

## 14-27 Eventos randômicos podem ser necessários à iniciação da autoimunidade

Apesar de cientistas e médicos gostarem de atribuir o começo de doenças “espontâneas” a alguma causa específica, isso nem sempre é possível. Pode não existir um vírus ou bactéria, ou até mesmo algum padrão compreensível de eventos, que preceda o início de uma doença autoimune. As chances de encontro ao acaso, nos tecidos linfoides periféricos, de algumas células B e T autorreativas que possam interagir entre si no momento exato em que a infecção fornece sinais pró-inflamatórios pode ser o suficiente. Isso poderia ser um evento raro e, em indivíduos geneticamente resistentes, poderia até mesmo ser controlado. Porém, em indivíduos suscetíveis, tais eventos poderiam ser mais frequentes e/ou mais difíceis de controlar.

Assim, o início ou a incidência da autoimunidade pode ser randômica. A predisposição genética, em parte, representa uma chance maior de ocorrer esse evento randômico. Sob esse ponto de vista, pode-se explicar por que muitas doenças autoimunes aparecem no início da vida adulta ou mesmo depois, após um tempo suficiente para permitir que um evento randômico de baixa frequência ocorra. Isso também pode explicar por que após certos tipos de terapias experimentais agressivas dessas doenças, como transplante de medula óssea ou depleção de células B, a doença autoimune eventualmente reaparece após um longo intervalo de remissão.

### Resumo

As causas específicas da maioria das doenças autoimunes não são conhecidas na maioria dos casos. Fatores de risco genéticos incluindo alelos de MHC de classe II em particular e outros genes têm sido identificados, porém muitos indivíduos com variantes gênicas que os predispõem para a doença não a apresentam. Estudos epidemiológicos de populações em animais geneticamente idênticos têm salientado o papel de fatores ambientais no início da autoimunidade; entretanto, embora os fatores ambientais tenham uma influência tão forte quanto fatores genéticos, eles são ainda pouco entendidos. Sabe-se que algumas toxinas e fármacos causam síndromes autoimunes, porém o seu papel nas variedades comuns de doença autoimune não está claro. De maneira similar, algumas síndromes autoimunes podem ocorrer após infecções virais ou bacterianas. Patógenos podem promover autoimunidade, causando inflamação inespecífica e dano tecidual. Esses também podem, algumas vezes, estimular respostas a proteínas próprias, caso expressem moléculas que se assemelhem ao que é próprio, um fenômeno conhecido como mimetismo molecular. É necessário um progresso muito maior para definir os fatores ambientais. Pode ser que não haja um fator ambiental único, ou mesmo identificável, que contribua para a maioria das doenças, e o acaso pode exercer um importante papel na determinação do início de uma síndrome.

## Respostas a aloantígenos e rejeição de transplante

O transplante de tecidos para substituir órgãos doentes é, atualmente, uma importante terapia médica. Na maioria dos casos, as respostas imunes adaptativas aos tecidos enxertados são o principal impedimento ao transplante bem-sucedido. A rejeição é causada por respostas imunes a aloantígenos do enxerto, que são proteínas que variam de indivíduo para indivíduo dentro da espécie e são, portanto, percebidas como estranhas pelo receptor. Quando tecidos contendo células nucleadas são transplantados, as respostas das células T às moléculas do MHC altamente polimórficas quase sempre disparam uma resposta contra

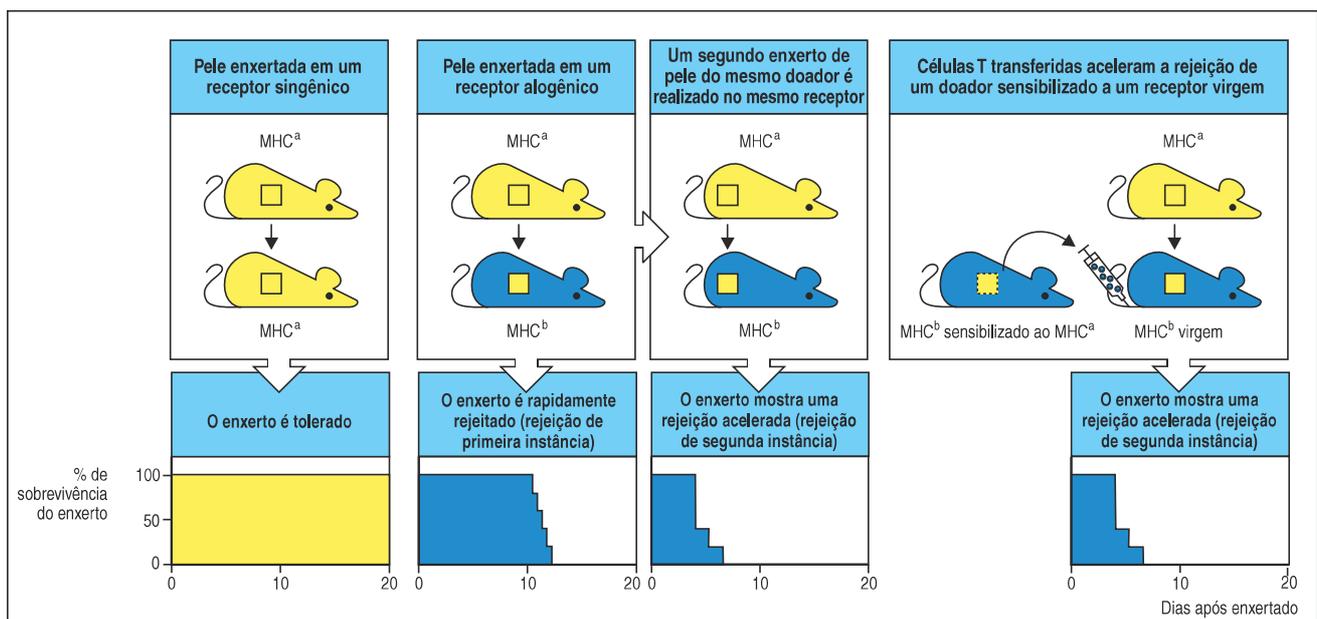
o órgão enxertado. A compatibilidade entre o tipo de MHC do doador e do receptor aumenta o índice de sucesso dos enxertos; porém, a identidade perfeita só é possível quando esses são parentes, e, nesses casos, diferenças genéticas em outros *loci* podem ainda desencadear a rejeição, apesar de menos severa. Na transfusão sanguínea, o primeiro e ainda o mais comum dos transplantes de tecidos, a combinação de MHC não é necessária, já que hemácias e plaquetas expressam pouca proteína do MHC do tipo I e não expressam MHC do tipo II; assim, essas células não são alvos para as células T do receptor. Entretanto, o sangue deve ser combinado de acordo com os antígenos dos grupos sanguíneos ABO e Rh, para evitar a rápida destruição dos eritrócitos incompatíveis por anticorpos do receptor (ver Apêndice I, Seção A-11). Isso é relativamente fácil, pois existem apenas quatro tipos sanguíneos ABO principais e dois tipos Rh. Nesta seção, examinaremos a resposta imune aos enxertos de tecido, indagando por que tais respostas não rejeitam um outro enxerto de tecido estranho tolerado rotineiramente – o feto nos mamíferos.

### 14-28 A rejeição dos enxertos é uma resposta imunológica mediada primariamente por células T

**Figura 14.39 A rejeição do enxerto de pele é o resultado de uma resposta anti-enxerto mediada por células T.** Os enxertos singênicos são permanentemente aceitos (primeiro quadro), mas enxertos que diferem no MHC são rejeitados dentro de 10-13 dias (rejeição de segunda instância, segundo quadro). Quando um camundongo é enxertado pela segunda vez com pele do mesmo doador, ele rejeita o segundo enxerto de forma mais rápida (terceiro quadro). Isso é chamado de rejeição de segunda instância e a resposta acelerada é MHC-específica; a pele de um segundo doador do mesmo tipo de MHC é rejeitada de maneira igualmente rápida, enquanto a pele de um doador com MHC diferente é rejeitada em um padrão de primeira instância (não mostrado). O camundongo virgem que recebe células T de um doador sensibilizado comporta-se como se já tivesse sido enxertado (último quadro).

