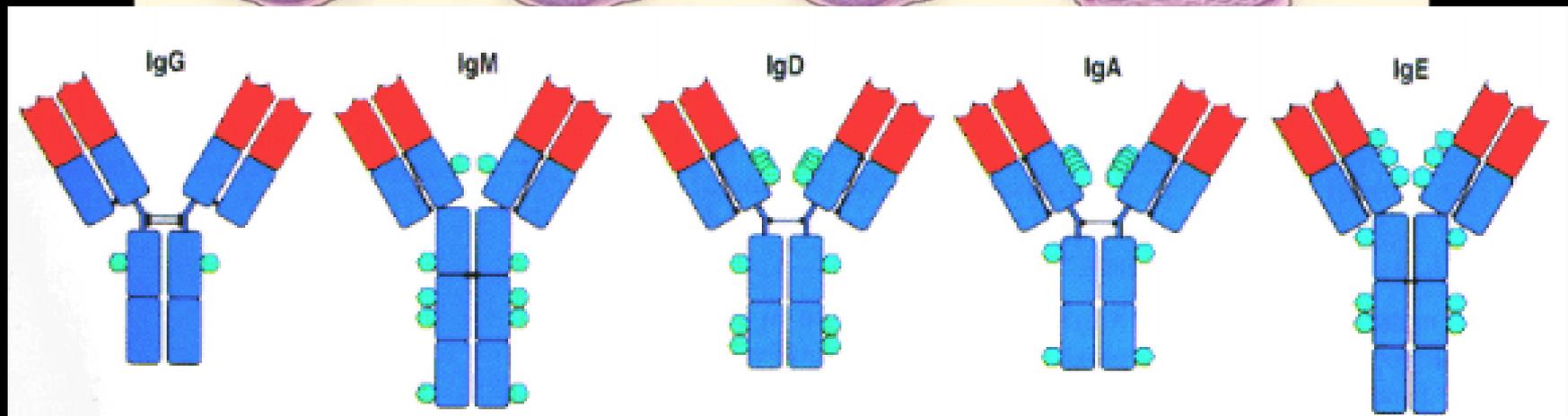
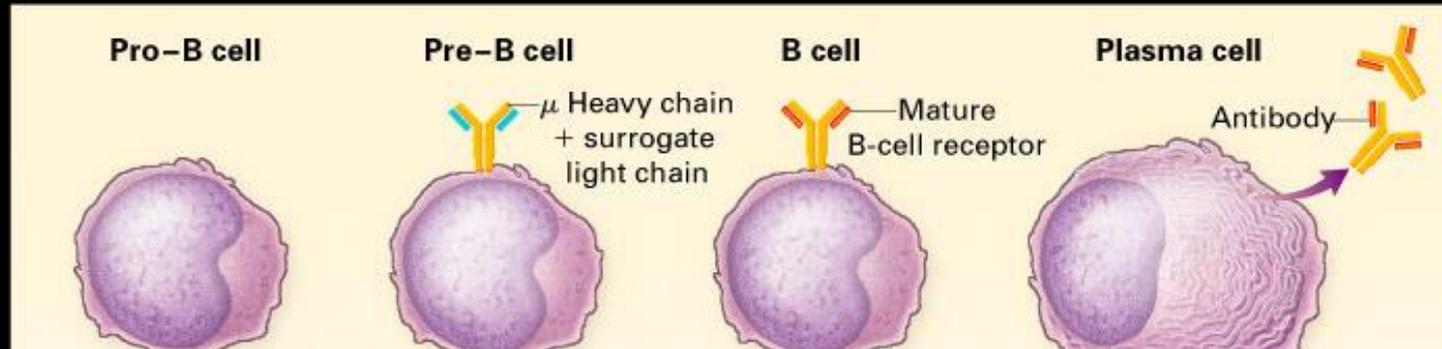
## Especificidade da Célula T

# Síndrome Di George e Camundongos NUDE



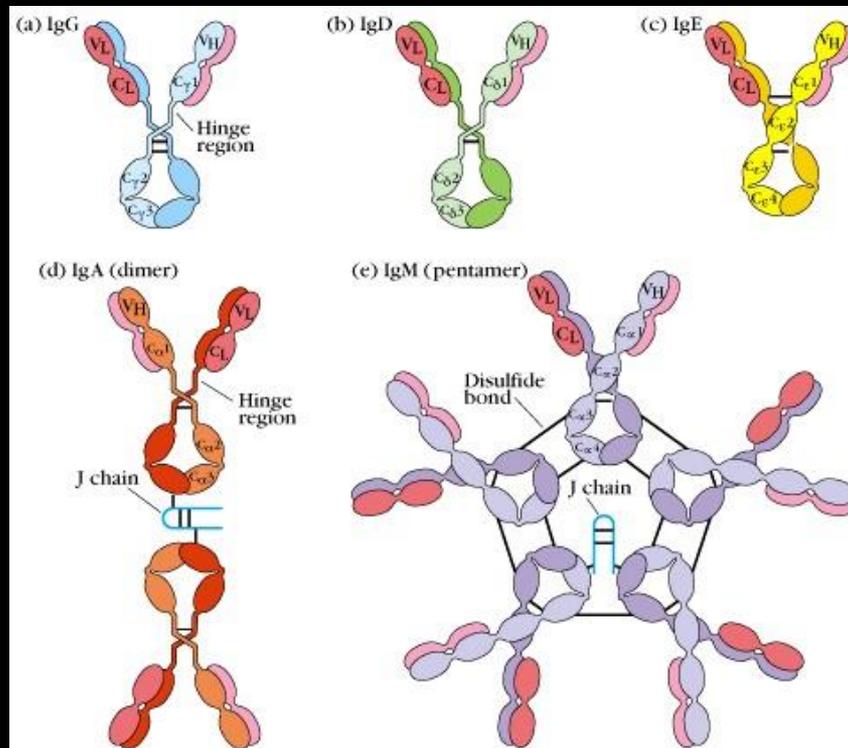
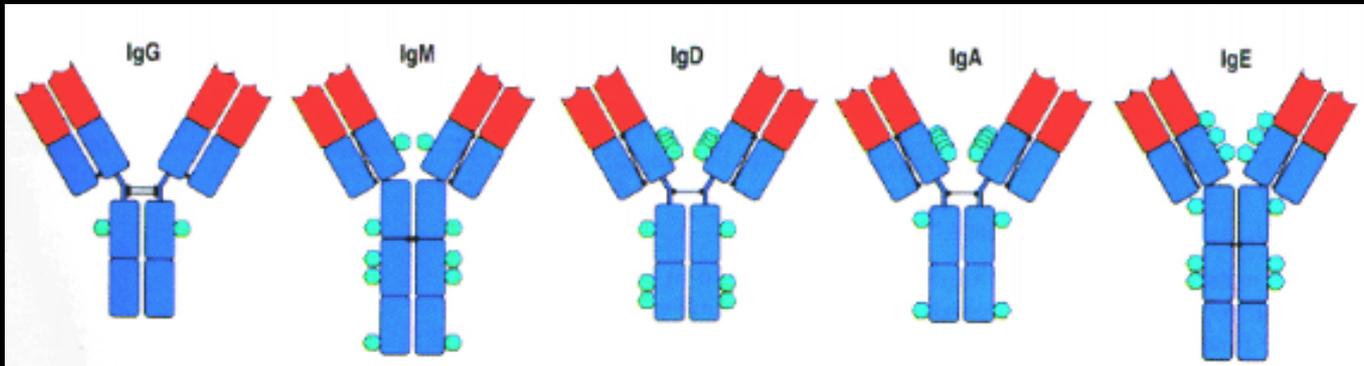
Deficientes para *foxn1*

# Receptores de Células B



Copyright © 2000 Massachusetts Medical Society

# Anticorpos ou Immunoglobulinas



# Comprovação da Recombinação Somática



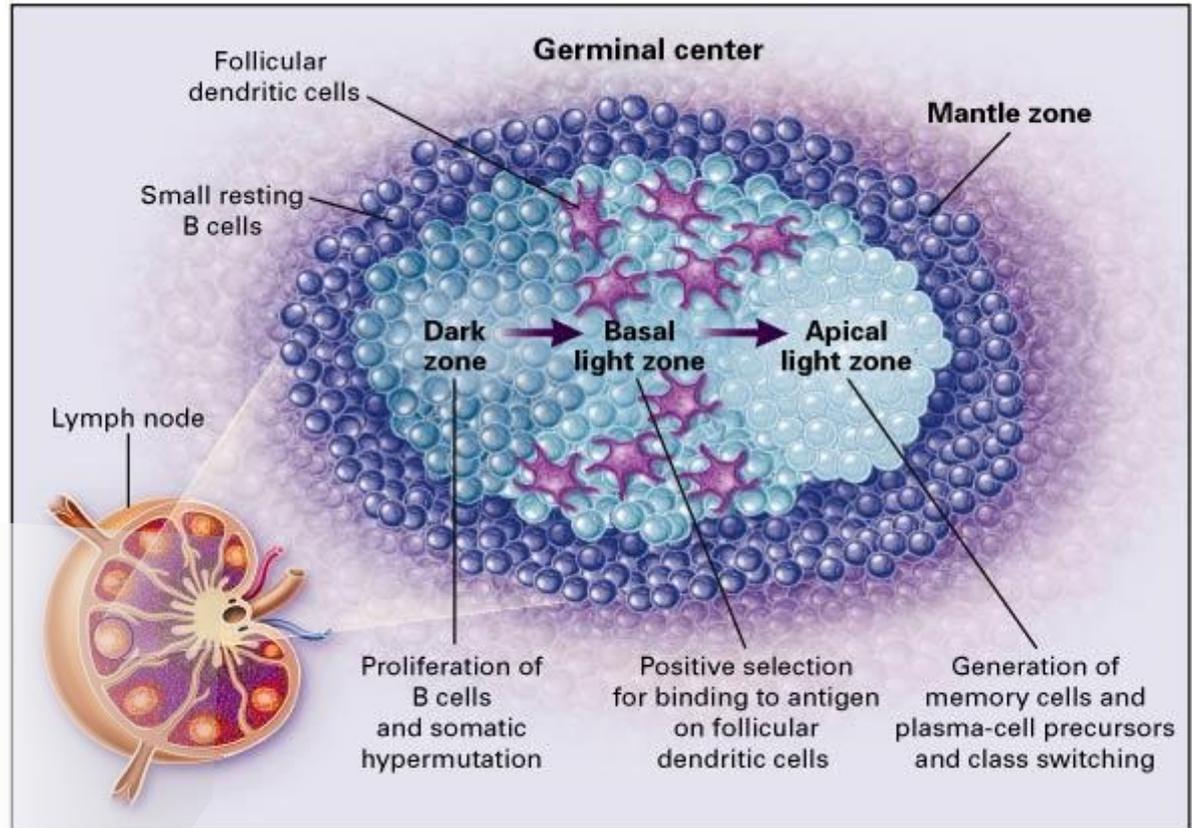
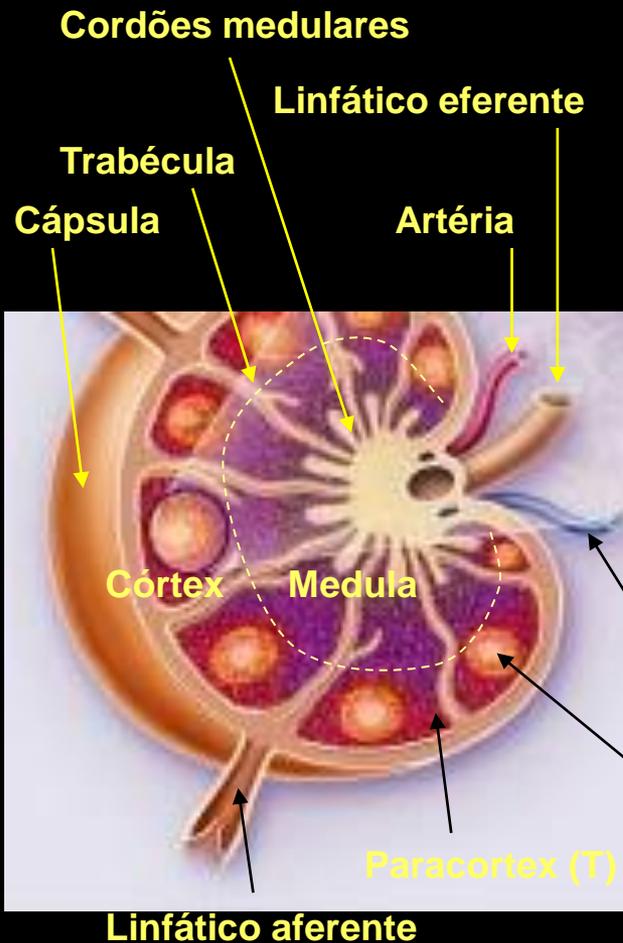
***Susumo Tonegawa***

**1975: DNA de fibroblastos não rearranjado;  
DNA de células B rearranjado**

- **DNA de Fibroblastos (digerido)**
- **DNA de Hybridomas de Células B (digerido)**
- **Sondas de DNA**

# Órgãos Linfóides Periféricos

## Linfonodos



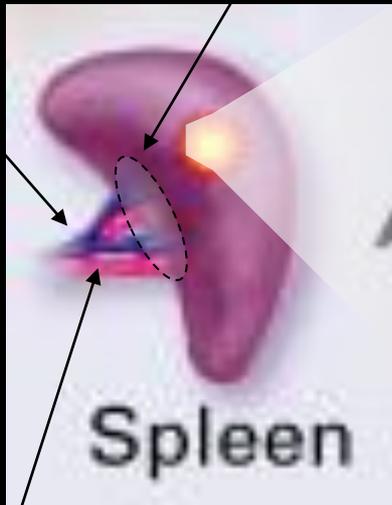
- Vênulas: Células Endoteliais "Altas" (HEV)
- Folículos Primários
- Folículos Secundários (Centros germinativos)

# Órgãos Linfóides Periféricos

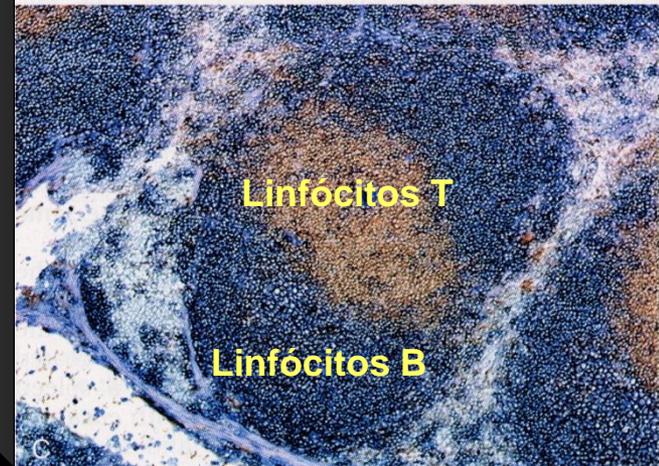
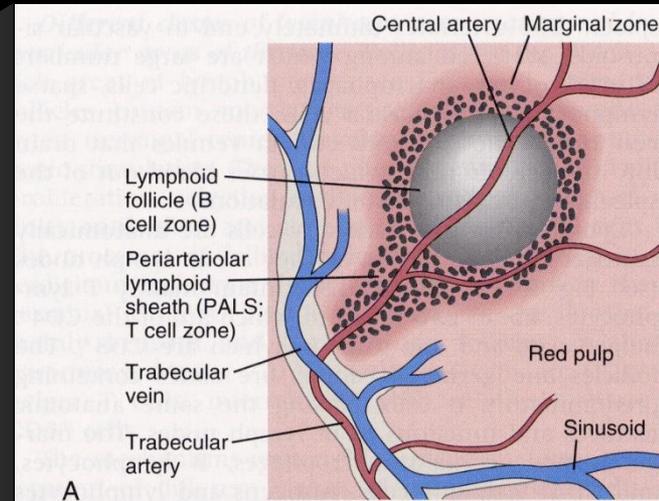
## Baço

Veia Esplênica

Região do hilo

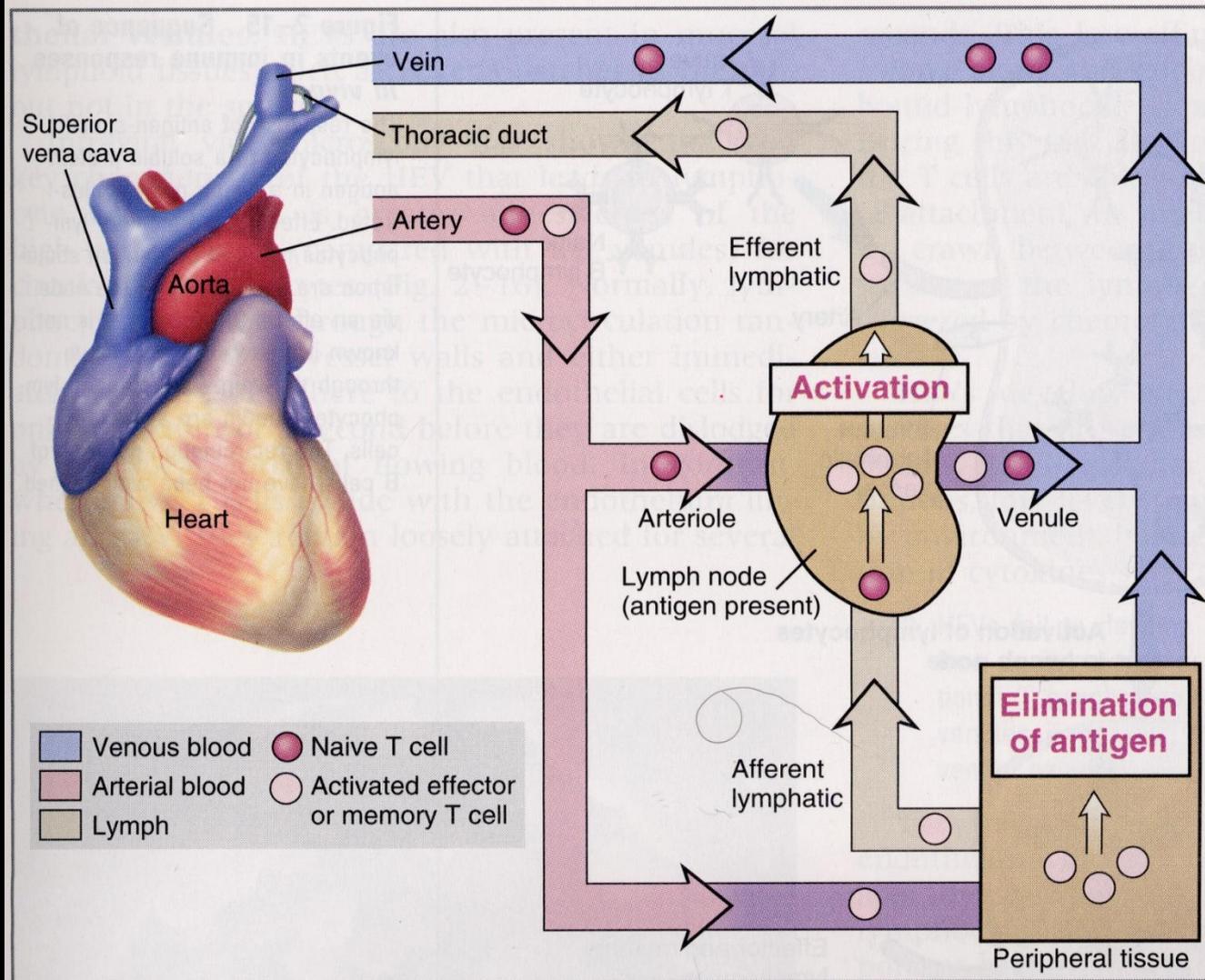


Artéria Esplênica



- Sinusóides vasculares (Entrada do Antígeno)
- Não possuem HEV
- Filtra o sangue, e remove células velhas ( Ác. Siálico)