As regras básicas do enxerto de tecidos foram elucidadas, pela primeira vez, utilizando transplantes de pele entre linhagens endocruzadas de camundongo. A pele pode ser enxertada com 100% de sucesso entre diferentes locais de um mesmo animal ou pessoa (um **autoenxerto**) ou entre animais ou pessoas geneticamente idênticos (um enxerto **singênico**). Entretanto, quando a pele é enxertada entre dois indivíduos não-aparentados ou **alôgenicos (aloenxerto)**, o enxerto é inicialmente aceito, mas, então, rejeitado 10 a 13 dias após (Figura 14.39). Essa resposta é chamada de **rejeição de primeira instância** e é bastante consistente. Ela depende de uma resposta das células T do receptor, pois a pele enxertada no camundongo *nude*, que não possui células T, não é rejeitada. Pode-se restaurar a capacidade de rejeição da pele no camundongo *nude* por meio da transferência adotiva de células T normais.

Quando um receptor que já rejeitou um enxerto sofre novo enxerto com pele do mesmo doador, o segundo enxerto é rejeitado mais rapidamente (6 a 8 dias) por uma **rejeição de segunda instância** (ver Figura 14.39). A pele de um terceiro doa-



dor enxertada ao mesmo tempo no mesmo receptor não mostra essa resposta mais rápida, obedecendo à evolução da rejeição de primeira instância. O curso rápido da rejeição de segunda instância pode ser transferido a receptores normais ou irradiados por meio da transferência de células T do receptor inicial, demonstrando que a rejeição do enxerto é provocada por uma reação imunológica específica similar à memória (ver Capítulo 10) a partir de células T específicas clonalmente expandidas e iniciadas para a pele do doador.

As respostas imunes são as barreiras mais importantes contra a eficácia dos transplantes de tecidos, destruindo-os por meio de uma resposta imune adaptativa às suas proteínas estranhas. Essas respostas podem ser mediadas por células T CD8, por células T CD4 ou por ambas. Os anticorpos também contribuem para a rejeição de segunda instância dos enxertos de tecido.

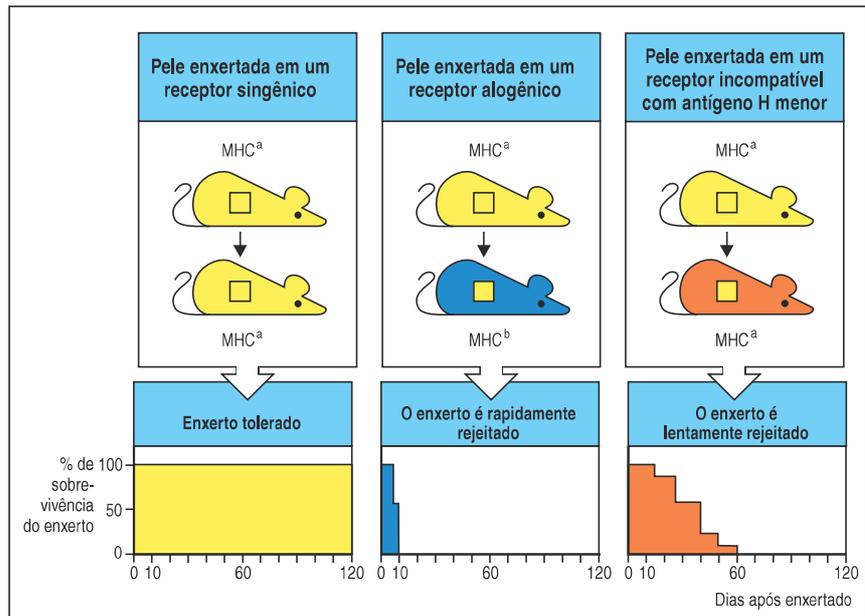
### 14-29 A combinação do MHC entre doador e receptor melhora a evolução do transplante

Antígenos que diferem entre membros da mesma espécie são chamados de **aló-antígenos**, e a resposta imune direcionada contra tais antígenos é denominada resposta **alorreativa**. Quando o doador e o receptor diferem quanto ao MHC, a resposta imune alorreativa é dirigida contra a molécula ou moléculas do MHC não-próprias alogênicas presentes no enxerto. Na maioria dos tecidos, essas serão predominantemente antígenos do MHC de classe I. Uma vez que um receptor tenha rejeitado um enxerto de determinado tipo de MHC, qualquer enxerto subsequente contendo a mesma molécula do MHC estranha será rejeitado por uma resposta de segunda instância. Como aprendemos no Capítulo 5, a frequência de células T específicas para qualquer molécula do MHC estranha é relativamente elevada, fazendo com que as diferenças em *loci* do MHC sejam o desencadeador mais potente da rejeição dos enxertos iniciais; de fato, o complexo de histocompatibilidade principal foi assim denominado devido ao seu papel central na rejeição de enxertos.

Uma vez que se tornou claro que o reconhecimento de moléculas do MHC estranhas é um importante determinante da rejeição do enxerto, consideráveis esforços foram realizados para combinar o MHC entre o receptor e o doador. Embora o pareamento do MHC, conhecido em humanos como HLA, melhore significativamente a taxa de sucesso clínico dos transplantes de órgãos, em si, ele não previne as reações de rejeição. Existem duas razões principais para isso. A primeira é que a tipagem do HLA é imprecisa, devido ao polimorfismo e à complexidade do MHC humano; indivíduos não-aparentados, tipados como HLA-idênticos com anticorpos contra as proteínas do MHC, raramente possuem genótipos do MHC idênticos. Entretanto, isso não deveria ser um problema em irmãos HLA-idênticos: uma vez que eles herdam seus genes MHC como um haplótipo, um em cada quatro irmãos deveria ser realmente idêntico quanto ao HLA. Não obstante, os enxertos entre irmãos HLA-idênticos são invariavelmente rejeitados, embora mais lentamente, a não ser que o doador e o receptor sejam gêmeos idênticos. Essa rejeição é o resultado de diferenças entre os antígenos de histocompatibilidade menores, que é a segunda razão para a falha em combinar HLAs para evitar a rejeição. Esses antígenos, que representam peptídeos de proteínas não-MHC alelicamente variáveis, serão discutidos na próxima seção.

Portanto, a não ser que doador e receptor sejam gêmeos idênticos, todos os receptores de enxerto devem receber fármacos imunossupressores para evitar a rejeição. Na verdade, o atual sucesso do transplante de órgãos sólidos deve-se mais a avanços na terapia imunossupressora, discutida no Capítulo 15, do que à melhoria no pareamento dos tecidos. O suprimento limitado de órgãos cadavéricos, junto com a urgência de identificar um receptor, uma vez que um doador se torna disponível, significa que a combinação acurada dos tipos de tecidos é raramente obtida, com a exceção da doação de rins entre irmãos.

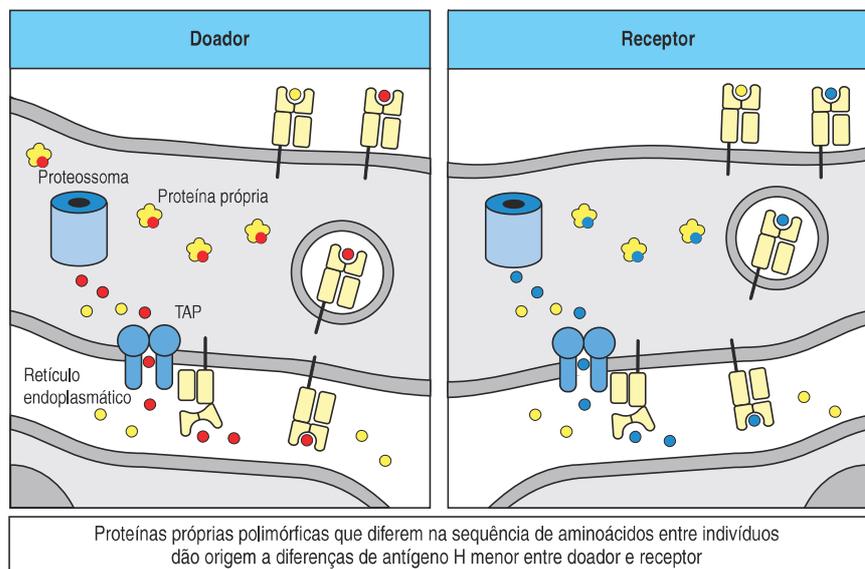
**Figura 14.40 Mesmo o pareamento completo do MHC não assegura a sobrevivência do enxerto.** Apesar de enxertos singênicos não serem rejeitados (quadro à esquerda), enxertos de doadores com MHC idêntico que diferem em outros *loci* (*loci* de antígeno H menor) são rejeitados (quadro à direita), ainda que mais lentamente do que enxertos com diferenças no MHC (quadro central).



**14-30 Em enxertos com MHC idênticos, a rejeição é causada por peptídeos de outros aloantígenos ligados a moléculas do MHC do enxerto**

Quando o doador e o receptor são idênticos para o MHC, mas diferem em outros *loci* genéticos, a rejeição do enxerto não é tão rápida (Figura 14.40). Moléculas do MHC de classe I e classe II ligam e apresentam uma seleção de peptídeos derivados de proteínas produzidos pela célula, e se polimorfismos nessas proteínas resultam na produção de diferentes peptídeos em diferentes membros de uma espécie, eles podem ser reconhecidos como **antígenos de histocompatibilidade menores** (Figura 14.41). Uma série de proteínas que induzem respostas de histocompatibilidade menor é codificada no cromossoma Y. As respostas induzidas por essas proteínas são conhecidas como H-Y. Como esses genes específicos de cromossoma Y não são expressos em fêmeas, respostas de histocompatibilidade menor antimalo ocorrem nessas; entretanto, as respostas de machos antifêmea não são verifi-

**Figura 14.41 Os antígenos H menores são peptídeos derivados de proteínas celulares polimórficas ligados a moléculas do MHC de classe I.** Proteínas próprias são rotineiramente digeridas por proteossomas dentro do citosol celular, e os peptídeos derivados dessas são enviados ao retículo endoplasmático, onde irão ligar-se a moléculas do MHC de classe I e, então, serão encaminhados à superfície celular. Se uma proteína polimórfica difere entre o doador do enxerto (mostrado em vermelho, à esquerda) e o receptor (mostrado em azul, à direita), ela pode dar origem a um peptídeo antigênico (vermelho na célula do doador) que pode ser reconhecido pelas células T do receptor como estranho, estimulando uma resposta imune. Tais antígenos são os antígenos H menores.



cadadas, pois ambos, fêmeas e machos, expressam genes do cromossoma X. Um antígeno H-Y foi identificado em camundongos e em seres humanos como peptídeos de uma proteína codificada pelo gene do cromossoma Y *Smcy*. Um homólogo de *Smcy* no cromossoma X, denominado *Smcx*, não contém essas sequências de peptídeos, as quais somente são expressas em machos. A maioria dos antígenos de histocompatibilidade menores, codificados por genes autossômicos, é desconhecida, apesar de recentemente terem sido identificados 10 em nível genético.

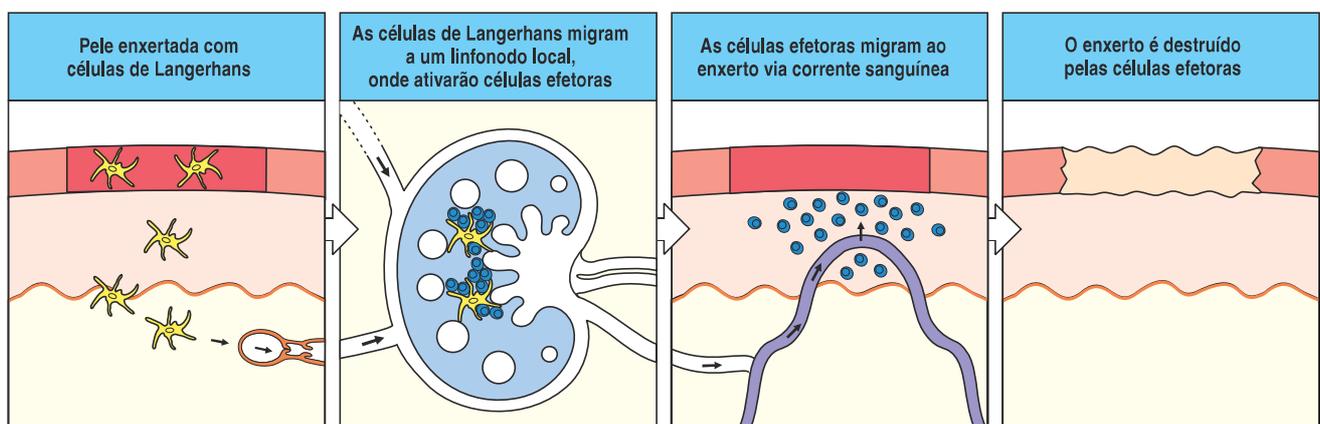
A resposta aos antígenos de histocompatibilidade menores é, de várias formas, análoga à resposta à infecção viral. Porém, uma resposta antiviral elimina somente células infectadas, ao passo que todas as células no enxerto expressam esses antígenos e, portanto, todo o enxerto é destruído em resposta a esses. Dada a certeza virtual de não-pareamentos de antígenos histocompatibilidade menores entre dois indivíduos quaisquer e a potência de reações que estimulam, não há dúvidas de que o sucesso de transplantes requer o uso de poderosos fármacos imunossupressores.

### 14-31 Existem dois modos de apresentar aloantígenos aos linfócitos T do receptor no transplante

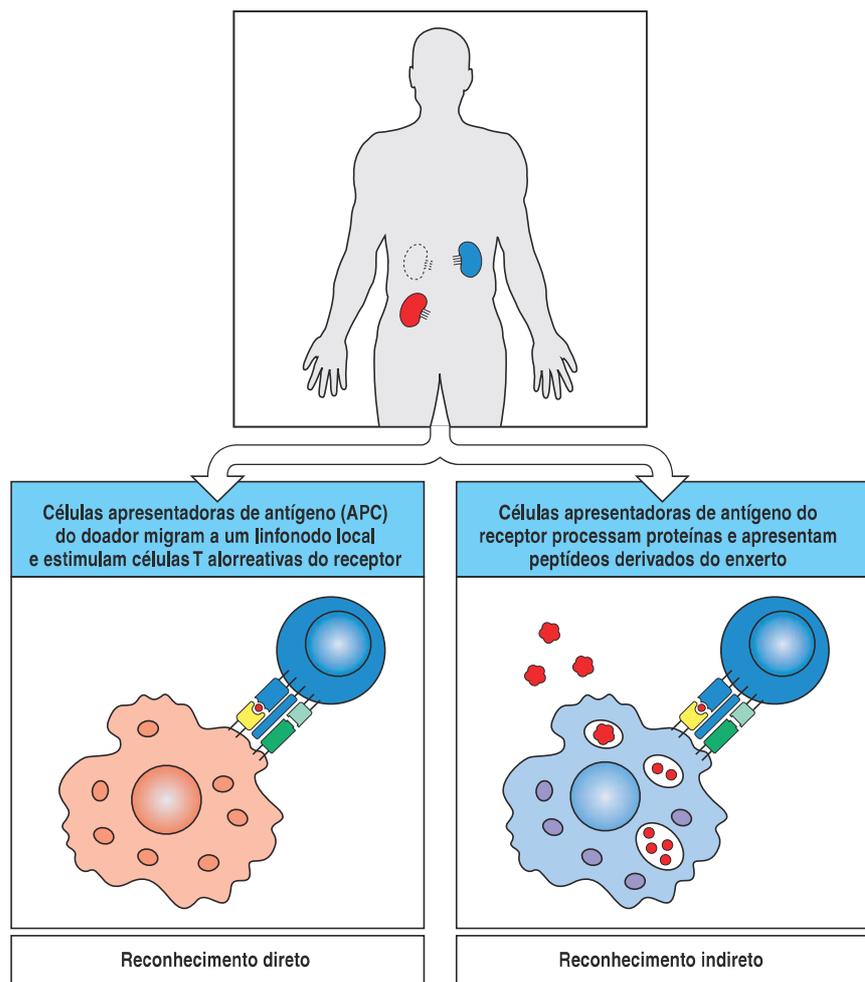
Antes que as células T virgens alorreativas possam causar rejeição, elas devem ser ativadas por células apresentadoras de antígenos que portem as moléculas do MHC alogênicas e possuam atividade coestimuladora. Os enxertos de órgãos possuem células apresentadoras de antígeno originárias do doador, conhecidas como leucócitos passageiros, e essas são um importante estímulo à alorreatividade. Essa via de sensibilização a um enxerto parece envolver as células apresentadoras de antígeno do doador que deixam o enxerto e migram através da linfa até os linfonodos regionais. Lá, elas podem ativar as células T do hospedeiro que possuem receptores de células T específicos. As células T alorreativas efetoras ativadas são, então, trazidas de volta ao enxerto, o qual elas atacam diretamente (Figura 14.42). Essa via de reconhecimento é conhecida como **alorreconhecimento direto** (Figura 14.42, quadro à esquerda). De fato, se o tecido enxertado está depletado de células apresentadoras de antígeno por um tratamento com anticorpos ou por incubação prolongada, a rejeição ocorre somente após um período muito maior. Além disso, se o sítio de enxerto não possui drenagem linfática, não ocorre resposta contra o enxerto.