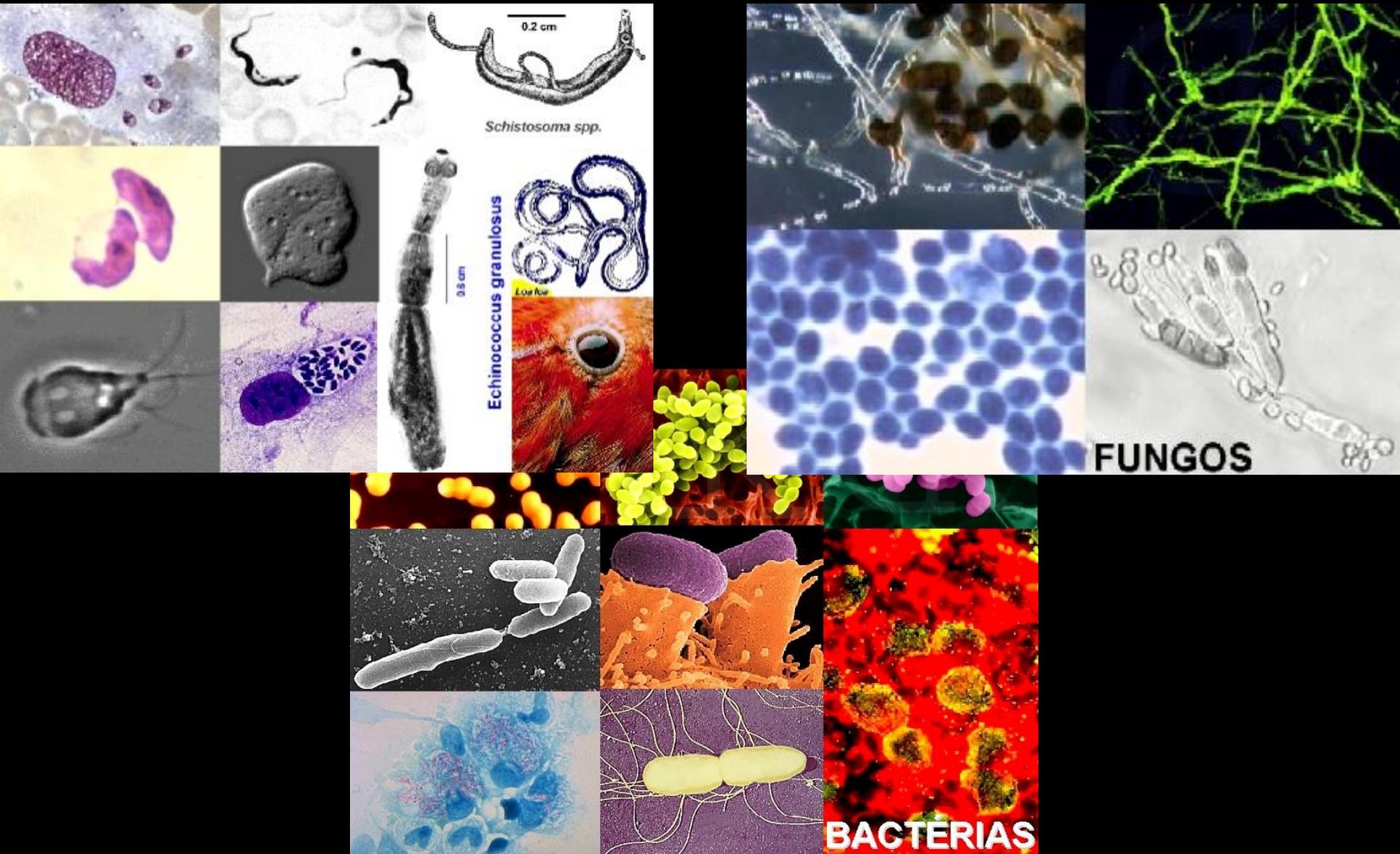
# Recirculação Linfocitária



Mas como as células do sistema imune interagem com os Ags?

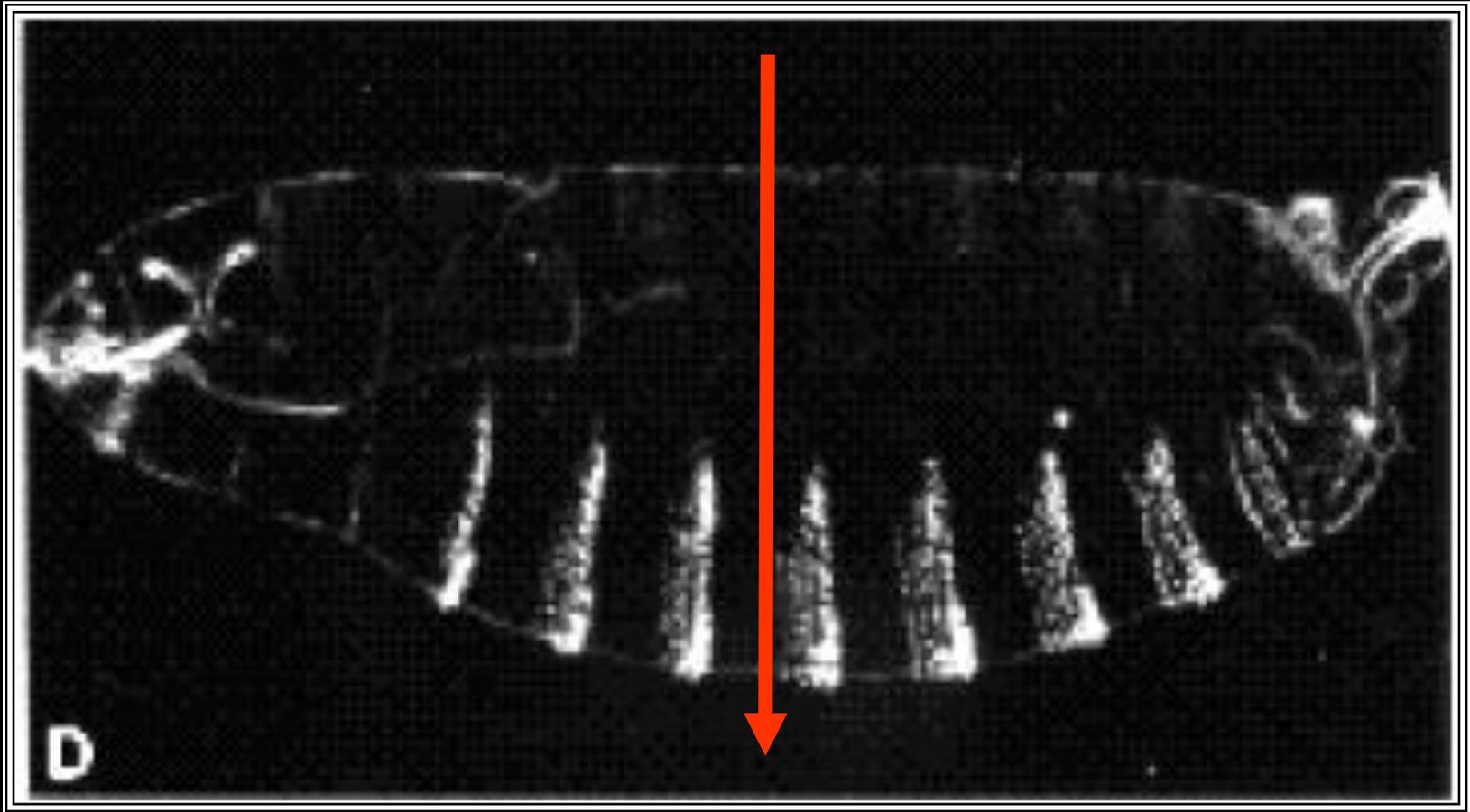


# Imunidade Inata e seus Receptores

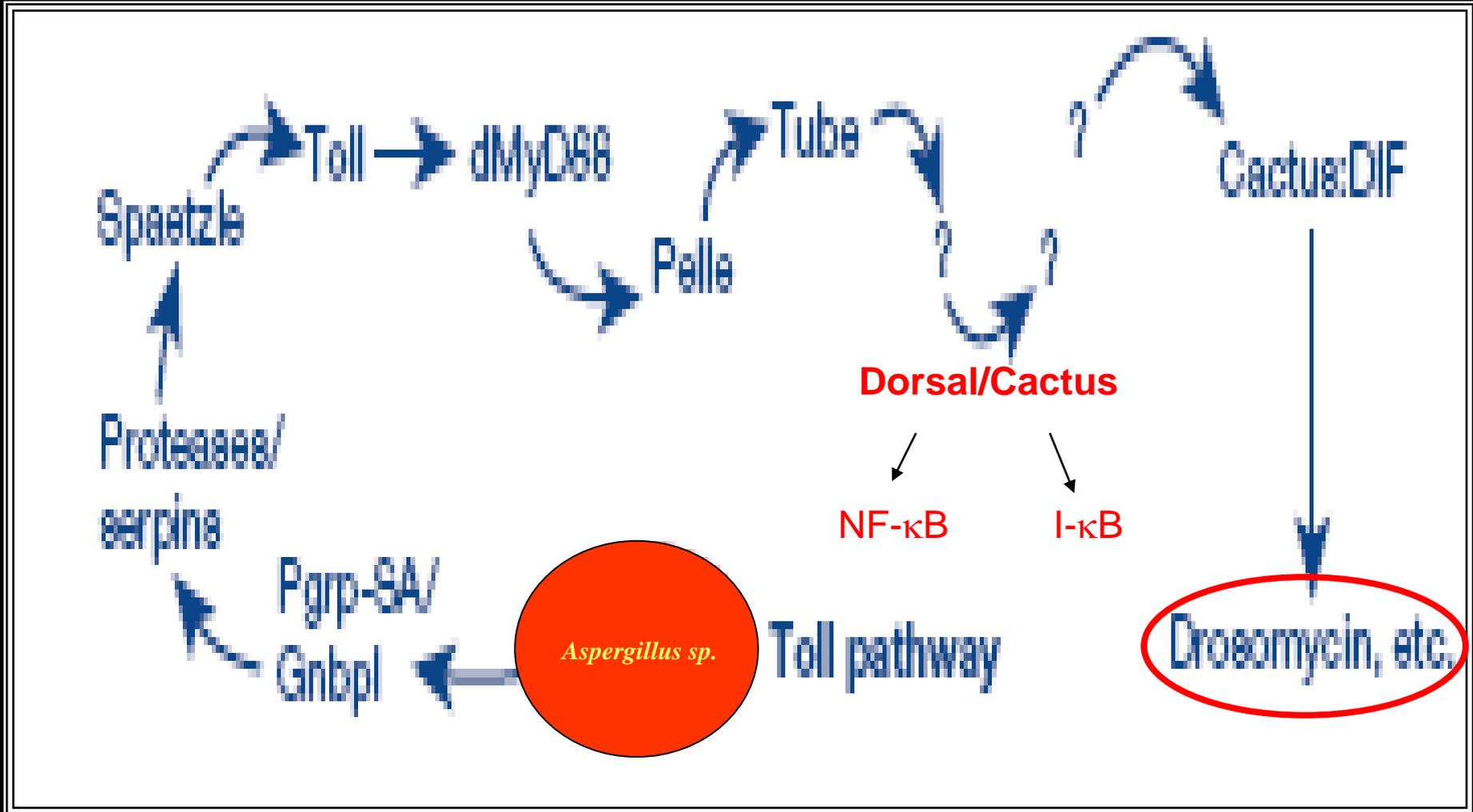


# Toll Protein

- (1985):Orientação dorso-ventral do embrião de Drosófilas.



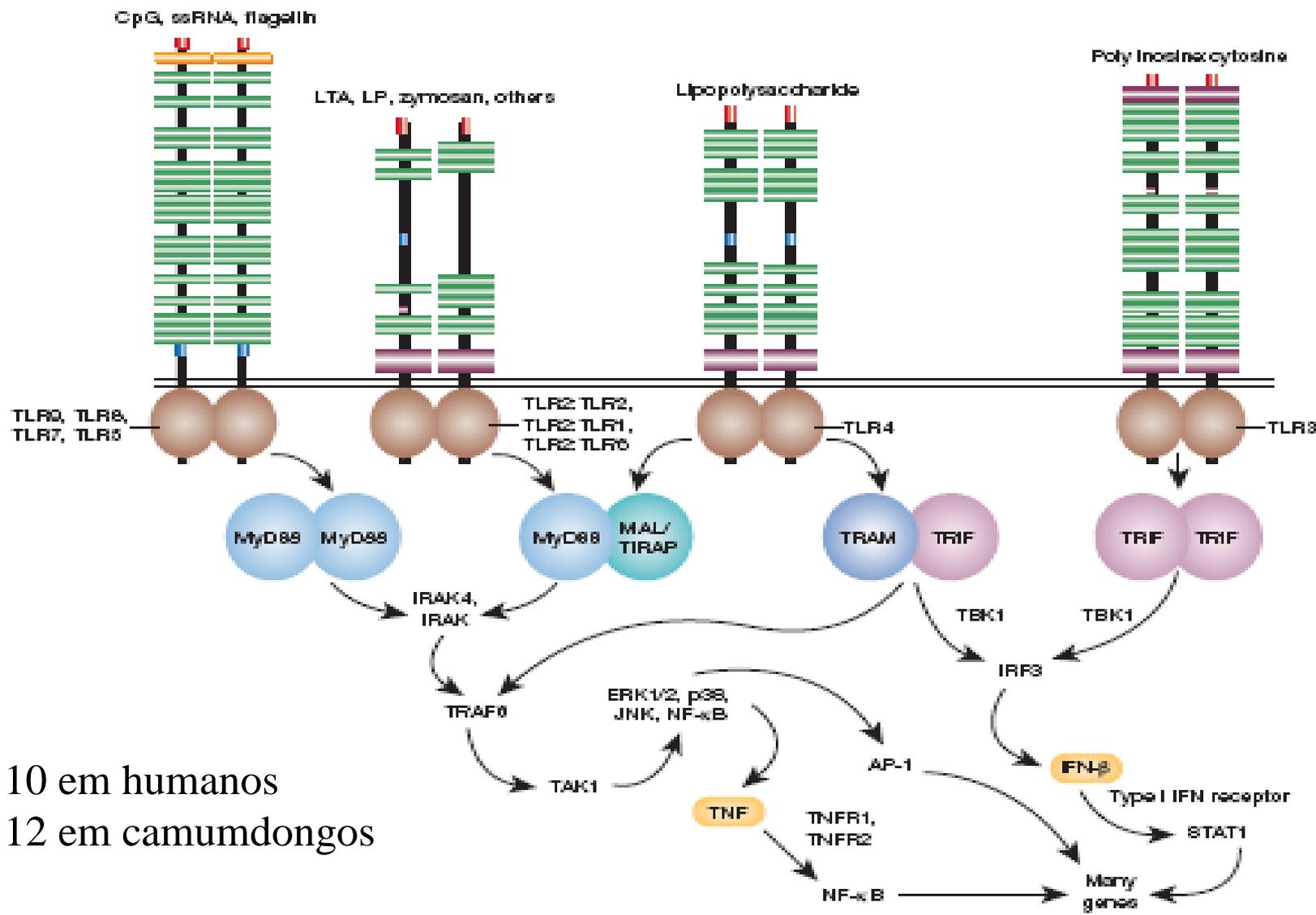
- (1996): *Resposta a Aspergillus fumigatus.*