Um segundo mecanismo de reconhecimento do aloenxerto que leva à sua rejeição é a captação de proteínas alogênicas por células apresentadoras de antígeno do próprio receptor e sua apresentação às células T, incluindo  $T_{reg}$ , por moléculas do MHC próprias. O reconhecimento de proteínas alogênicas apresentadas dessa forma é conhecido como **alorreconhecimento indireto** (ver Figura 14.43, quadro à direita). Dentre os peptídeos derivados do enxerto, apresentados pelas células apresentadoras de an-

**Figura 14.42 O início da rejeição do enxerto normalmente envolve a migração, a partir do enxerto, de células apresentadoras de antígeno do doador para linfonodos locais.** O exemplo de um enxerto de pele é ilustrado, em que células de Langerhans são as células apresentadoras de antígenos. Essas exibem peptídeos do enxerto em sua superfície. Após a migração até um linfonodo, essas células apresentadoras de antígenos encontram células T virgens recirculantes específicas para antígenos do enxerto e estimulam essas células a se dividirem. As células T efetoras ativadas resultantes migram, via ducto torácico, até o sangue, dirigindo-se ao tecido enxertado, o qual destroem rapidamente. A destruição é altamente específica para células derivadas do doador, sugerindo ser mediada por citotoxicidade direta e não por processos inflamatórios inespecíficos.



**Figura 14.43 Os aloantígenos em órgãos enxertados podem ser reconhecidos de duas maneiras diferentes.** O reconhecimento direto de um órgão enxertado (em vermelho no quadro superior) é mediado por células T cujos receptores têm especificidade para a molécula do MHC alogênica de classes I e II em combinação com o peptídeo. Essas células T autorreativas são estimuladas por células apresentadoras de antígeno (APC) do doador, que expressam a molécula do MHC alogênica e atividade coestimulatória (quadro inferior à esquerda). O reconhecimento indireto do enxerto (quadro inferior à direita) é mediado por células T, cujos receptores são específicos para peptídeos alogênicos derivados do órgão enxertado. Proteínas do enxerto (vermelho) são processadas por células apresentadoras de antígeno do receptor e são apresentadas por moléculas do MHC de classes I e II próprias.



tígeno do receptor, estão os antígenos de histocompatibilidade menores e também os peptídeos das moléculas do MHC estranhas em si, que são uma importante fonte de peptídeos polimórficos reconhecidos pelas células T do receptor, apesar de, nesse caso, isso ocorrer somente se o enxerto for MHC-combinado com o receptor.

As contribuições relativas do alorreconhecimento direto e indireto na rejeição do enxerto não são conhecidas. Acredita-se que o alorreconhecimento direto seja, em grande parte, responsável pela rejeição aguda, especialmente quando o MHC diferente significa que a frequência de células T diretamente autorreativas do receptor é elevada. Além disso, um ataque direto de células T citotóxicas sobre as células do enxerto somente pode ser realizado por células T que reconhecem as moléculas MHC do enxerto diretamente. Contudo, as células T com aloespecificidade indireta podem contribuir para a rejeição do enxerto ativando os macrófagos, que causam lesão tecidual e fibrose e também parecem ser importantes no desenvolvimento de uma resposta de aloanticorpos a um enxerto. Os anticorpos produzidos contra antígenos estranhos de outro membro da mesma espécie são conhecidos como **aloanticorpos**.

#### 14-32 Os anticorpos que reagem com o endotélio causam rejeição hiperaguda do enxerto

As respostas de anticorpos também são uma importante causa potencial de rejeição do enxerto. Os aloanticorpos preexistentes contra antígenos do grupo sanguíneo e antígenos do MHC polimórficos podem causar a rápida rejeição de órgãos trans-

plantados em uma reação dependente de complemento que pode ocorrer dentro de alguns minutos após o transplante. Esse tipo de reação é conhecida como **rejeição hiperaguda do enxerto**. A maioria dos enxertos que são transplantados rotineiramente na medicina clínica são enxertos de órgãos vascularizados, ligados diretamente à circulação do receptor. Em alguns casos, o receptor pode já possuir anticorpos circulantes contra os antígenos do enxerto do doador. Anticorpos do tipo ABO podem ligar-se a todos os tecidos, não somente a eritrócitos. Esses são pré-formados e são relevantes em todos os indivíduos ABO-diferentes. Além disso, anticorpos contra outros antígenos podem ser produzidos em resposta a um transplante anterior ou a uma transfusão sanguínea. Todos os anticorpos preexistentes podem causar uma rejeição muito rápida de enxertos vascularizados, pois eles reagem contra antígenos das células endoteliais vasculares do enxerto e iniciam as cascatas do complemento e da coagulação sanguínea. Os vasos do enxerto tornam-se bloqueados, causando sua morte imediata. Tais enxertos tornam-se ingurgitados e de cor púrpura, devido ao sangue da hemorragia, que se torna desoxigenado (Figura 14.44). Esse problema pode ser evitado realizando uma combinação dos grupos ABO, assim como uma **prova cruzada** entre o doador e o receptor. A prova cruzada procura determinar se o receptor tem anticorpos que reagem contra as células brancas do doador. Caso anticorpos desse tipo sejam encontrados, haverá uma séria contraindicação ao transplante, pois quase certamente haverá rejeição hiperaguda.

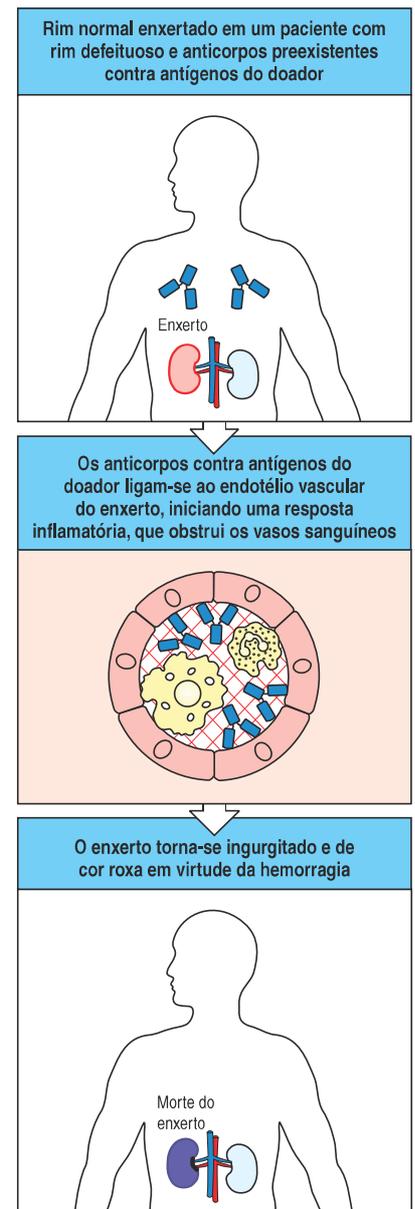
Entretanto, os dogmas estão mudando. A presença de aloanticorpos contra o MHC doador-específicos e uma prova cruzada positiva não é atualmente mais considerada o fator restritivo principal na sobrevivência do enxerto. A dessensibilização do paciente pelo tratamento com imunoglobulina intravenosa tem sido um sucesso em uma proporção de pacientes nos quais estavam presentes anticorpos contra o tecido do doador. Portanto, uma prova cruzada positiva não é uma contraindicação absoluta para transplante.

Um problema muito semelhante impede o uso de rotina de órgãos animais – **xenoenxertos** – em transplantes. Se os xenoenxertos pudessem ser utilizados, superariam a maior limitação na terapia de transplante de órgãos, que é a grande falta de doadores. Têm-se sugerido os porcos como uma fonte potencial de xenoenxertos, pois têm um tamanho similar aos seres humanos e são facilmente reproduzidos. A maioria dos seres humanos e de outros primatas possui anticorpos que reagem com os antígenos ubíquos carboidratados da superfície celular ( $\alpha$ -Gal) de outras espécies de mamíferos, incluindo os porcos. Quando são realizados xenoenxertos de porco em seres humanos, esses anticorpos desencadeiam uma rejeição hiperaguda ligando-se às células endoteliais do enxerto e dando início às cascatas do complemento e da coagulação. O problema da rejeição hiperaguda é exacerbado em xenoenxertos, pois as proteínas reguladoras do complemento, como a CD59, a DAF (CD55) e a MCP (CD46) (ver Seção 2-22), atuam de forma menos eficiente na barreira entre as espécies, e, assim, as proteínas reguladoras do porco, por exemplo, não podem proteger o enxerto do ataque pelo complemento humano.

Um recente passo em direção ao xenotransplante tem sido o desenvolvimento de porcos transgênicos expressando DAF humano, assim como porcos que não possuem  $\alpha$ -Gal. Essas abordagens podem, um dia, reduzir ou eliminar a rejeição hiperaguda em xenotransplantes. Entretanto, a rejeição hiperaguda é somente a primeira barreira enfrentada por um órgão xenotransplantado. Os mecanismos de rejeição do enxerto mediados por linfócitos T podem ser extremamente difíceis de solucionar com os regimes imunossuppressores atualmente disponíveis.

### 14-33 A rejeição crônica de órgãos é causada pela lesão vascular inflamatória ao enxerto

O sucesso da imunossupressão moderna significa que aproximadamente 90% dos enxertos de rim cadavérico ainda estão funcionando um ano após o transplante. Porém, não houve melhorias nas taxas de sobrevivência do enxerto a longo prazo: a



**Figura 14.44** Anticorpos preexistentes contra antígenos do doador do enxerto podem causar rejeição hiperaguda do enxerto. Em alguns casos, os receptores já têm anticorpos contra antígenos do doador, que são, frequentemente, antígenos de grupos sanguíneos. Quando o órgão do doador é enxertado em tais receptores, esses anticorpos ligam-se ao endotélio vascular no enxerto, iniciando as cascatas do complemento e da coagulação. Os vasos sanguíneos no enxerto tornam-se obstruídos por coágulos e vazam, causando hemorragia dentro do enxerto. Esse torna-se ingurgitado e de cor roxa pela presença de sangue desoxigenado.

meia-vida de sobrevida funcional dos aloenxertos renais permanece em cerca de oito anos. A principal causa da falência tardia do órgão é a rejeição crônica, caracterizada por arterioesclerose concêntrica de vasos sanguíneos do enxerto, acompanhada por fibrose glomerular e tubular e atrofia.

Os mecanismos que contribuem para a rejeição crônica podem ser divididos entre aqueles devidos à alorreatividade e aqueles devidos a outras vias, e entre eventos precoces e tardios após o transplante. A alorreatividade pode ocorrer dias e semanas após o transplante e pode causar rejeição aguda. Respostas alorreativas também podem ocorrer meses e anos após o transplante e podem estar associadas a uma gradual perda da função do órgão transplantado, que é clinicamente difícil de detectar. Outras importantes causas de rejeição crônica a enxertos incluem a lesão por isquemia (dano por reperfusão), que ocorre no momento do enxerto mas pode causar efeitos adversos posteriores no órgão enxertado e fatores adversos de desenvolvimento tardio, como a toxicidade crônica por ciclosporina ou a infecção por citomegalovírus.

A infiltração dos vasos e tecidos do enxerto por macrófagos, seguida pela fibrose, é a característica histológica proeminente da rejeição tardia do enxerto. Desenvolveu-se um modelo de lesão no qual as células T alorreativas que infiltram o enxerto secretam citocinas, que estimulam a expressão de moléculas de adesão endotelial e também secretam quimiocinas como CCL5 (ver Figura 2.46), que atraem monócitos que amadurecem em macrófagos no enxerto. Uma segunda fase de inflamação crônica sobrevém, dominada por produtos de macrófagos que incluem a IL-1, o TNF- $\alpha$  e a quimiocina CCL2, levando ao recrutamento adicional de macrófagos. Esses mediadores conspiram para causar inflamação crônica e fibrose, que eventualmente levam à falência irreversível do órgão. Modelos animais de rejeição crônica também demonstram que anticorpos IgG alorreativos podem induzir arterioesclerose acelerada em órgãos sólidos transplantados.

Tecido transplantado	Nº de transplantes nos EUA (2006)*	Sobrevivência de 5 anos
Rim	18.017	71,9%
Fígado	6.650	67,4%
Coração	2.192	71,5%
Pâncreas	1.387	53,2%#
Pulmão	1.405	46,3%
Córnea	~40,000†	~70%
Medula óssea	15,000‡	40% / 60%

**Figura 14.45 Tecidos comumente transplantados em medicina clínica.** Os números de transplante de órgãos realizados nos Estados Unidos em 2006 são ilustrados. \*Número de transplantes inclui o transplante de múltiplos órgãos. Dados de United Network for Organ Sharing. # Sobrevida do pâncreas é de 53,2% quando transplantado sozinho, e de 76,3% quando transplantado com um rim. † Dados para 2000, cortesia de National Eye Institute. ‡ Dados para 2005, do International Bone Marrow Transplant Registry somente para transplantes alogênicos; a sobrevida depende da doença e é aguda para 40%, e crônica para 60% dos pacientes com leucemia mielogênica. Todos os enxertos, exceto os da córnea, necessitam de uma imunossupressão por um longo período.

#### 14-34 Diversos órgãos são rotineiramente transplantados em medicina clínica

Embora a resposta imune dificulte o transplante, existem poucas terapias alternativas para a falência de órgãos. Três importantes avanços tornaram possível o uso de transplantes de órgãos rotineiramente na clínica. Primeiro, a habilidade técnica para realizar cirurgias de transplante tem sido dominada por muitas pessoas. Segundo, organizaram-se redes de centros de transplante para assegurar que os poucos órgãos saudáveis disponíveis sejam tipados quanto ao HLA e combinados com os receptores mais aceitáveis. Terceiro, o uso de potentes fármacos imunossupressores, especialmente a ciclosporina A e o FK-506 (Tacrolimo), para inibir a ativação das células T (ver Capítulo 15), ou o bloqueio do receptor para a IL-2 pela rapamicina, que provoca a apoptose aloespecífica de linfócitos T CD4 ativados, tem aumentado consideravelmente as taxas de sobrevida dos enxertos. Os diferentes órgãos transplantados na clínica são listados na Figura 14.45. Algumas dessas cirurgias são realizadas rotineiramente com altas taxas de sucesso. O órgão mais frequentemente transplantado é o rim, o primeiro órgão transplantado com sucesso entre gêmeos idênticos na década de 1950. O transplante de córnea é ainda mais frequente; esse tecido constitui um caso especial, pois não é vascularizado, e os enxertos de córnea entre pessoas não-aparentadas geralmente são bem-sucedidos, mesmo sem a imunossupressão.