# Charles A. Janeway – Ruslan Medzhitov

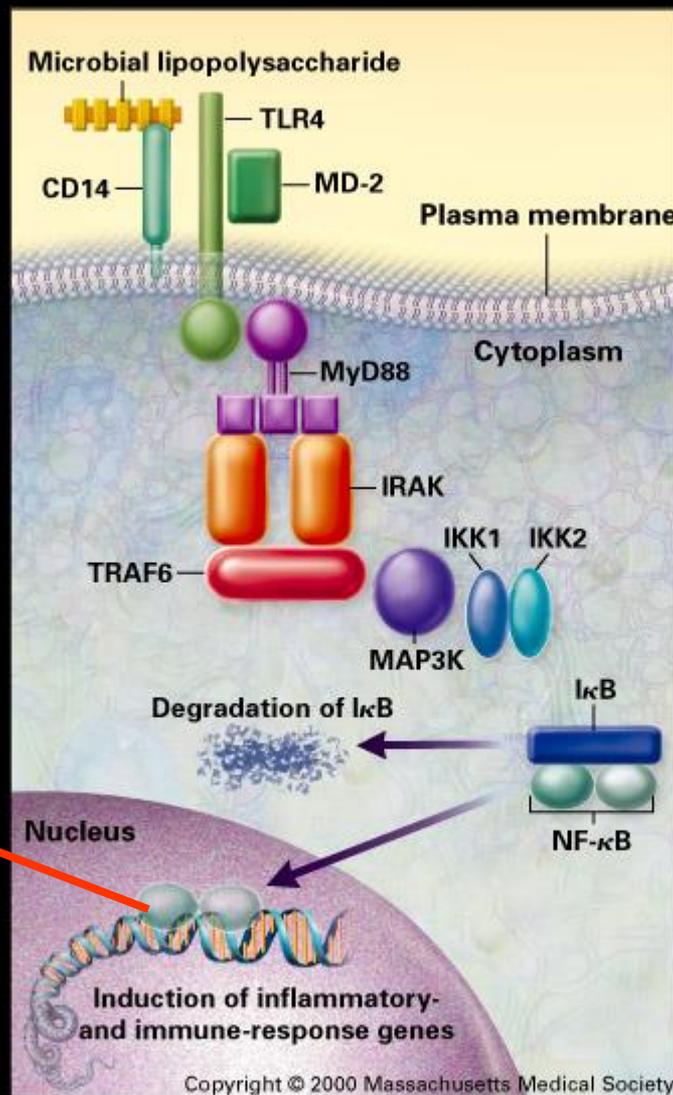


# Família Toll-like Receptor



10 em humanos  
12 em camundongos

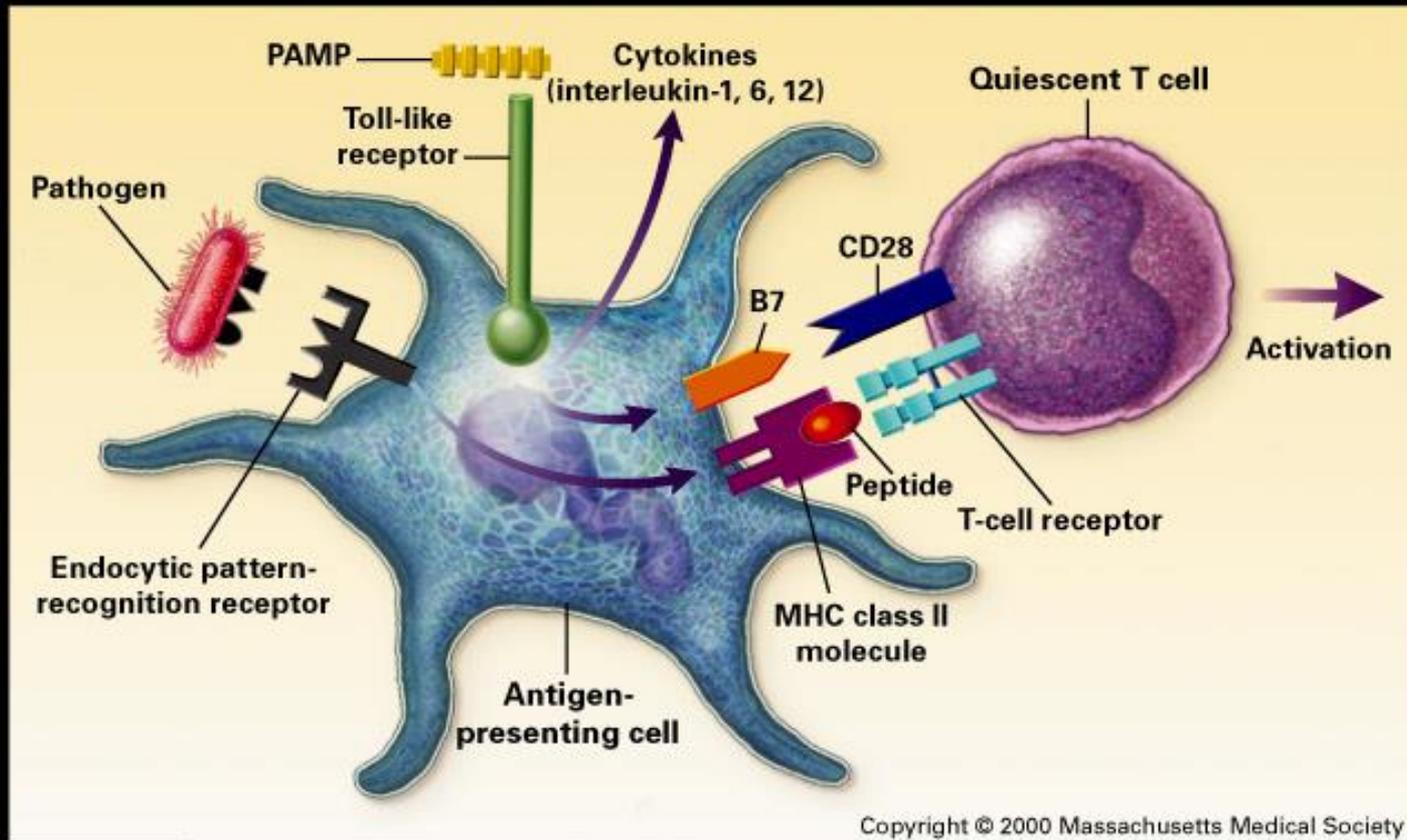
# Via de Sinalização do TLR-4



**CITOCINAS  
PRÓ-INFLAMATÓRIAS**

**IL-1  
IL-6  
IL-12  
TNF- $\alpha$**

# Link Entre a Imunidade Inata e a Adaptativa



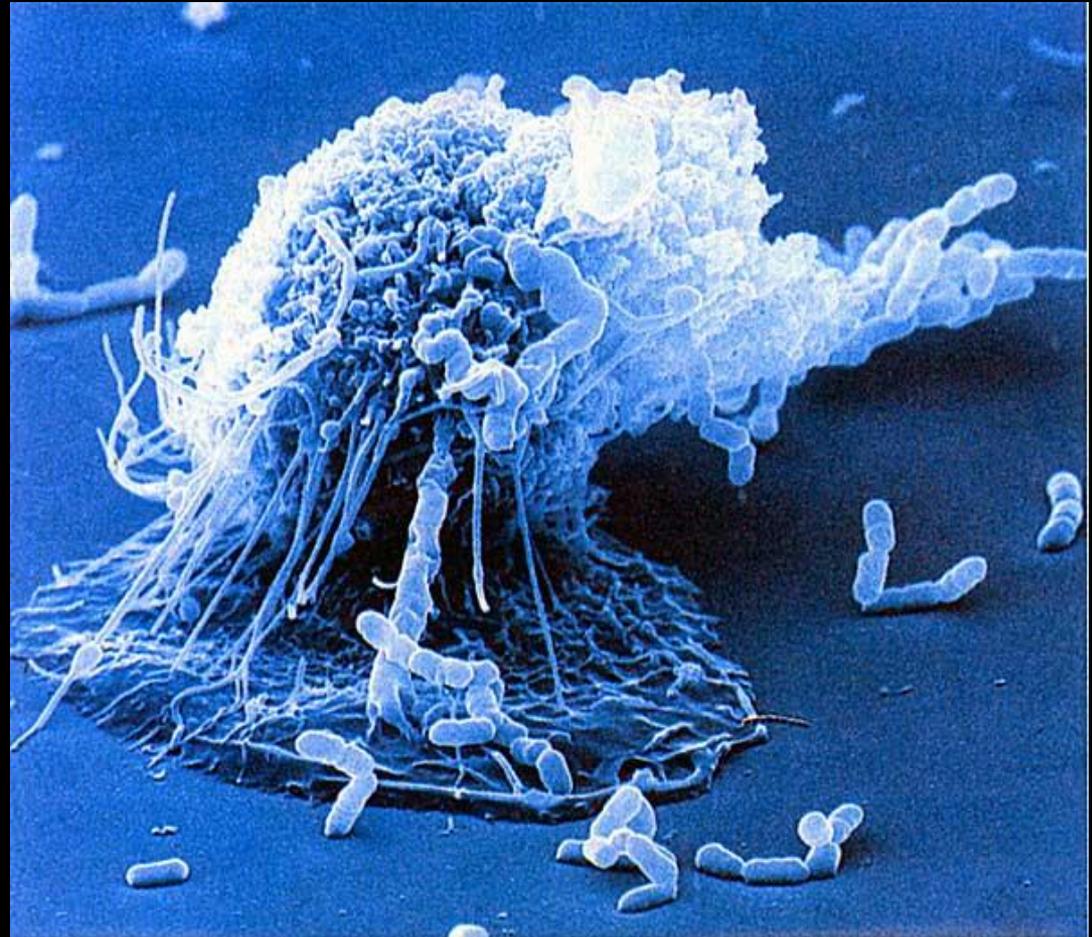
Medzhitov R, Janeway C Jr. Innate Immunity.  
N Engl J Med 2000;343:338-44.



The New England  
Journal of Medicine

# Outros Receptores

- Lectinas;
- *Scavengers*;
- Receptores Fc;
- **NOD (nucleotide-binding oligomerization domain);**
- Receptores de complemento.



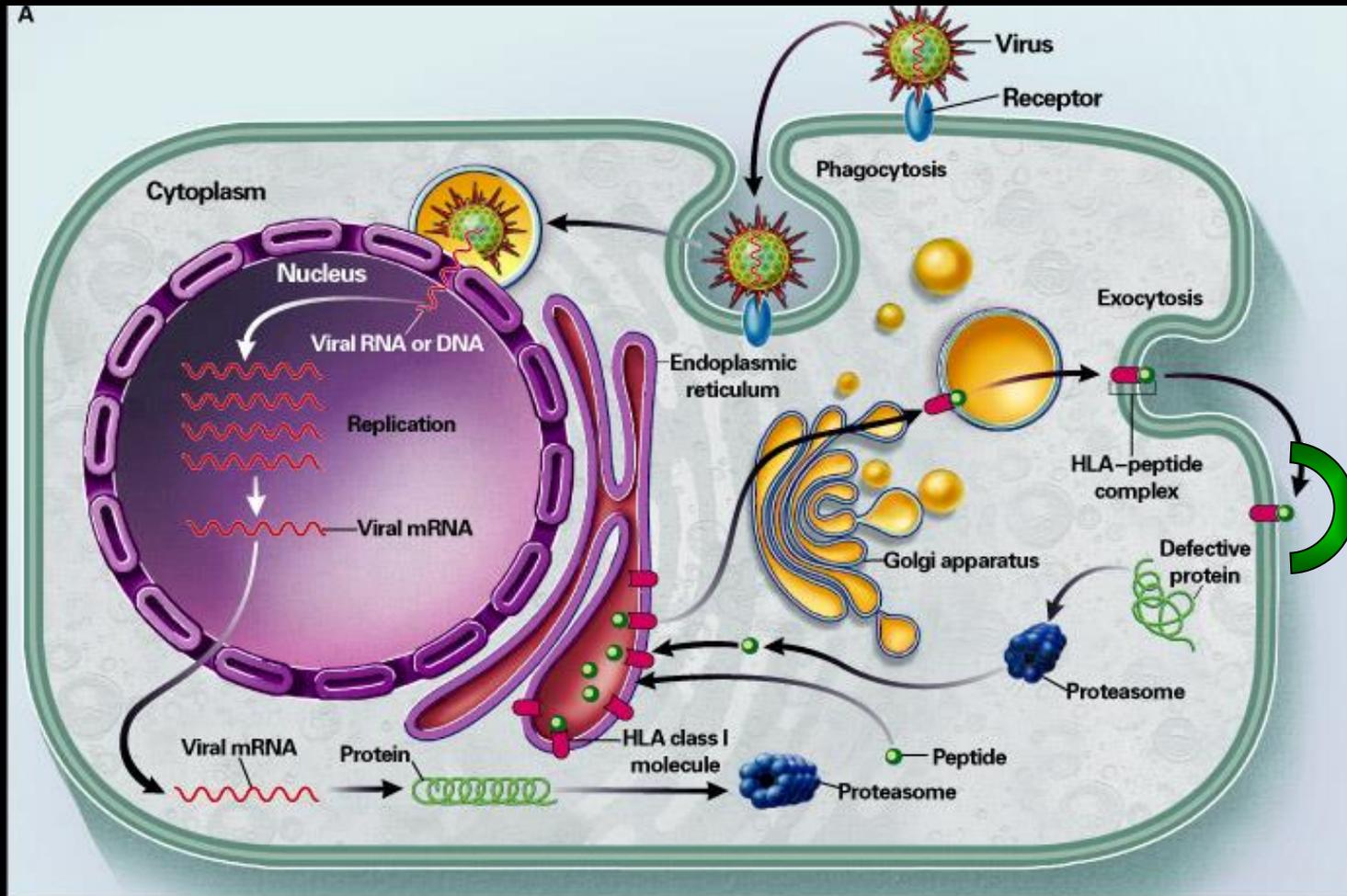
Imunidade Adaptativa e Seus Receptores

ou

Como a Imunidade Inata Ativa a Adaptativa?

Contato e Fatores Solúveis

# Apresentação de Antígenos via MHC Classe I HLA- A, B, C

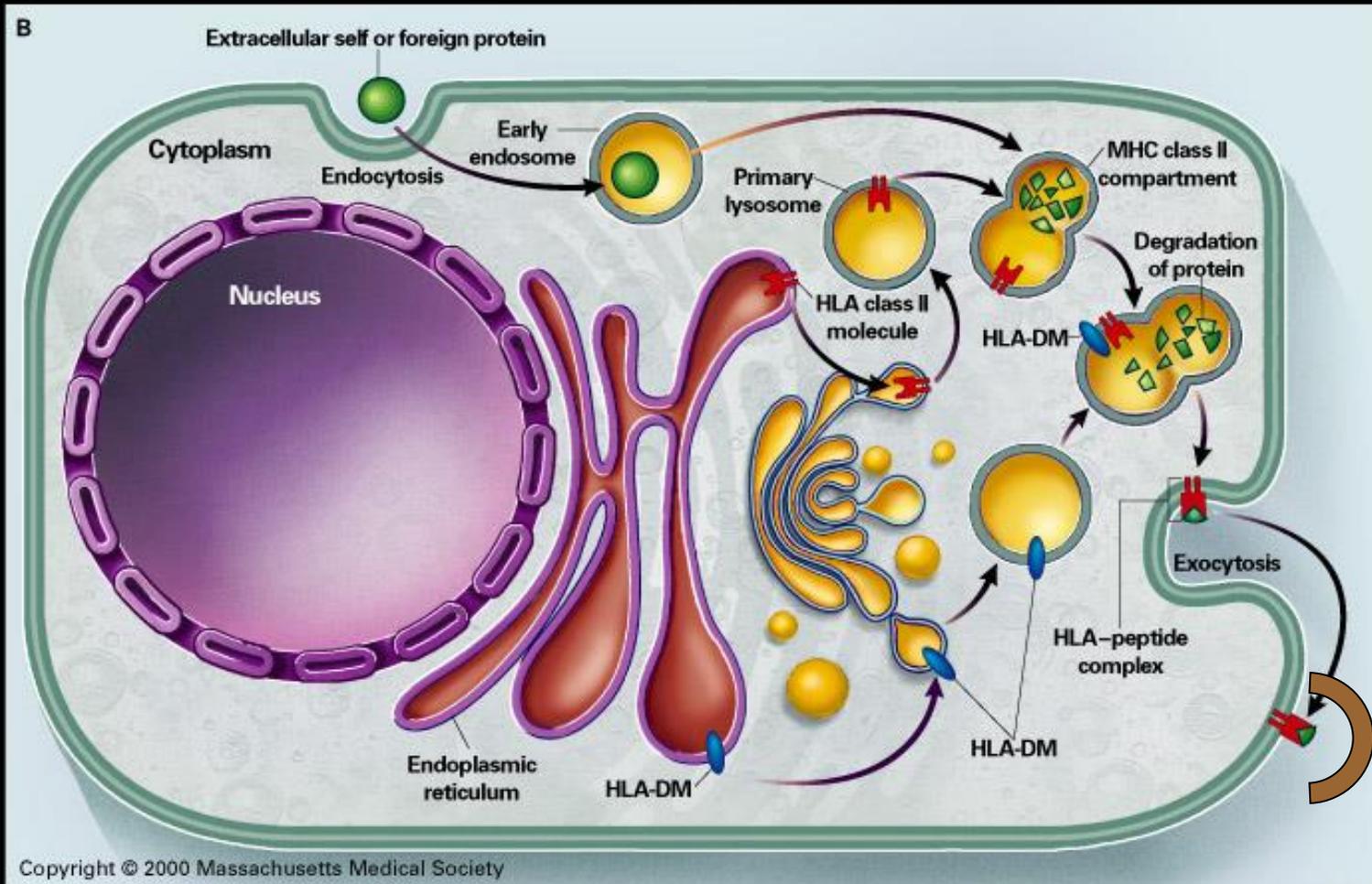


Klein J, Sato A. The HLA System. First of two parts.  
N Engl J Med 2000;343:702-9.



The New England  
Journal of Medicine

# Apresentação via MHC Classe II HLA-DP, DQ, DR



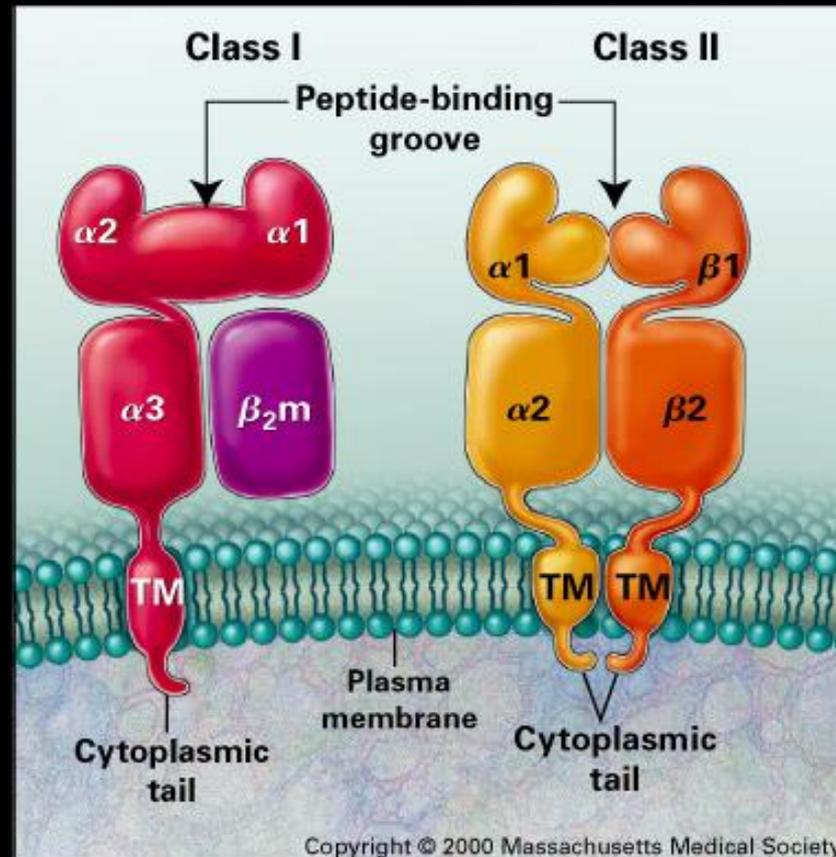
Klein J, Sato A. The HLA System. First of two parts.  
N Engl J Med 2000;343:702-9.