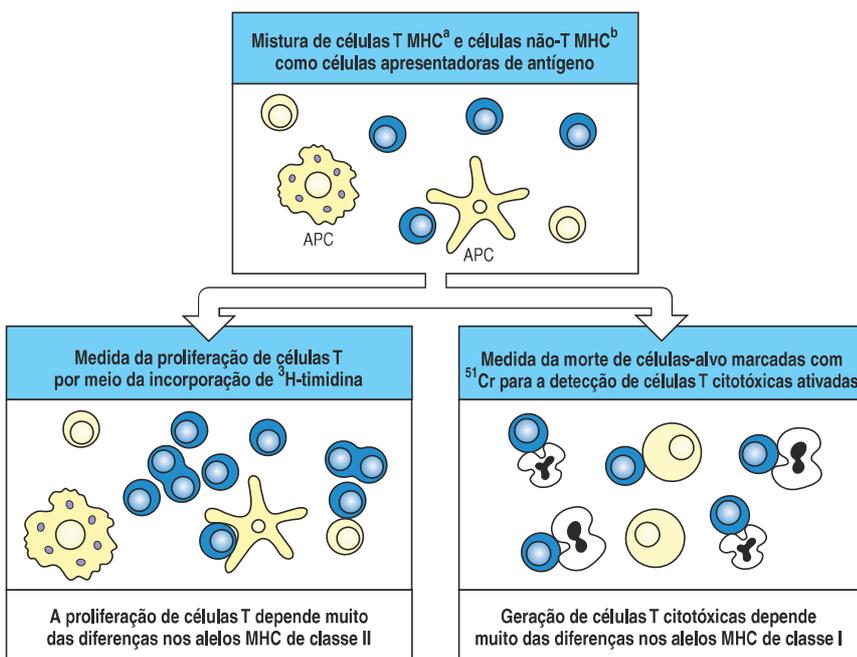
Existem, entretanto, muitos outros problemas além da rejeição do enxerto associados ao transplante de órgãos. Em primeiro lugar, é difícil obter doadores de órgãos, e isso é principalmente um problema quando o órgão envolvido é vital, como o coração ou o fígado. Em segundo lugar, a doença que destruiu o órgão do paciente também pode destruir o enxerto, como na destruição de células  $\beta$  pancreáticas no diabetes. Em terceiro lugar, a imunossupressão necessária para evitar a rejeição do enxerto aumenta o risco de câncer e infecção. Todos esses problemas precisam ser resolvidos antes que o transplante clínico se torne um lugar-comum. Os problemas mais passíveis de solução científica são o desenvolvimento de meios mais efetivos

de imunossupressão, a indução de tolerância específica ao enxerto e o desenvolvimento de xenoenxertos como solução prática para a disponibilidade de órgãos.

**14-35 O corolário da rejeição de enxertos é a doença enxerto-versus-hospedeiro**

O transplante de células-tronco hematopoiéticas é uma terapia bem-sucedida para alguns tumores derivados de precursores da medula óssea, como determinadas leucemias e linfomas. Esse também pode ser utilizado para a cura de algumas doenças de imunodeficiência primária (ver Capítulo 12) e doenças de células-tronco hematopoiéticas herdadas, como as formas graves de talassemia, por meio da substituição de células-tronco geneticamente defeituosas por células normais de um doador. Na terapia de leucemia, a medula óssea do receptor, a fonte da leucemia, deve ser primeiramente destruída por uma combinação de irradiação e quimioterapia citotóxica agressiva. Uma das principais complicações do transplante alogênico de medula óssea é a doença **enxerto-versus-hospedeiro (GVHD)**, em que células T maduras do doador que contaminam a medula óssea alogênica reconhecem os tecidos do receptor como estranhos, causando uma grave doença inflamatória caracterizada por exantemas, diarreia e doença hepática. A GVHD é particularmente virulenta quando há uma diferença em um antígeno principal do MHC de classe I ou II. A maioria dos transplantes só é realizada quando o doador e o receptor são parentes com HLAs combinantes, ou, de forma menos frequente, quando há uma combinação com o HLA de um doador não-aparentado. Entretanto, assim como no transplante de órgãos, a GVHD também ocorre em um contexto de diferenças entre antígenos de histocompatibilidade menores; por esse motivo, a imunossupressão deve ser utilizada em todos os transplantes de células-tronco.

A presença de células T alorreativas pode ser facilmente demonstrada, experimentalmente, pela **reação de linfócitos mistos (MLR)**, na qual os linfócitos de um doador potencial são misturados a linfócitos irradiados do receptor em potencial. Se os linfócitos do doador contêm células T virgens alorreativas, que reconhecem aloantígenos nos linfócitos do receptor, eles responderão por divisão celular (Figura 14.46). A MLR é, algumas vezes, utilizada na seleção de doadores para transplantes de medula óssea, quando o essencial é a menor resposta alorreativa pos-



**Figura 14.46** A reação de linfócitos mistos (MLR) pode ser utilizada para detectar a histocompatibilidade. Linfócitos de dois indivíduos, que estão para ser testados para compatibilidade, são isolados do sangue periférico. As células de um indivíduo (amarelo), que também incluirão células apresentadoras de antígenos, são irradiadas ou tratadas com mitomicina C; elas atuarão como células estimuladoras, mas não podem responder com síntese de DNA e divisão celular a um estímulo antigênico das células do outro indivíduo. As células de ambos os indivíduos são, então, misturadas (quadro superior). Caso os linfócitos não-irradiados (os responsivos, em azul) contêm células T autorreativas, essas serão estimuladas a proliferar e se diferenciar em células efetoras. Dentro de 3 a 7 dias após a mistura, a cultura é avaliada para a proliferação de células T (quadro inferior, à esquerda), que é basicamente o resultado das células T CD4 reconhecendo diferenças em moléculas do MHC de classe II, e para a geração de células T citotóxicas ativadas (quadro inferior, à direita), que respondem a diferenças nas moléculas do MHC de classe I.

**Figura 14.47 Tipos de células apresentadoras de antígeno do receptor são necessárias para um eficiente início da doença enxerto-versus-hospedeiro (GVHD).** Células T que acompanham as células-tronco hematopoiéticas do doador (quadro à esquerda) podem reconhecer antígenos de histocompatibilidade menores do receptor e iniciar uma resposta imune contra os tecidos desse. No transplante de células-tronco, os antígenos de histocompatibilidade menores poderiam ser apresentados por células apresentadoras de antígeno do receptor ou do doador, as últimas derivando do enxerto de células-tronco e de células precursoras que se diferenciam após o transplante. A figura ilustra células apresentadoras de antígeno como as células dendríticas em um linfonodo (quadro central). Em camundongo, tem sido possível inativar as células apresentadoras de antígenos do hospedeiro utilizando o nocaute de genes. Tais receptores são totalmente resistentes à GVHD mediada por células T CD8 do doador (quadro à direita). Assim, a apresentação cruzada de antígenos de histocompatibilidade menores do receptor em células dendríticas do doador não é suficiente para estimular a GVHD; aqueles antígenos sintetizados endogenamente e apresentados por células apresentadoras de antígeno do receptor são necessários para estimular as células T do doador. Para que seja possível utilizar essa estratégia para prevenir a GVHD em pacientes humanos, serão necessárias maneiras de depletar as células apresentadoras de antígeno do receptor. Esses são os objetos de pesquisa em inúmeros laboratórios.