The New England  
Journal of Medicine

T CD4

# Estrutura das Moléculas de MHC I e II



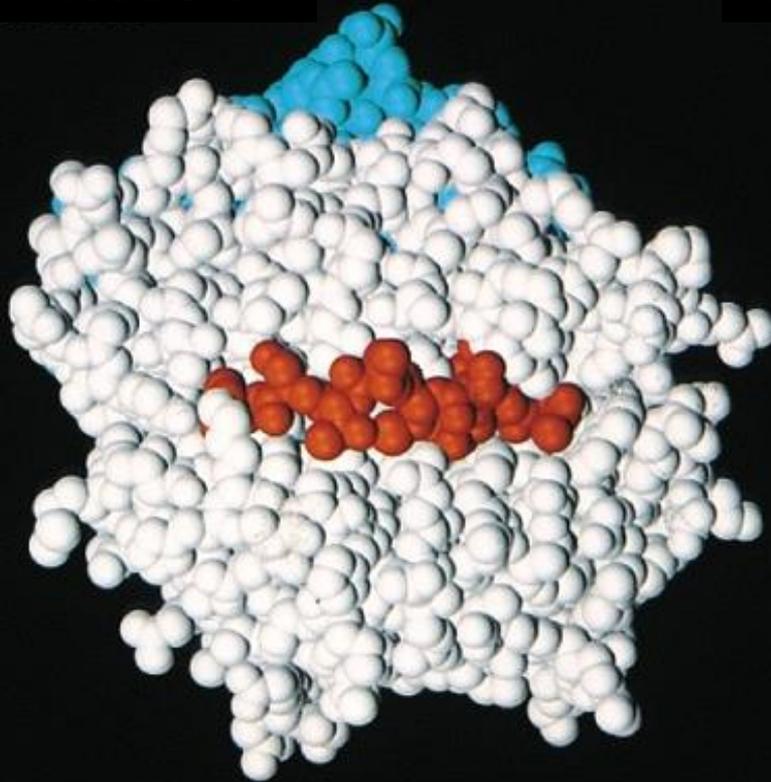
Klein J, Sato A. The HLA System. First of two parts. N Engl J Med 2000;343:702-9.



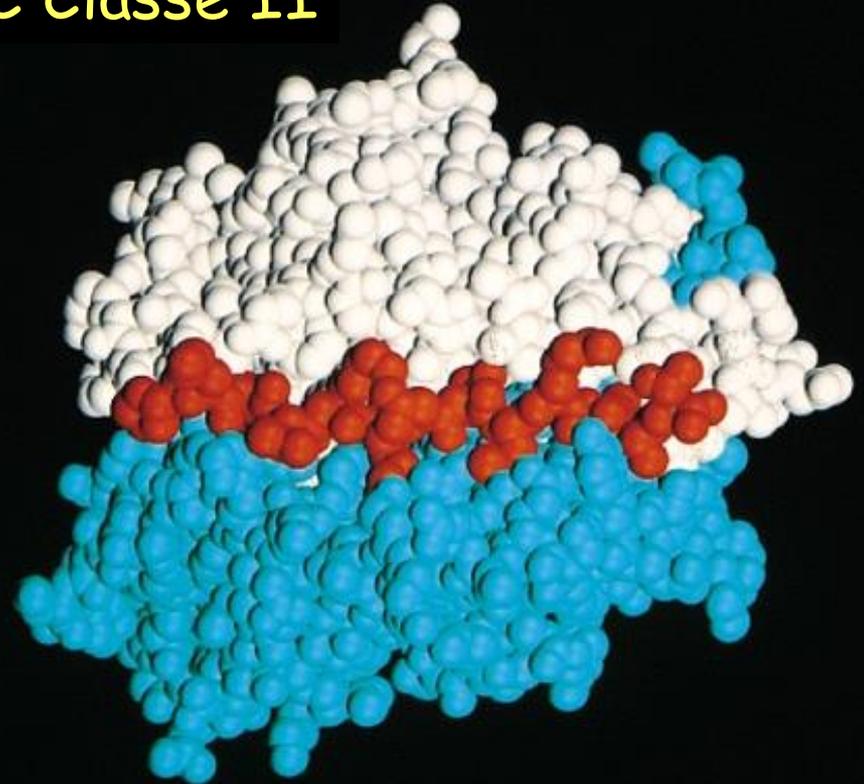
The New England  
Journal of Medicine

# Estrutura das Moléculas de MHC I e II

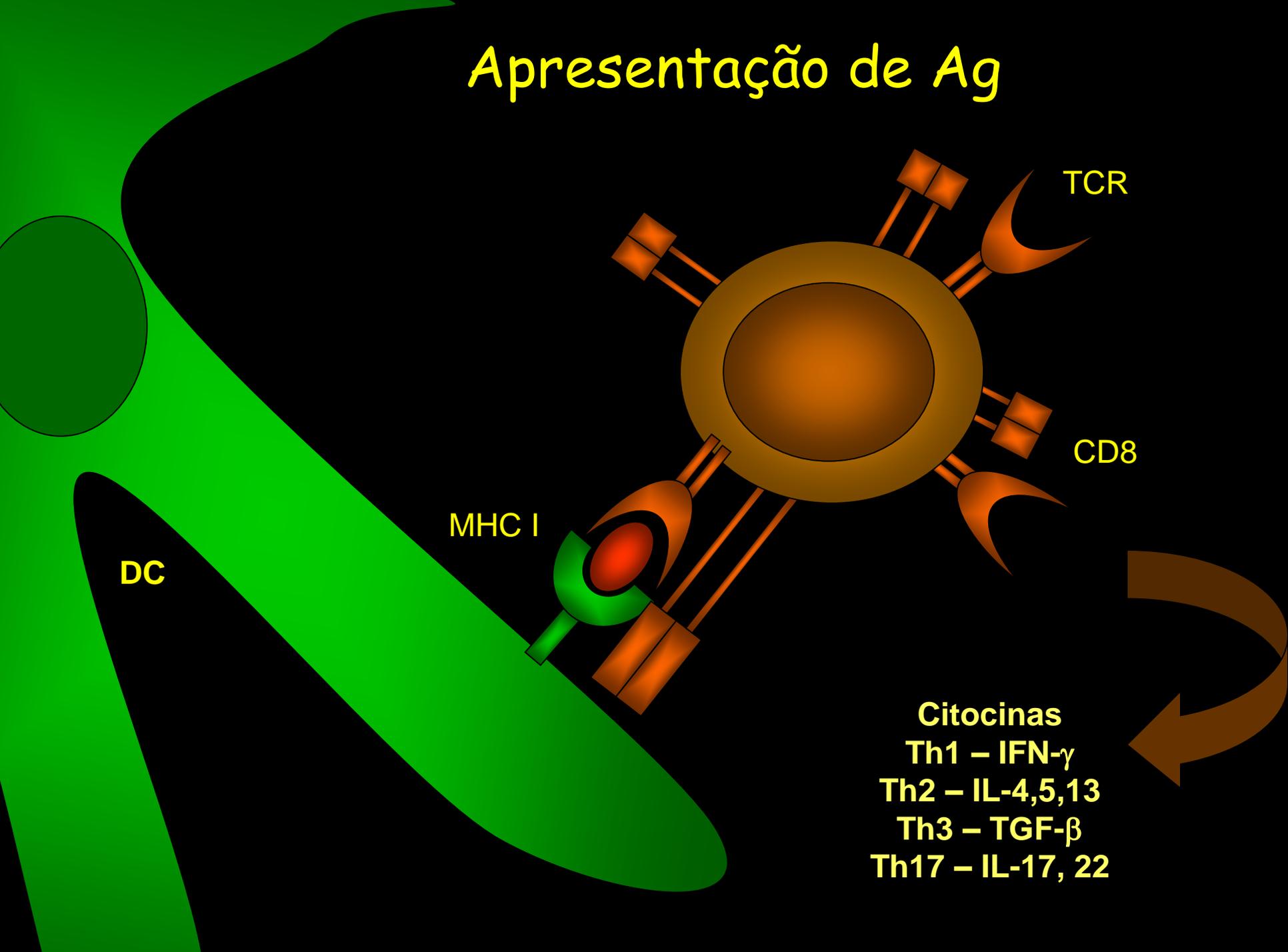
MHC Classe I



MHC Classe II



# Apresentação de Ag



TCR

CD8

MHC I

DC

Citocinas

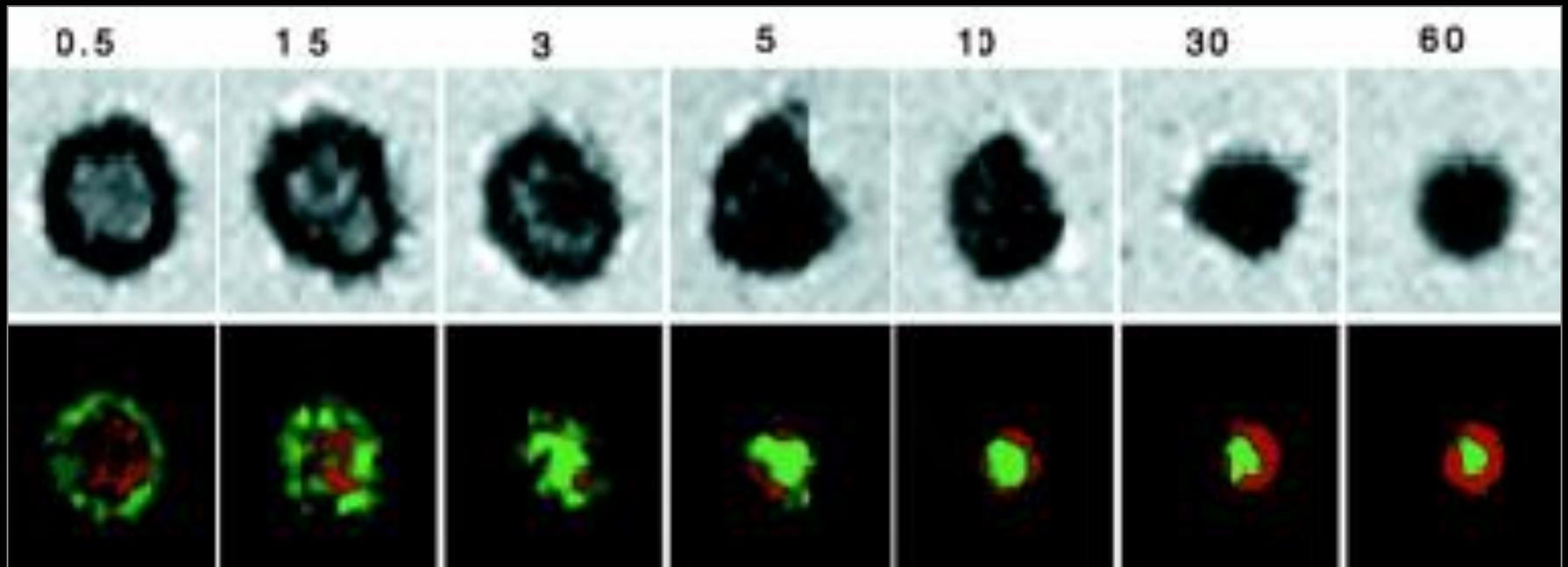
Th1 – IFN- $\gamma$

Th2 – IL-4,5,13

Th3 – TGF- $\beta$

Th17 – IL-17, 22

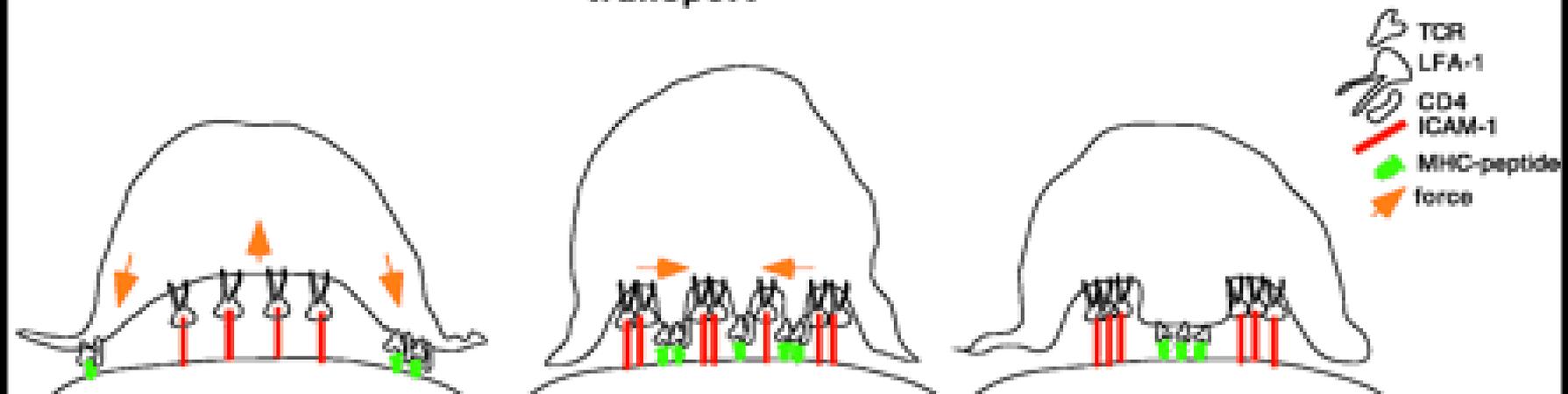
# A ligação com o complexo MHC-peptídeo promove a formação de sinapses imunológicas



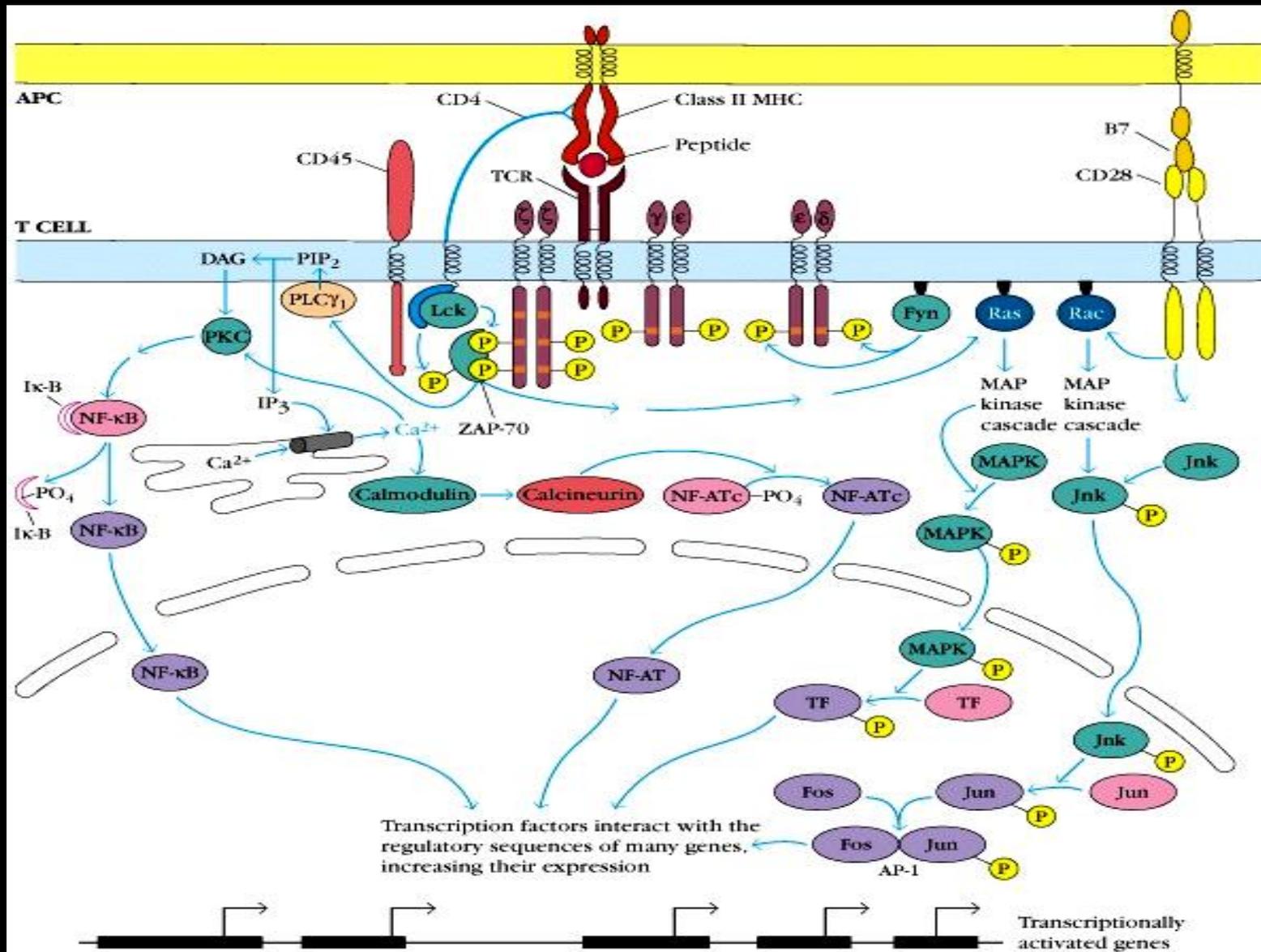
Stage 1- Junction formation

Stage 2- MHC-peptide transport

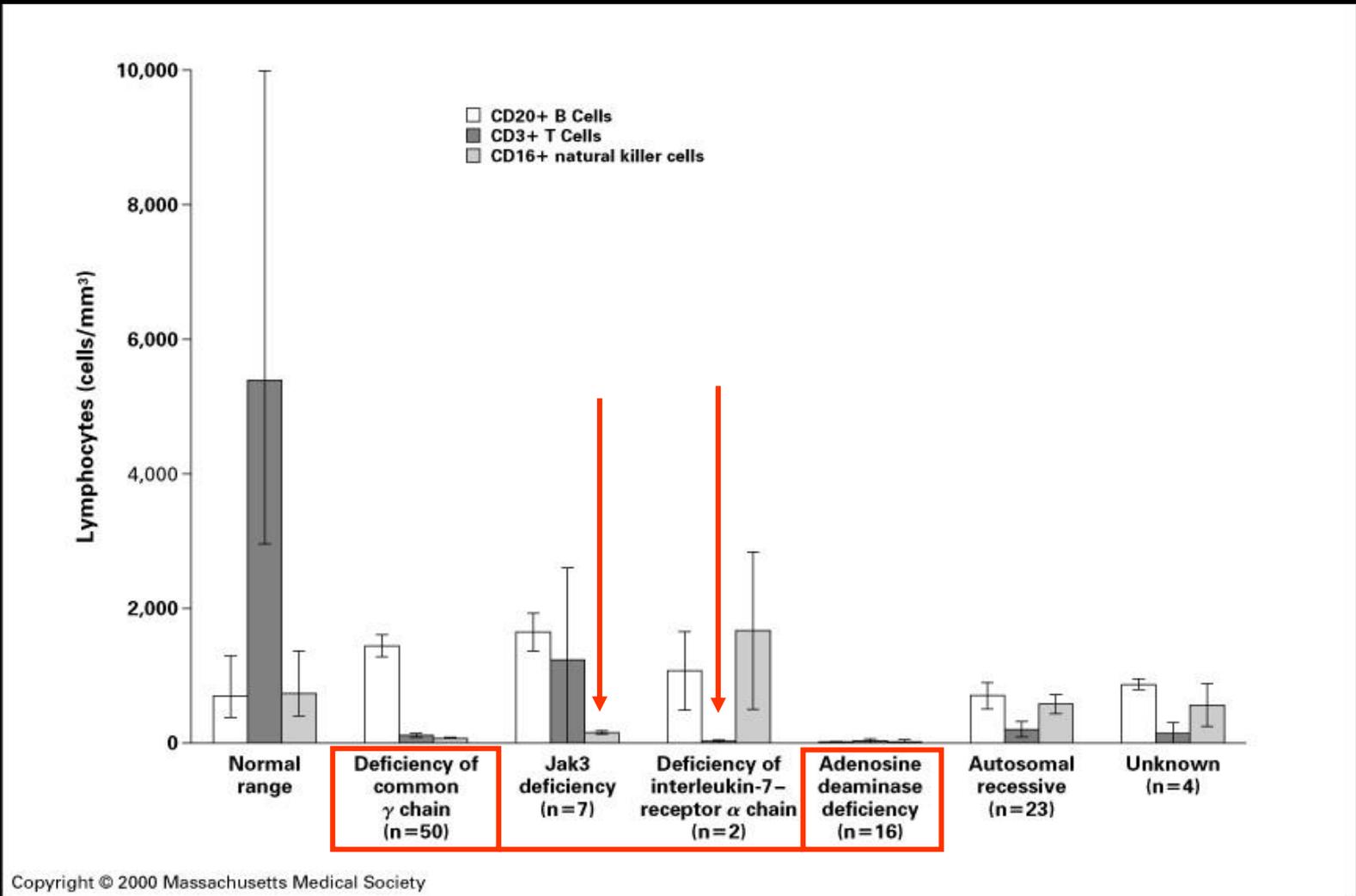
Stage 3- Stabilization



# Vias de Sinalização



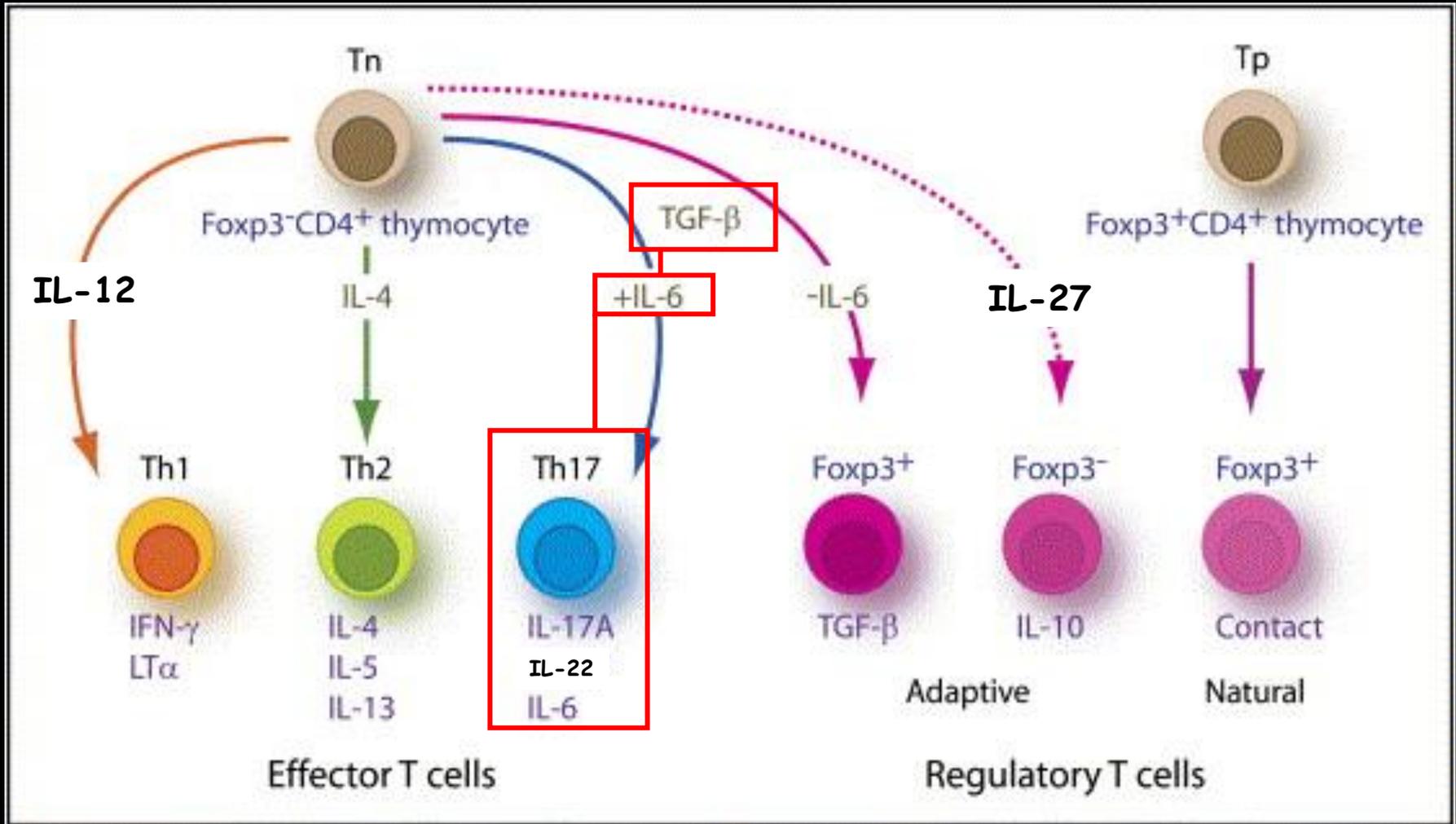
# Relação Entre o Número de Células B, T e NK em Pacientes com Imunodeficiência Combinada Severa Dependente do Fator Comprometido



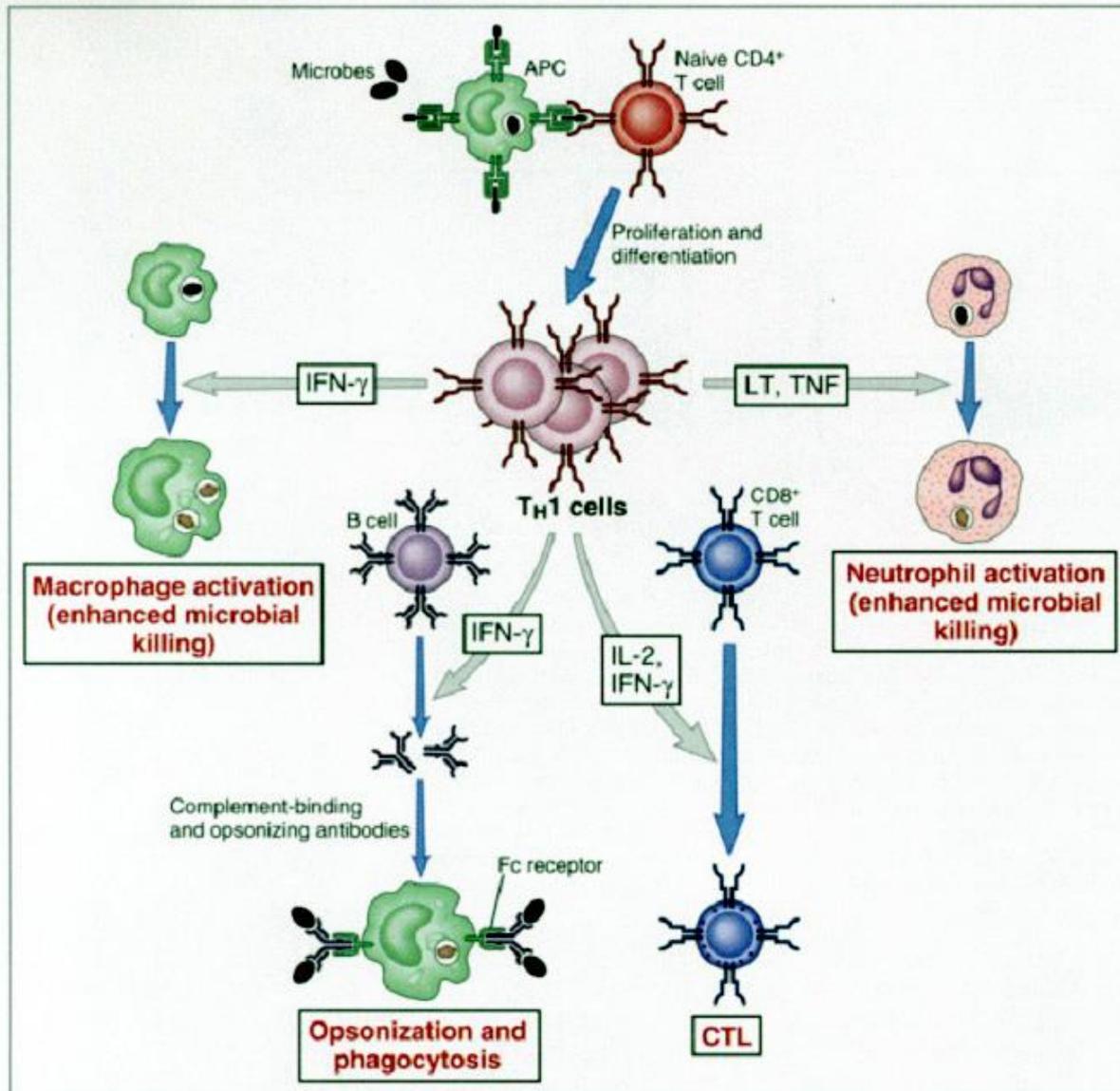
# Ativação das Células T

- Depende
  - Da natureza do Ag
  - *Background* genético
  - Fatores solúveis
  - Moléculas co-estimuladoras
  - Microambiente