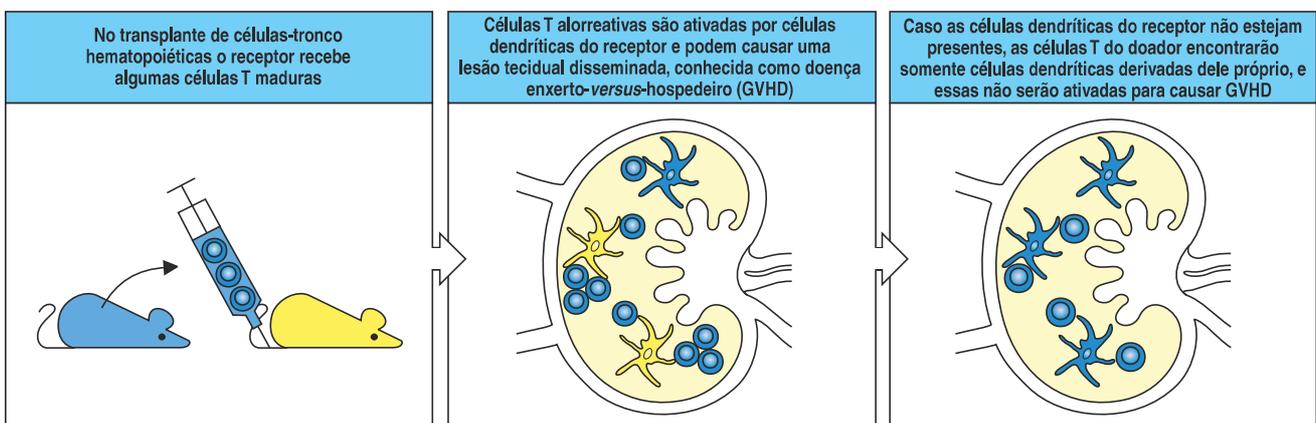
sível. Entretanto, a limitação da MLR na seleção dos doadores de medula óssea é que o teste não quantifica acuradamente as células T alorreativas. Um teste mais preciso é uma versão do ensaio de diluição limitante (ver Apêndice I, Seção A-25), que conta precisamente a frequência de células T alorreativas.

Embora a GVHD seja nociva ao receptor de um transplante de medula óssea, pode haver alguns efeitos benéficos que são cruciais para o sucesso da terapia. Muito do efeito terapêutico do transplante de medula óssea na leucemia pode ser devido a um **efeito enxerto-versus-leucemia**, em que a medula óssea alogênica reconhece os antígenos de histocompatibilidade menores ou antígenos tumor-específicos expressos pelas células leucêmicas, levando as células do doador a matar as células leucêmicas. Uma das opções de tratamento para suprimir o desenvolvimento da GVHD é a eliminação *in vitro* de células T maduras da medula óssea do doador antes do transplante, removendo, assim, as células T alorreativas. Aquelas células T da medula do doador que subsequentemente amadurecem *in vivo* no receptor são tolerantes aos antígenos desse. Embora a eliminação da GVHD traga benefícios para o paciente, existe um aumento no risco de recidiva leucêmica, o que fornece fortes evidências em apoio ao efeito enxerto-versus-leucemia.

A imunodeficiência é uma outra complicação da depleção de células T do doador. Em virtude de a maioria das células T do receptor ser destruída pela combinação de altas doses de quimioterapia e irradiação utilizadas no tratamento do paciente antes do transplante, as células T do doador são a principal fonte de células T maduras reconstituíntes após o transplante. Isso é particularmente observado em adultos, que possuem uma baixa função residual do timo. Se muitas células T forem depletadas do enxerto, conseqüentemente, os receptores transplantados experenciam e, em diversos casos, morrem em razão de inúmeras infecções oportunistas. A necessidade de equilibrar os benefícios do efeito enxerto-versus-leucemia e da imunocompetência com os efeitos adversos da GVHD causados por células T do doador tem gerado muitas pesquisas. Uma abordagem particularmente promissora é evitar que células T reajam com antígenos do receptor que elas poderiam encontrar logo após o transplante. Isso é alcançado por meio da depleção de células apresentadoras de antígeno do receptor, as células dendríticas essenciais (Figura 14.47). Evidentemente, nessa situação, as células T do doador não são ativadas durante a inflamação inicial que acompanha o transplante e não promovem GVHD. Entretanto, não está claro se haveria um efeito enxerto-versus-leucemia nesse contexto.

#### 14-36 Células T reguladoras estão envolvidas na resposta imune alorreativa

Como em todas as respostas imunes, acredita-se agora que as células T reguladoras CD4 CD25 cumpram um papel importante como imunorreguladoras na resposta imune alorreativa envolvida com o enxerto. Os experimentos em transplan-



te de células da medula óssea alogênica têm esclarecido algumas questões. Assim, a depleção das células  $T_{reg}$  CD4 CD25 no receptor ou  $T_{reg}$  CD4 CD25 do enxerto de medula óssea antes do transplante aceleraram o início de GVHD e seguido de morte. Em contraposição, o suprimento ao enxerto de  $T_{reg}$  CD4 CD25 frescas ou  $T_{reg}$  CD4 CD25 ativadas e expandidas *ex vivo* retardou ou mesmo preveniu a morte por GVHD. Esses experimentos sugerem que o enriquecimento ou a geração de células  $T_{reg}$  em enxertos de medula óssea possa proporcionar no futuro uma terapia para a GVHD.

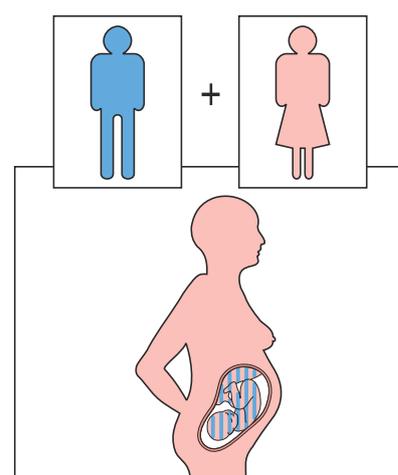
Uma outra classe de células T reguladoras – as células  $T_{reg}$  CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> – possui um fenótipo anérgico e acredita-se que mantenha a tolerância de células T indiretamente, inibindo a capacidade das células apresentadoras de antígenos de ativar as células T auxiliares. Células desse tipo foram isoladas de pacientes transplantados. Elas podem ser distinguidas das células T CD8 citotóxicas autorreativas porque não apresentam atividade citotóxica contra as células do doador e expressam níveis do receptor do inibidor de morte CD94 (ver Seção 2-31). Estas descobertas sugerem a possibilidade de que as células  $T_{reg}$  CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> interfiram com a ativação das células apresentadoras de antígenos e na manutenção da tolerância ao transplante.

### 14-37 O feto é um aloenxerto que é repetidamente tolerado

Todos os transplantes discutidos até agora são artefatos da tecnologia médica moderna. Contudo, um tecido “estranho” que é repetidamente enxertado e tolerado é o feto nos mamíferos. O feto é portador de MHC paternos e antígenos de histocompatibilidade menores diferentes daqueles da mãe (Figura 14.48), e, ainda assim, uma mãe pode gerar, de modo bem-sucedido, vários filhos que expressam as mesmas proteínas do MHC estranhas originárias do pai. A misteriosa falta de rejeição do feto tem desafiado gerações de imunologistas, e ainda não surgiu uma explicação adequada. Um dos problemas é que a aceitação do aloenxerto fetal é tão normal que é difícil estudar o mecanismo que evita a rejeição; se o mecanismo de rejeição ao feto é raramente ativado, como analisar os mecanismos que o controlam?

Várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar a tolerância normalmente demonstrada ao feto. Foi proposto que, por alguma razão, o feto não é reconhecido como estranho. Há evidências contra essa hipótese, pois mulheres que geraram vários filhos geralmente produzem anticorpos contra as proteínas do MHC paternas e antígenos de eritrócitos; de fato, essa é a melhor fonte de anticorpos para a tipagem humana do MHC. Entretanto, a placenta, que é um tecido derivado do feto, parece sequestrá-lo das células T maternas. A camada externa da placenta, a interface entre os tecidos fetais e maternos, é o trofoblasto. Esse não expressa as proteínas clássicas do MHC de classes I e II, tornando-se resistente ao reconhecimento e ao ataque pelas células T maternas. Os tecidos que não possuem a expressão da classe I são, entretanto, vulneráveis ao ataque por células NK (ver Seção 2-31). O trofoblasto pode ser protegido do ataque pelas células NK por meio da expressão de uma molécula HLA de classe I – a HLA-G. Essa proteína demonstrou ligar-se aos dois principais inibidores dos receptores NK, KIR1 e KIR2, e inibir a morte pelas células NK.