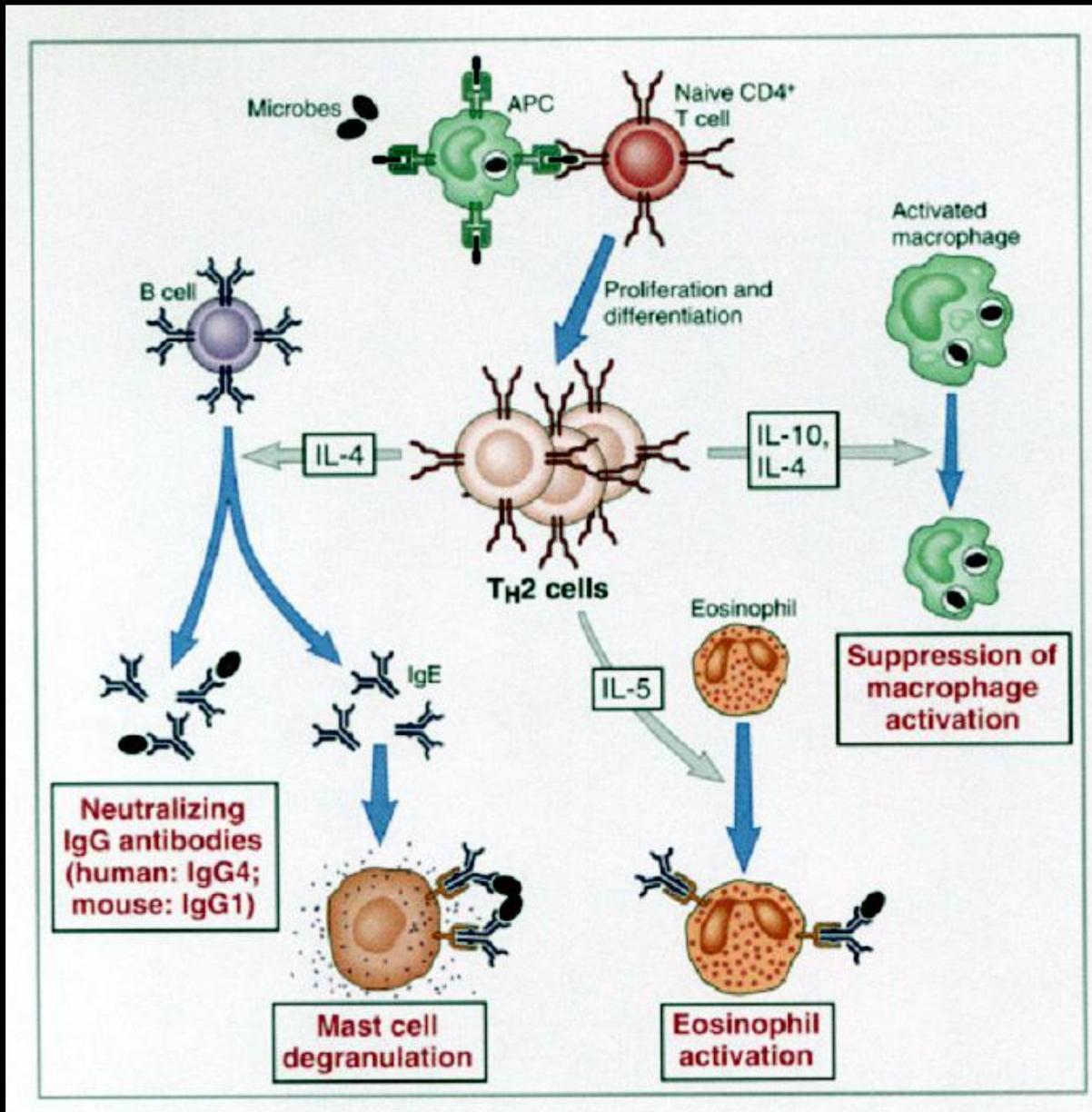
# Populações de Células T



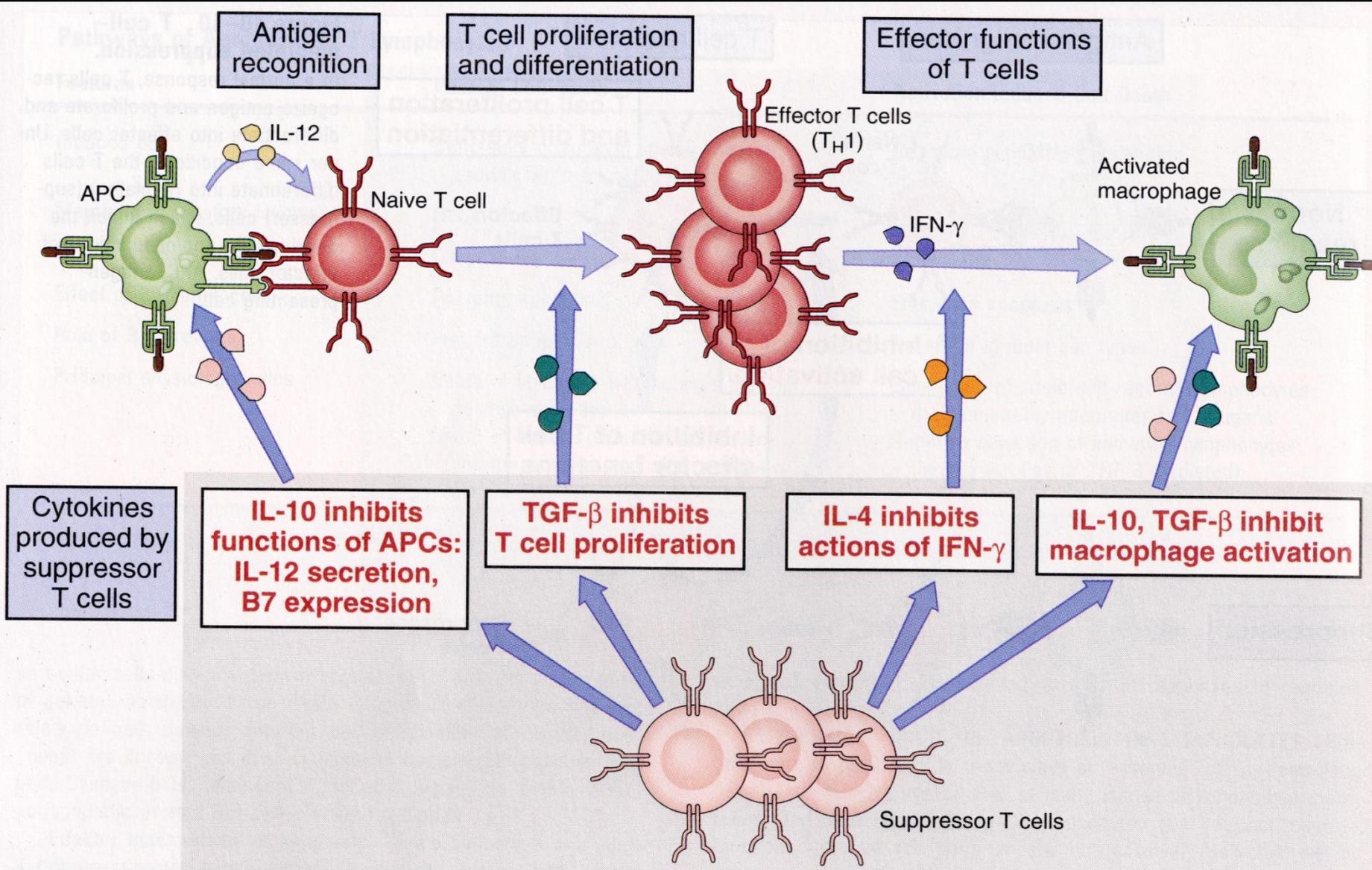
# Funções das Células Th1



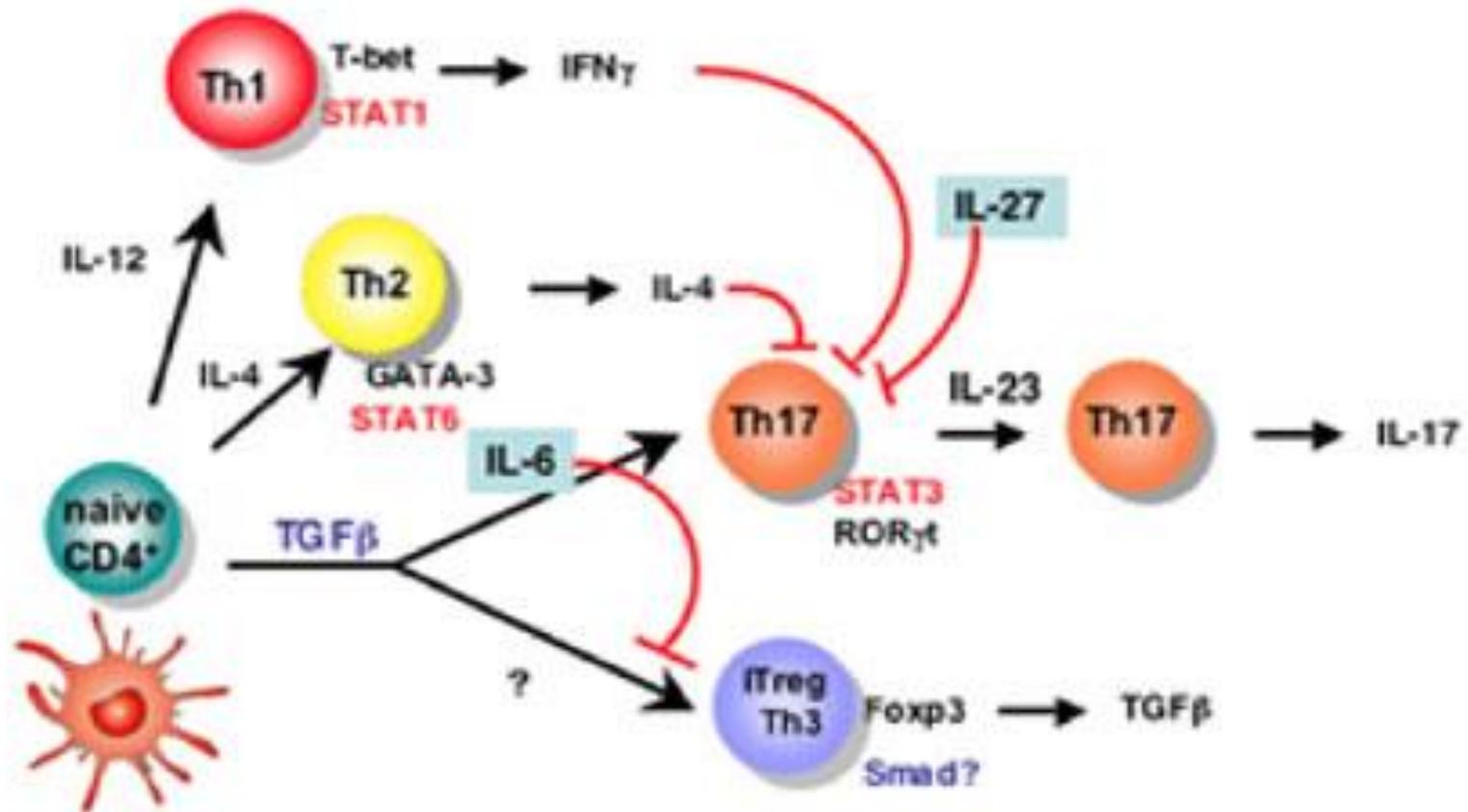
# Funções das Células Th2



# Funções das Células Th3



# Th17



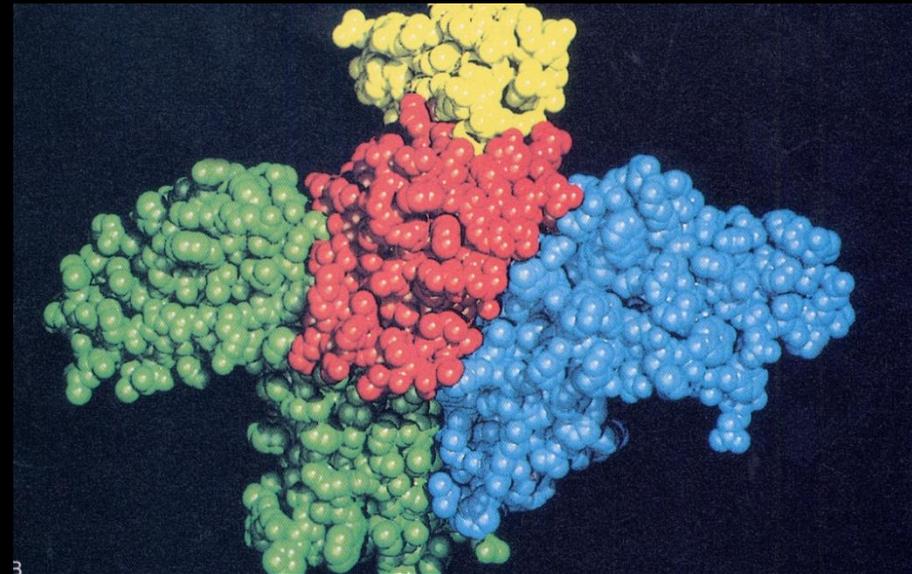
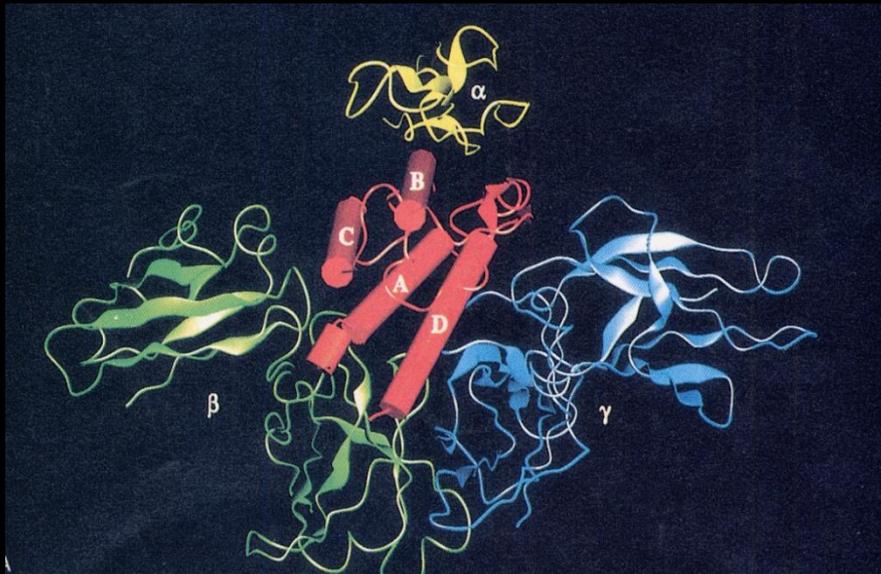
サイトカインによるヘルパーT細胞の制御

Mas o que são mesmo as citocinas ?

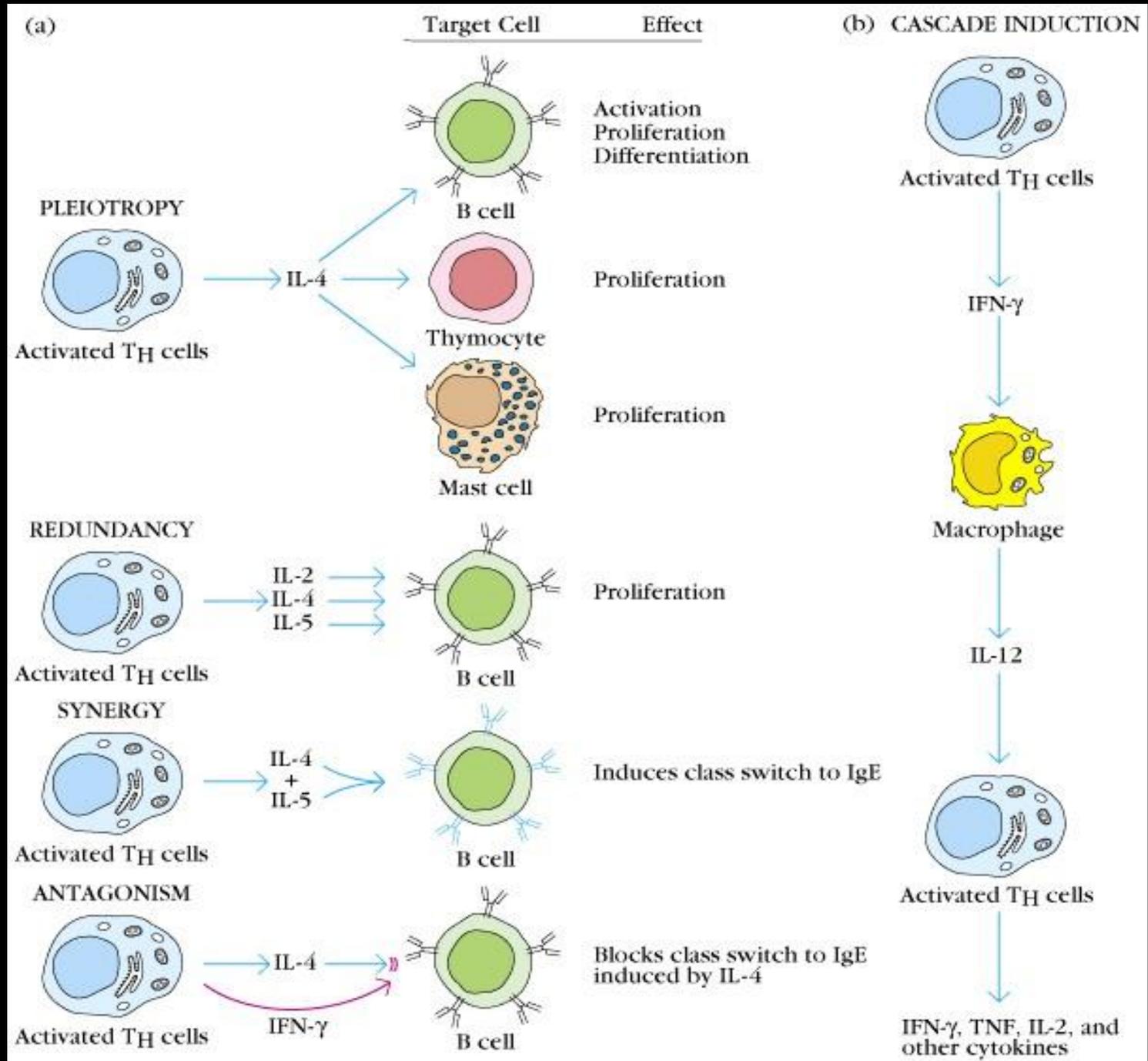


# Citocinas

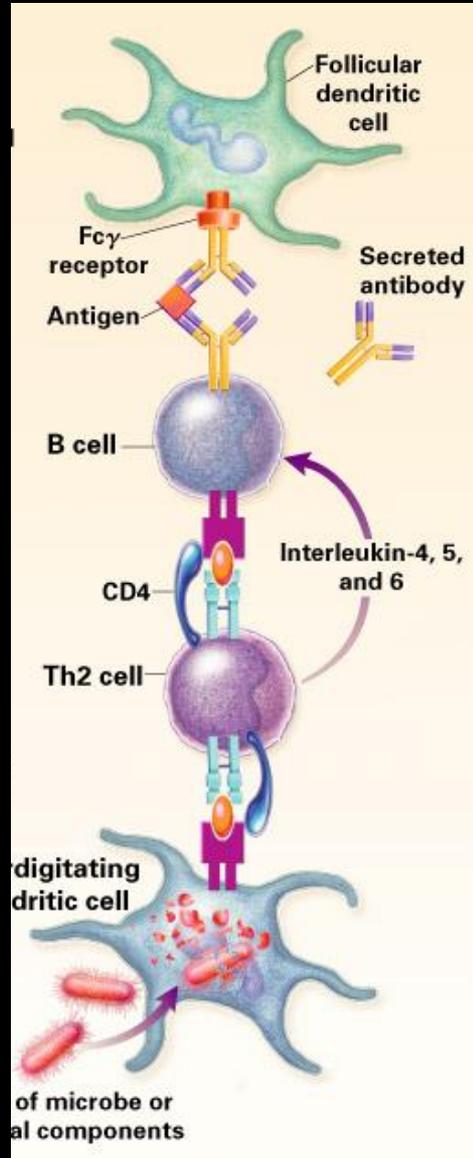
## • Polipeptídios



**IL-2 e seu receptor**



# Th2 e Asma

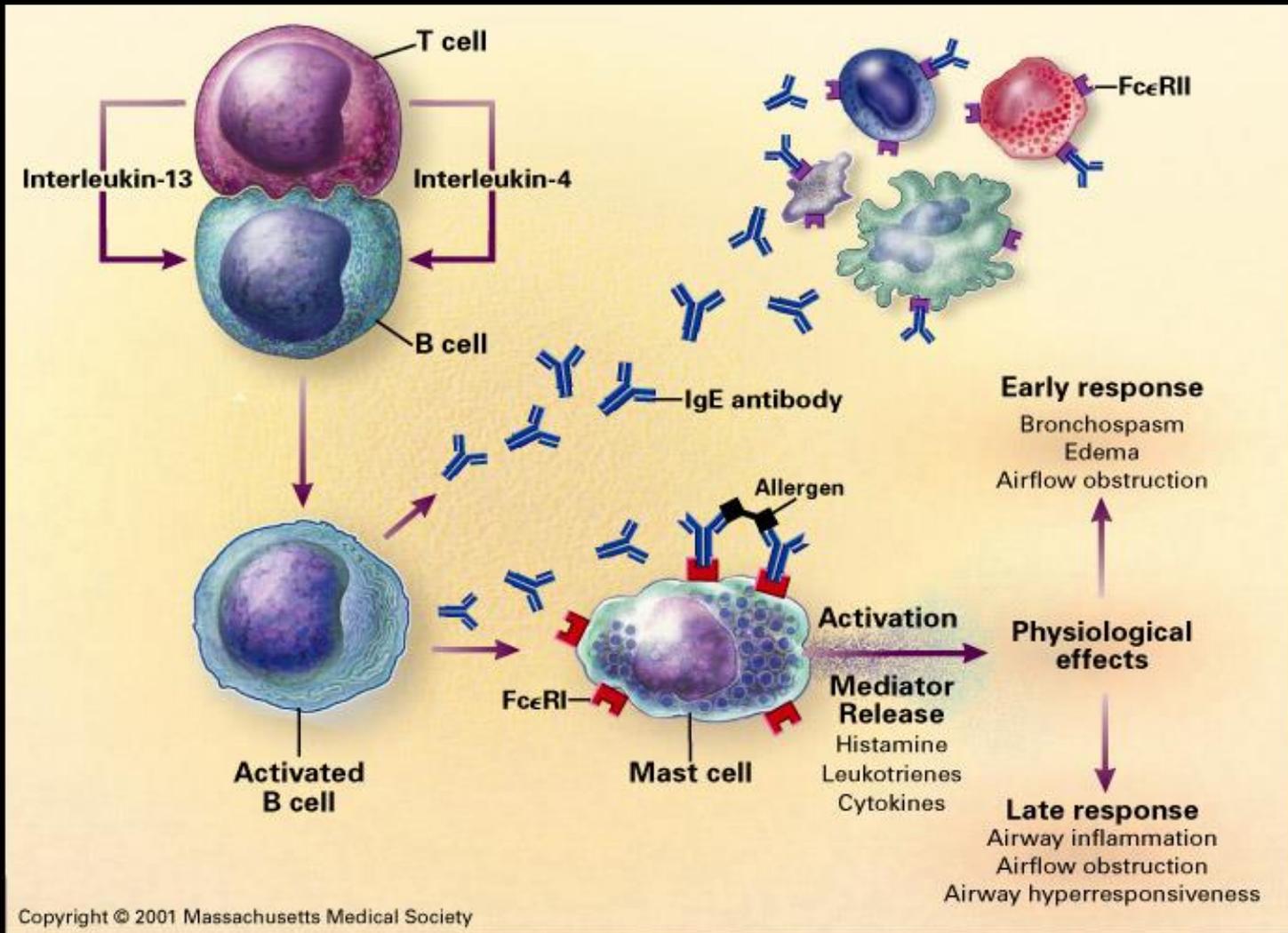


irt 2).



The New England  
Journal of Medicine

# Th2 e ASMA



Copyright © 2001 Massachusetts Medical Society

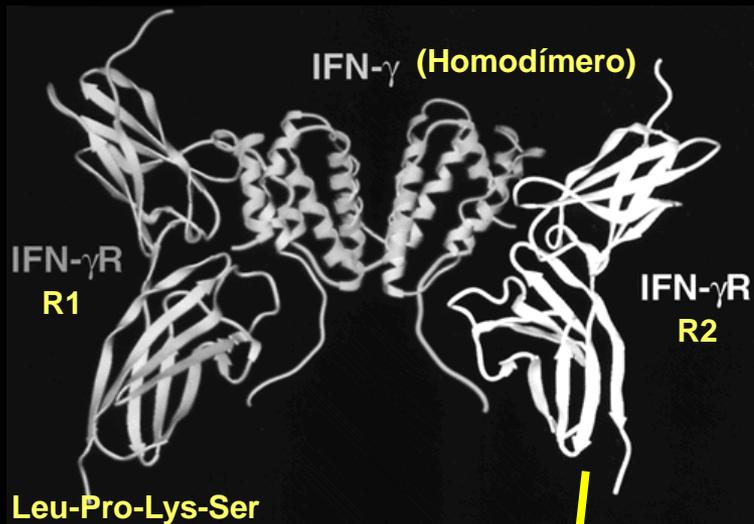
Busse WW, Lemanske RF. Asthma. N Engl J Med 2001;344:350-62.



The New England Journal of Medicine

# Th1

## IFN- $\gamma$ – Estrutura, Produção e Receptores



JAK1

JAK2

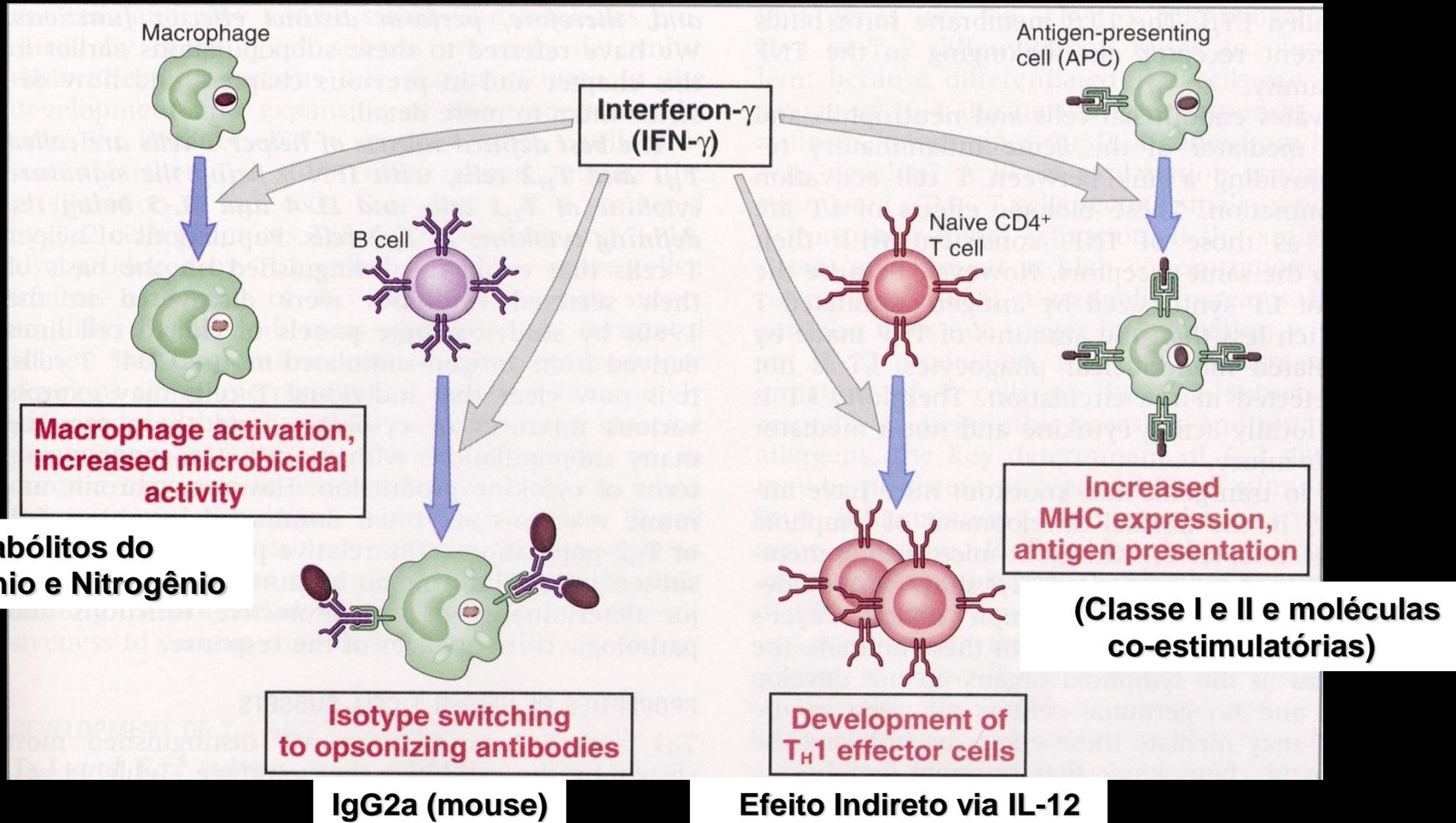
STAT1

- Células T CD4 Th1, células CD8, células NK
- Produção estimulada via IL-12

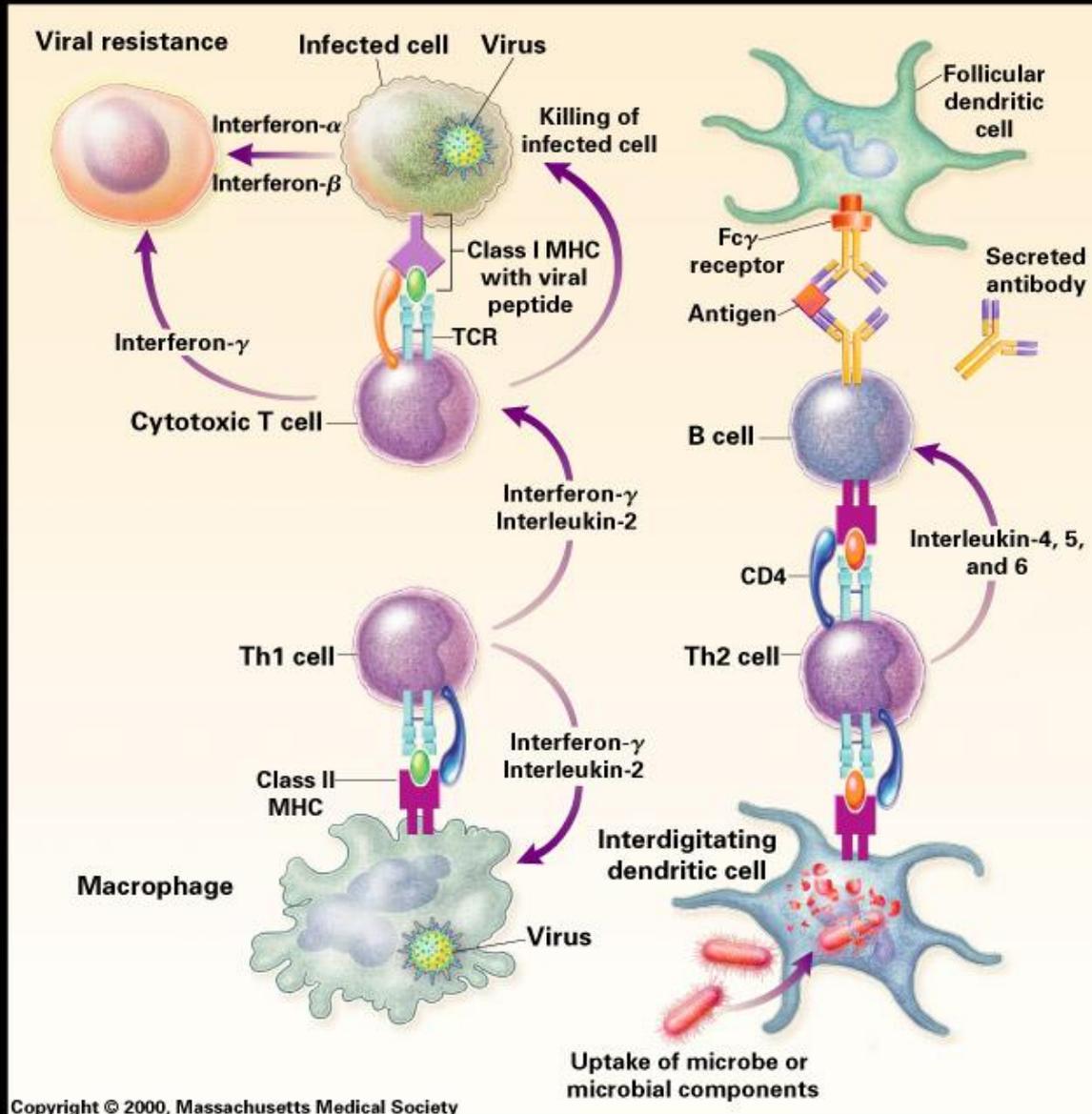
# Citocinas na Imunidade Adaptativa

## IFN- $\gamma$ – Funções

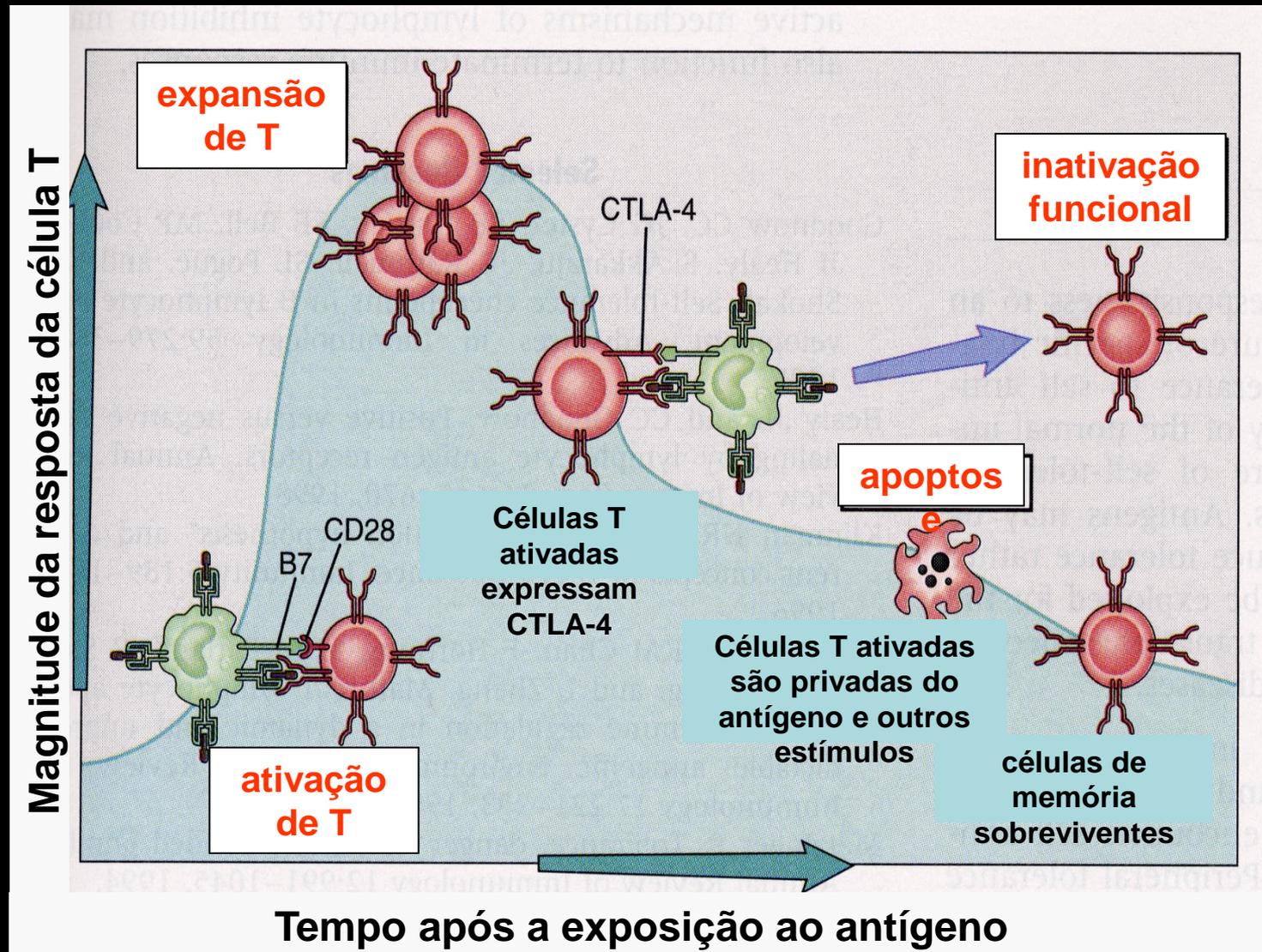
- Ativa Neutrófilos e NK



# Resumindo



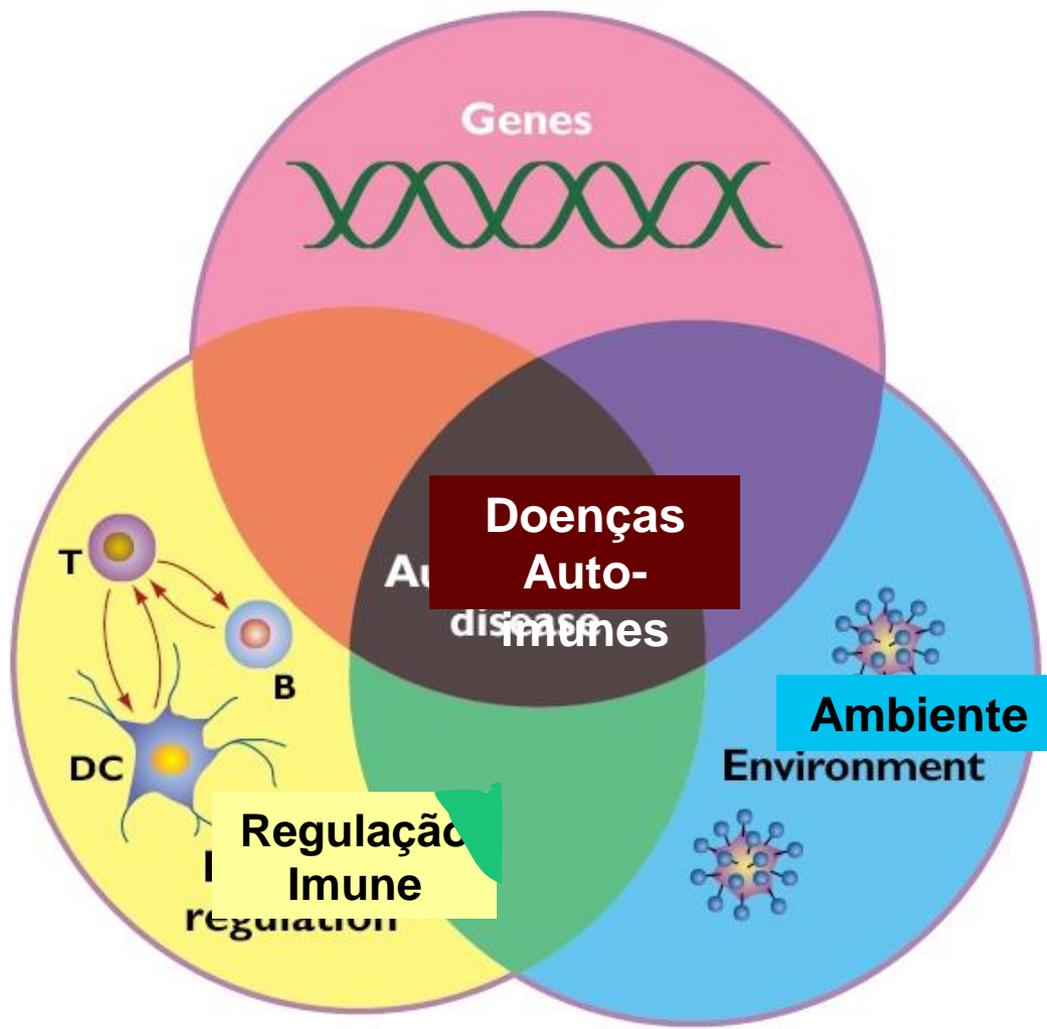
# Restabelecimento da homeostase



O que acontece quando esses  
Mecanismos falham ?

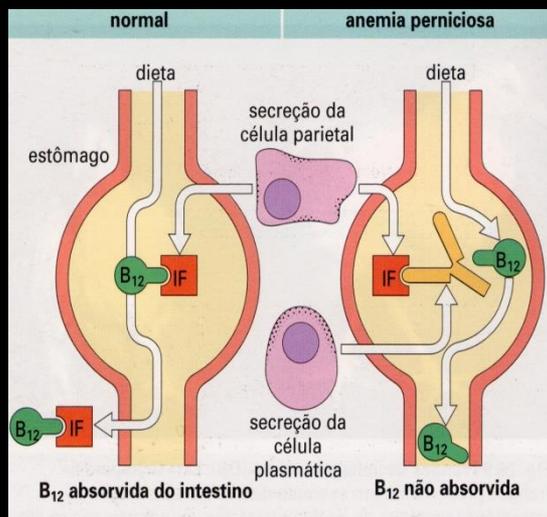


# Auto-imunidade

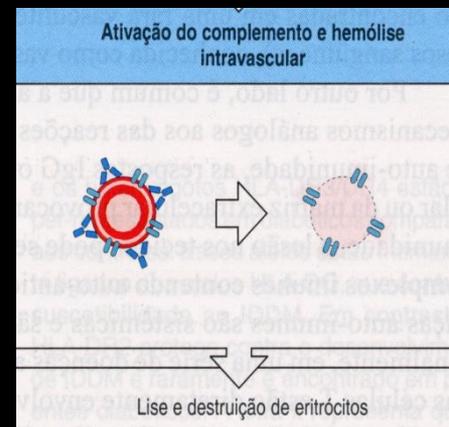
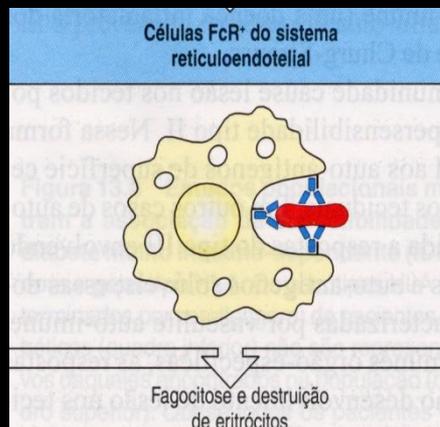
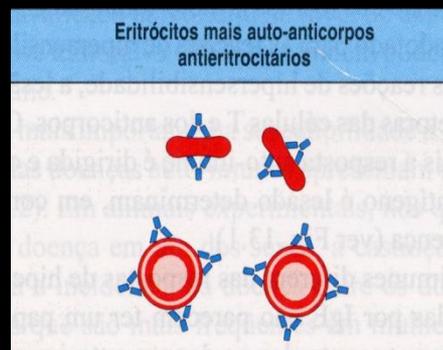


# Anemias Auto-imunes

**Anemia perniciosa  
anti-fator intrínseco  
(bloqueio da absorção  
de vitamina B<sub>12</sub>)**

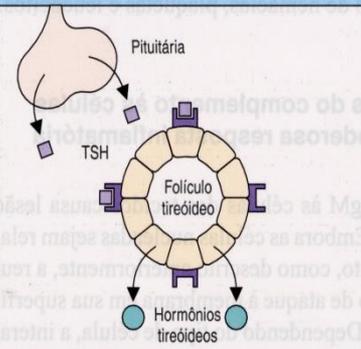


**Anemia hemolítica  
eritrócito**

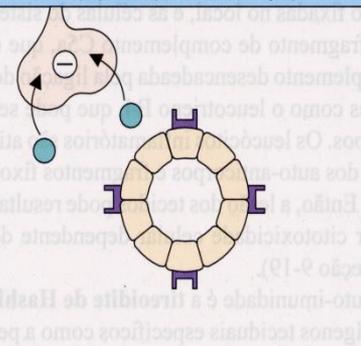


# Doença de Graves

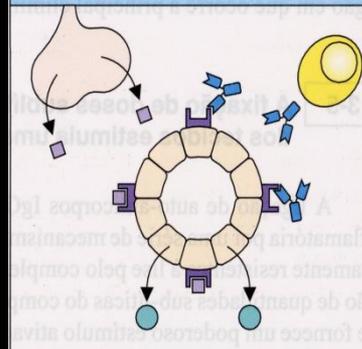
A glândula pituitária secreta o hormônio estimulante da tireóide (TSH) que age sobre a tireóide, induzindo a liberação de hormônios tireóideos



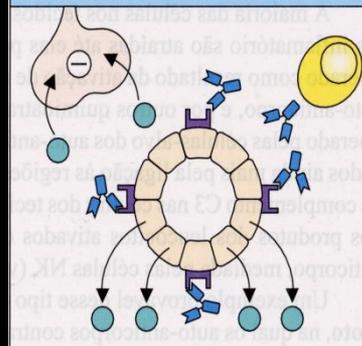
Os hormônios tireóideos atuam sobre a glândula pituitária interrompendo a produção de TSH, suprimindo a síntese de mais hormônio tireóideo (supressão por retroalimentação)