A placenta também pode sequestrar o feto das células T da mãe por um mecanismo ativo de retirada de nutrientes. A enzima indolamina 2,3-dioxigenase (IDO) é expressa em altos níveis por células na interface mãe-feto. Essa enzima cataboliza e, portanto elimina, o aminoácido essencial triptofano nesse local, e células T que não têm acesso ao triptofano mostram resposta reduzida. A inibição da IDO em camundongas grávidas, usando o inibidor 1-metiltryptofano, causa uma rápida rejeição de fetos alogênicos, mas não de singênicos. Isso apóia a hipótese de que células T maternas, alorreativas a proteínas do MHC paternas, podem ser mantidas em xeque na placenta por meio da privação de triptofano.



**Figura 14.48 O feto é um aloenxerto que não é rejeitado.** Apesar de o feto portar moléculas do MHC paternas e outros antígenos estranhos, ele não é rejeitado. Mesmo na mãe que teve vários filhos do mesmo pai, não se observa qualquer sinal de rejeição imune.

É provável que a tolerância ao feto seja um processo multifatorial. O trofoblasto não atua como uma barreira absoluta entre a mãe e o feto, e as células sanguíneas fetais podem atravessar a placenta e ser detectadas na circulação materna, embora em número muito pequeno. Existem evidências diretas, a partir de experimentos em camundongos, da tolerância específica das células T contra os aloantígenos do MHC paternos. As fêmeas grávidas de camundongos cujas células T portam um receptor transgênico específico para um aloantígeno paterno mostraram expressão reduzida desse receptor de células T durante a gravidez. Esses mesmos animais perderam a capacidade de controlar o crescimento de um tumor experimental portando o mesmo aloantígeno do MHC paterno. Após a gestação, o crescimento do tumor foi controlado, e o nível de receptores de célula T aumentou. Esse experimento demonstra que o sistema imune materno deve ter sido exposto aos aloantígenos do MHC paternos, e que a resposta imune a esses antígenos foi temporariamente suprimida.

Outro fator que pode contribuir para a tolerância materna ao feto é a secreção de citocinas na interface materno-fetal. Tanto o epitélio uterino quanto o trofoblasto secretam citocinas, incluindo o TGF- $\beta$ , a IL-4 e a IL-10. Esse padrão de citocinas tende a suprimir as respostas  $T_H1$  (ver Seção 10-5). A indução ou a injeção de citocinas, como o IFN- $\gamma$  e a IL-12, que promovem as respostas  $T_H1$  em animais experimentais, promove a reabsorção fetal, o equivalente do aborto espontâneo em seres humanos. Finalmente, é possível que células T reguladoras possam exercer um papel na supressão da resposta ao feto.

Assim, o feto é tolerado por duas razões principais: ele ocupa um local protegido por uma barreira tecidual não-imunogênica e promove uma resposta imunossupressora local na mãe. Diversos locais do organismo, tais como o olho, têm essas características e permitem a aceitação prolongada de enxertos de tecidos estranhos. Eles geralmente são chamados de sítios imunologicamente privilegiados (ver Seção 14-5).

## Resumo

O transplante clínico é uma realidade do dia-a-dia, e seu sucesso está sendo construído sob o pareamento do MHC, os fármacos imunossupressores e a habilidade técnica. Contudo, mesmo uma perfeita combinação do MHC não evita a rejeição do enxerto; outras diferenças genéticas entre o hospedeiro e o doador podem resultar em proteínas alogênicas cujos peptídeos são apresentados aos antígenos de histocompatibilidade menores pelas moléculas do MHC no tecido enxertado, e respostas a eles podem levar à rejeição. Como não podemos suprimir especificamente a resposta ao enxerto sem comprometer as defesas do hospedeiro, a maioria dos transplantes requer imunossupressão generalizada do receptor. Isso pode ser tóxico e aumentar o risco de câncer e infecção. O feto é um aloenxerto natural que deve ser aceito – quase sempre é – para que a espécie sobreviva. A tolerância ao feto pode ser a chave para a tolerância específica induzida aos tecidos enxertados, ou pode ser um caso especial não-aplicável à terapia de transplante de órgãos.

## Resumo do Capítulo 14

Idealmente, as funções efetoras do sistema imune seriam direcionadas somente a patógenos e nunca a tecidos próprios. Na prática, em virtude de proteínas estranhas e próprias serem quimicamente similares, a discriminação estrita entre “próprio” e “estranho” é impossível. Ainda assim, o sistema imune mantém tolerância a tecidos próprios. Isso é acompanhado por etapas de regulação, todas as quais utilizam marcadores substitutos para distinguir entre “próprio” e “estranho”, direcionando apropriadamente a resposta imune. Quando esses mecanismos reguladores deixam de funcionar, pode ocorrer uma doença autoimune. Pequenas

brechas nas barreiras reguladoras provavelmente ocorrem todos os dias, porém são suprimidas por efeitos de outras etapas reguladoras: então, a tolerância opera no nível global do sistema imune. Para que ocorra a doença, múltiplas etapas de tolerância têm de estar superadas, e o efeito precisa ser crônico. Essas etapas iniciam com a tolerância central na medula óssea e no timo e incluem mecanismos periféricos, como anergia, desvio de citocinas e células T reguladoras. Algumas vezes, a resposta imune não ocorre simplesmente porque os antígenos não estão disponíveis, como no sequestro imune.

Talvez em virtude da pressão seletiva para gerar respostas imunes a patógenos, o repertório de respostas imunes para promover a autotolerância seja limitado e propenso a falhas. A predisposição genética tem um importante papel na determinação de quais indivíduos desenvolverão uma doença autoimune. A região do MHC, de forma não-surpreendente, tem um efeito dominante em muitas doenças. Existem diversos genes adicionais que contribuem para a regulação imune e que quando defeituosos podem causar ou predispor à doença autoimune. Forças ambientais também possuem um papel significativo, pois, mesmo no caso de gêmeos idênticos, nem sempre ambos são afetados pela mesma doença autoimune. Influências do ambiente podem incluir infecções, toxinas e eventos aleatórios.

Quando a autotolerância é quebrada e a doença autoimune se instala, os mecanismos efetores são similares àqueles utilizados nas respostas a patógenos. Apesar de os detalhes variarem de doença para doença, tanto anticorpos quanto células T podem estar envolvidos. Muito tem sido aprendido sobre as respostas imunes a antígenos teciduais pela análise da resposta a órgãos estranhos transplantados e tecidos, lesões aprendidas no estudo da rejeição de enxertos na autoimunidade e vice-versa. Os transplantes de órgãos sólidos e de medula óssea têm ocasionado síndromes de rejeição que são, de muitas formas, similares às doenças autoimunes, porém os alvos são antígenos de histocompatibilidade maiores ou menores. Os últimos provêm de genes polimórficos. As células T são as principais efetoras na rejeição do enxerto e na doença enxerto-*versus*-hospedeiro.

Para cada uma das indesejáveis categorias de resposta discutidas aqui (em conjunto com a alergia, discutida no Capítulo 13), a questão é como controlar a resposta sem afetar a imunidade protetora contra a infecção. A resposta pode estar em uma compreensão mais completa da regulação da resposta imune, especialmente dos mecanismos supressores que parecem ser importantes na tolerância. O controle deliberativo da resposta imune é discutido no Capítulo 15.

### Teste seu conhecimento

- 14.1 (a) Discuta as múltiplas etapas da autotolerância. (b) Cite, no mínimo, quatro delas e descreva o mecanismo de cada uma em poucas linhas.
- 14.2 Qual a diferença entre tolerância “dominante” e “recessiva”? Explique e dê um exemplo de cada.
- 14.3 Qual a evidência de que a predisposição genética tem um papel importante na doença autoimune? Dê dois exemplos e, para cada um, explique por que o exemplo implica genética.
- 14.4 (a) Discuta uma evidência de que o ambiente tem um papel no desenvolvimento da autoimunidade. (b) Cite dois potenciais fatores ambientais e, para um deles, descreva como eles podem atuar para estimular a autoimunidade.