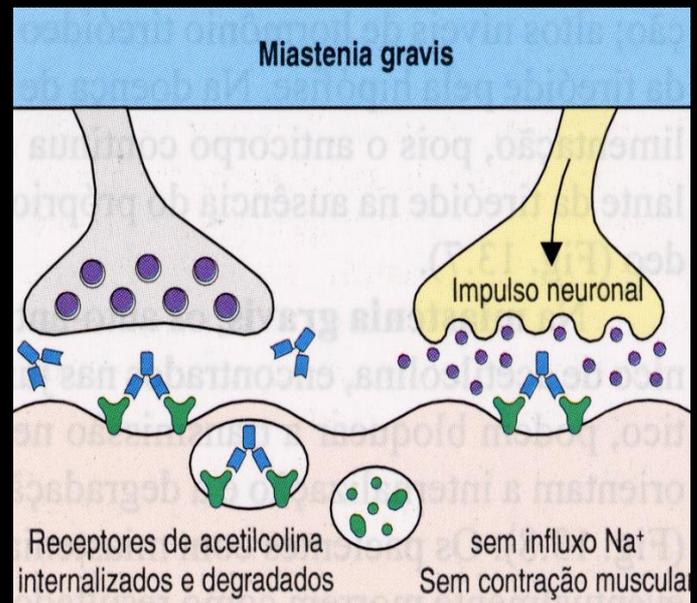
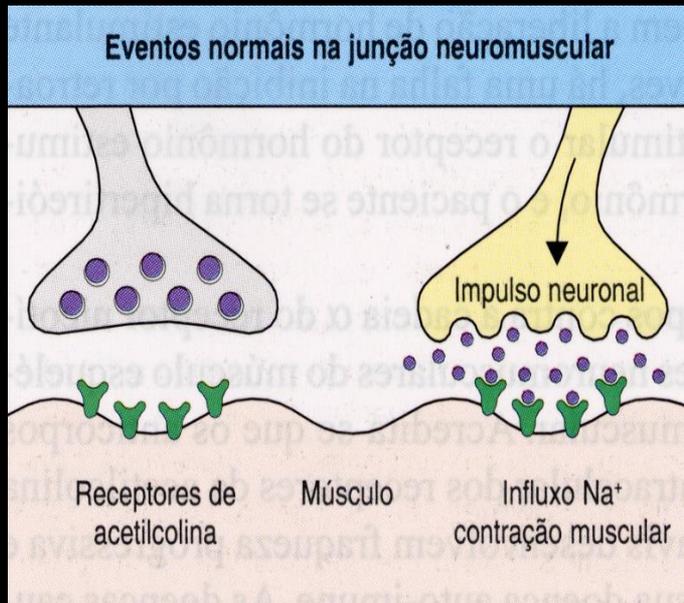
As células B auto-ímines produzem anticorpos para o receptor TSH, que também estimulam a produção de hormônio tireóideos



Os hormônios tireóideos interrompem a produção de TSH, mas não têm efeito sobre a produção de autoanticorpo que continua a provocar produção do hormônio em excesso



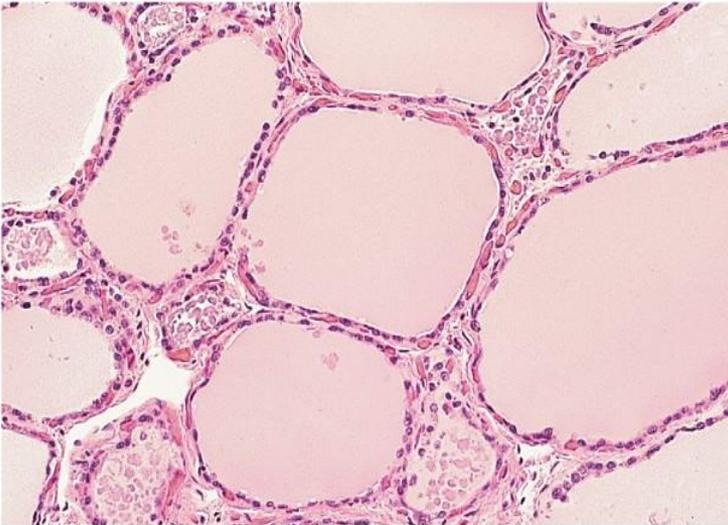
# Miastenia gravis



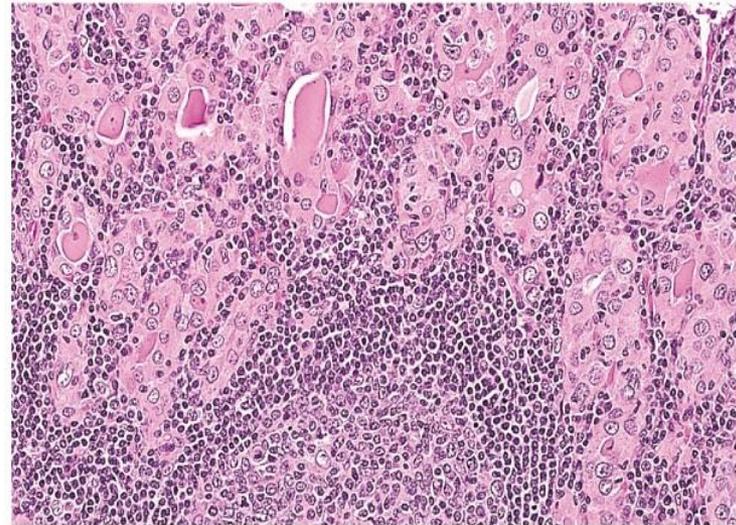
# Tireoidite de Hashimoto

- Mulheres de meia-idade: bócio e hipotireoidismo
- Anticorpos e  $T_{DTH}$  contra antígenos tireoidianos
- Infiltração intensa de linfócitos, macrófagos e plasmócitos
- Soro: anticorpos anti-tireoglobulina e para péroxidase da tireóide no mixedema primário

(a)



(b)



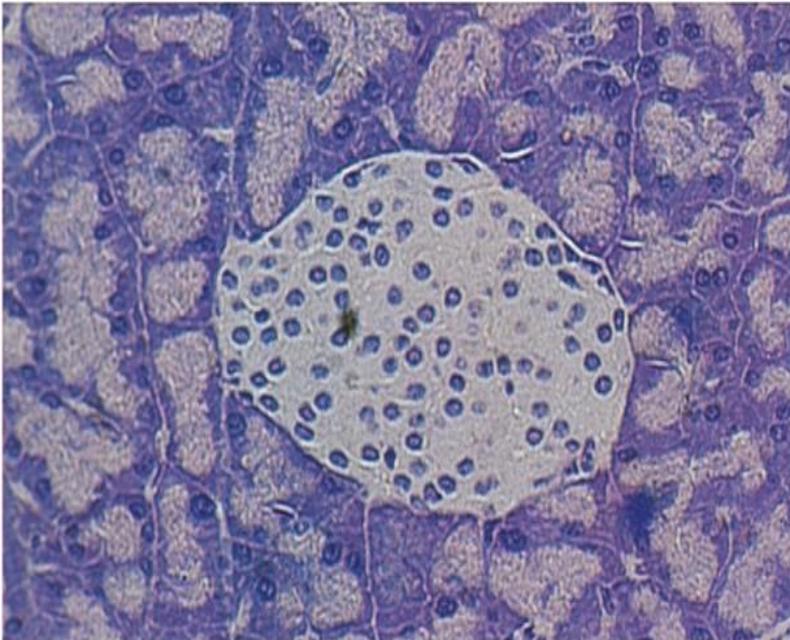
# Doenças Auto-imunes devido a Hipersensibilidade do Tipo IV

Síndrome	Auto-antígeno	Conseqüências
Diabete melito insulino-dependente	Antígeno pancreático das células $\beta$	Destruição das células $\beta$
Artrite reumatóide	Antígeno desconhecido da articulação sinovial	Inflamação e destruição articular
Encefalomielite auto-imune experimental (EAE) esclerose múltipla	Proteína básica da mielina, proteína proteolípídica, glicoproteína na mielina dos oligodendrôcitos	Invasão cerebral pelas T CD4+, paralisia

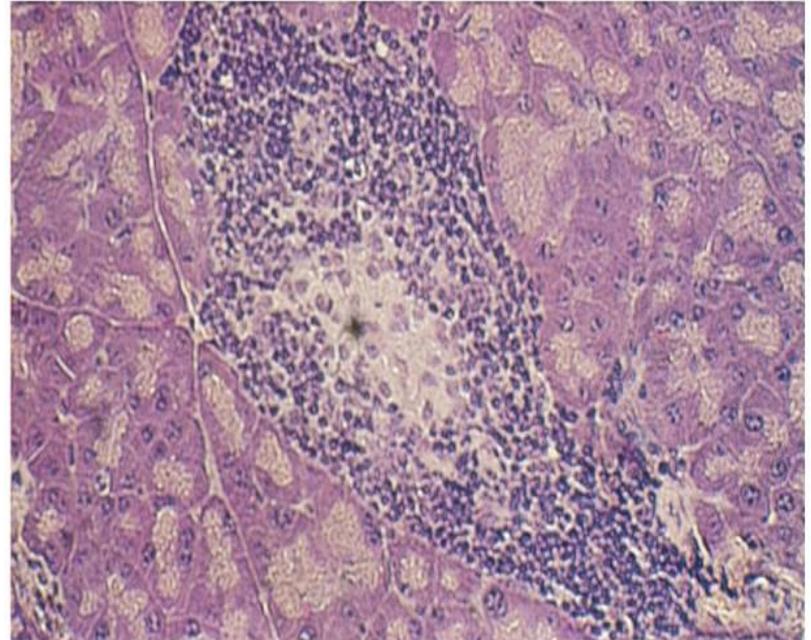
# Diabete melito insulino-dependente

- 0,2% da população
- Ataque às células  $\beta$  do pâncreas - CTL  $\rightarrow$  IL-1, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  + anticorpos  $\rightarrow$  DTH

(a)

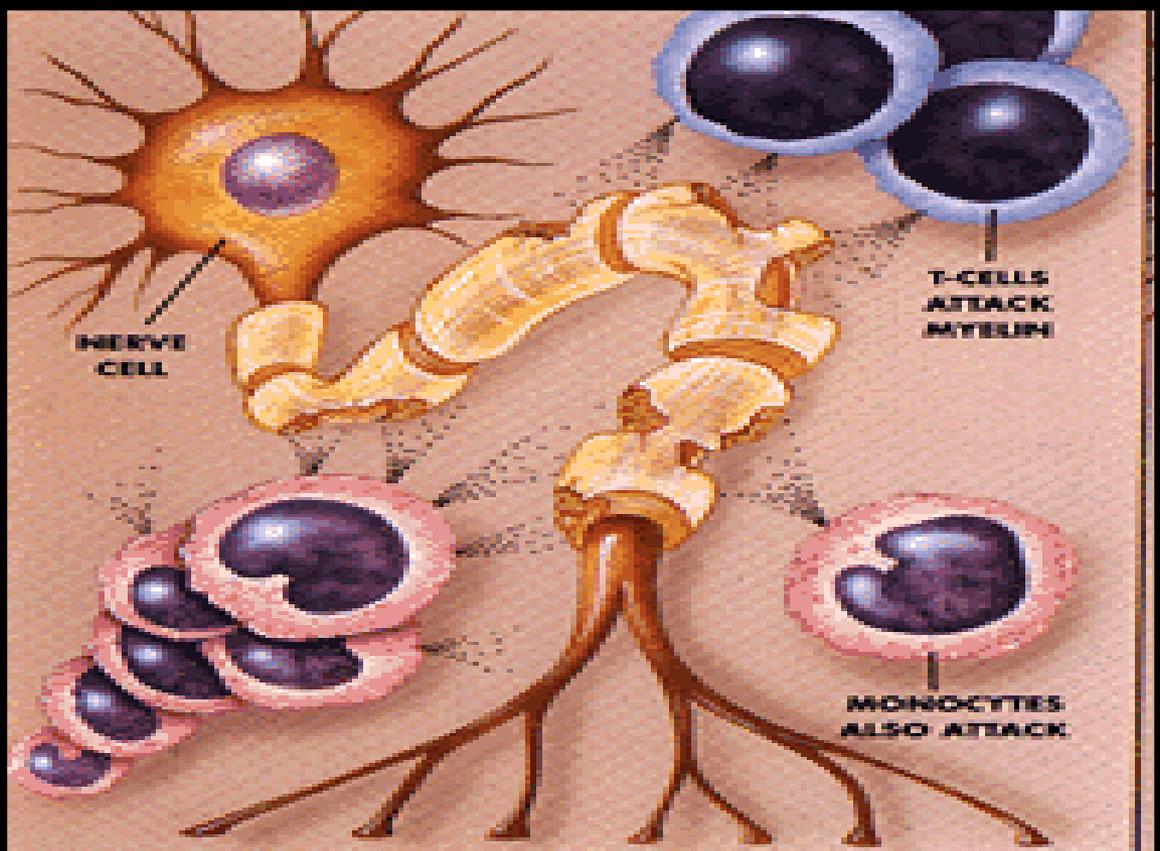


(b)

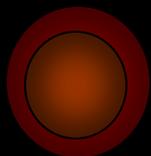




# O Papel do Sistema Imune



Citocinas  
NO  
MMPs  
Granzimas  
Integrinas  
Glutamato



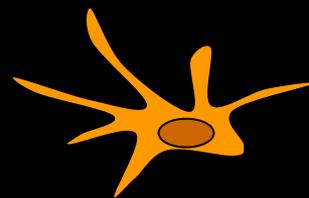
CD4



CD8

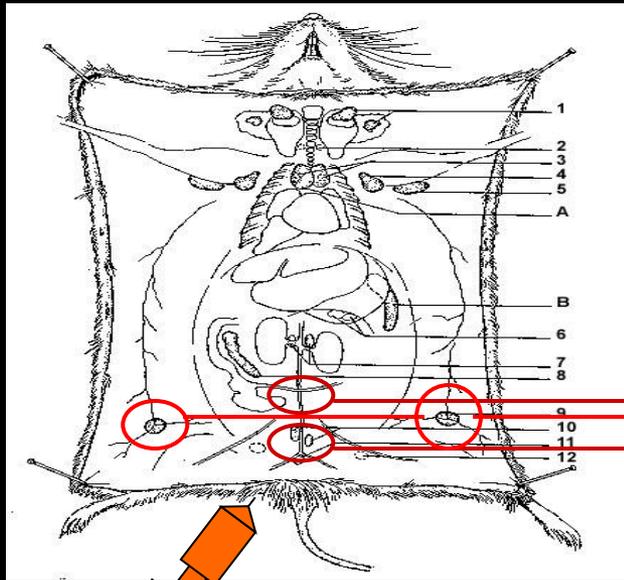


Mφ

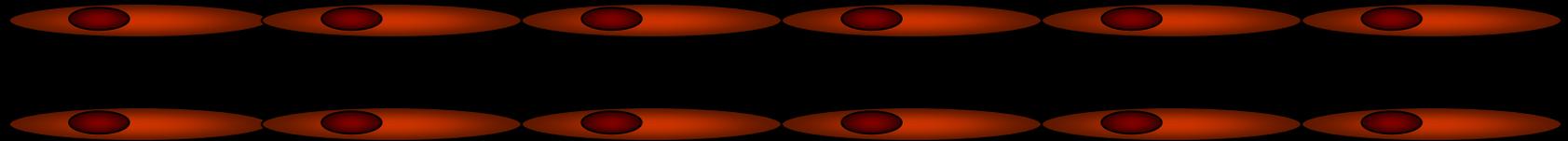
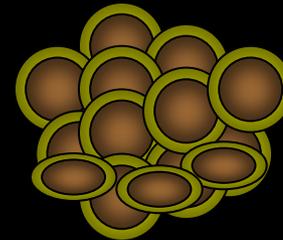


Microglia

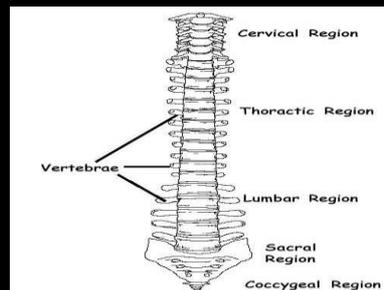
# Indução da EAE



MOG 35-55  
CFA  
PTX



Barreira Hemato-encefálica



Encefalomyelite

## Relação EAE/MS com Células Th17

- Pacientes com MS ativa apresentam grandes quantidades de mRNA para IL-6 e IL-17 no sangue e no LCR (Mantusevicius et al. ;1999 Lock et al. 2002).
- BBB possui receptores para IL-17 e IL-22, sendo essas citocinas capazes de aumentar a permeabilidade desta estrutura (Kebir et al 2007) ;
- Camundongos IL-17 KO assim como IL-6 KO são mais resistentes à EAE (Veldhoen et al 2006; Korn et al. 2007).

# A Tolerância Oral

Se caracteriza pela introdução de antígenos pela via oral seguida de:

- diminuição da resposta celular;
- no título de anticorpos antígeno específico;
- na patogenicidade;

frente ao mesmo antígeno quando este é re-introduzido por via parenteral.

# Mecanismos Envolvidos na Tolerância Oral

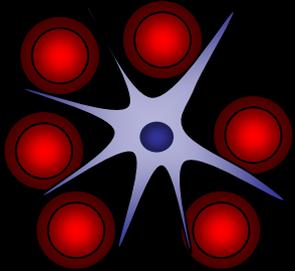


- Anergia clonal/Deleção
  - Células Th3
  - IL-10 e IL-4
  - DCs CD103
  - Ác. Retinóico - Tregs

# Resumindo



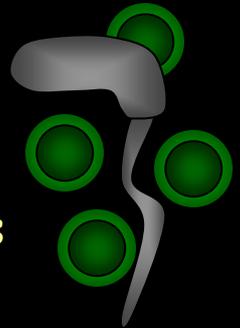
LN  
Mesentérico



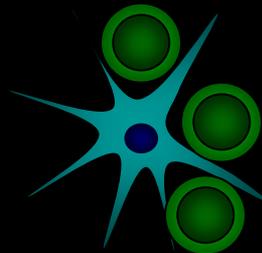
↑TGF- $\beta$   
↑IL-10

↓IL-17 mRNA  
↓IL-17 Proteína  
↓Linfoproliferação

↓IL-17  
↓IL-6  
↓CCL2  
↓Macrófagos  
Dia 7  
↑Linfócitos  
Dia 10



?



# Obrigado

Jean Pierre Schatzmann Peron  
ICB IV - USP  
[jeanpierre@usp.br](mailto:jeanpierre@usp.br)  
3091-7430