

Student | CONSULT

WWW.STUDENTCONSULT.COM.BR

# IMUNOLOGIA

## Celular e Molecular

Tradução da 8ª edição

Abul K. Abbas  
Andrew H. Lichtman  
Shiv Pillai

SAUNDERS



ELSEVIER

# Imunologia Celular e Molecular

---

8ª EDIÇÃO

*Abul K. Abbas, MBBS*

*Distinguished Professor in Pathology  
Chair, Department of Pathology  
University of California San Francisco  
San Francisco, California*

*Andrew H. Lichtman, MD, PHD*

*Professor of Pathology  
Harvard Medical School  
Brigham and Women's Hospital  
Boston, Massachusetts*

*Shiv Pillai, MBBS, PHD*

*Professor of Medicine and Health Sciences and Technology  
Harvard Medical School  
Massachusetts General Hospital  
Boston, Massachusetts*





---

# Sumário

---

Capa

Folha de rosto

Copyright

Dedicatória

Revisão científica e tradução

Apresentação

Capítulo 1: Propriedades e Visão Geral das Respostas Imunes

Imunidade inata e adaptativa

Tipos de respostas imunes adaptativas

Características principais das respostas imunes adaptativas

Componentes celulares do sistema imune adaptativo

Visão geral das respostas imunes aos microrganismos

Resumo

Capítulo 2: Células e Tecidos do Sistema Imune

Células do sistema imune

Anatomia e funções dos tecidos linfoides

Resumo

### Capítulo 3: Circulação de Leucócitos e Migração para os Tecidos

Visão geral da migração de leucócitos

Moléculas de adesão nos leucócitos e células endoteliais envolvidas no recrutamento de leucócitos

Quimiocinas e receptores de quimiocinas

Interações leucócito-endotélio e recrutamento de leucócitos para os tecidos

Migração de neutrófilos e monócitos para locais de infecção ou lesão tecidual

Migração e recirculação de linfócitos T

Migração de linfócitos B

Resumo

### Capítulo 4: Imunidade Inata

Visão geral de imunidade inata

Reconhecimento de microrganismos e os próprios danificados pelo sistema imune inato

Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula e sensores da imunidade inata

Componentes celulares do sistema imune inato

Reconhecimento solúvel e moléculas efetoras da imunidade inata

Resposta inflamatória

Resposta antiviral

Estímulo da imunidade adaptativa



Mecanismos que limitam as respostas imunes inatas

Resumo

## Capítulo 5: Anticorpos e Antígenos

Estrutura do anticorpo

Síntese, montagem e expressão das moléculas de Ig

Ligação dos anticorpos a antígenos

Relação estrutura-função nas moléculas de anticorpo

Resumo

## Capítulo 6: Moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade e Apresentação de Antígenos aos Linfócitos T

Propriedades de antígenos reconhecidas por linfócitos T

Captura de antígenos e funções das células apresentadoras de antígenos

Complexo principal de histocompatibilidade (MHC)

Processamento de proteínas antigênicas

Apresentação de antígenos não proteicos a subconjuntos de células T

Resumo

## Capítulo 7: Receptores Imunológicos e a Transdução de Sinais

Visão geral da transdução de sinal

A família dos receptores imunológicos

O complexo receptor de células T e a sinalização celular

O complexo do receptor de antígeno do linfócito B

A atenuação da sinalização dos receptores imunológicos

Receptores de citocina e sinalização

Resumo

## Capítulo 8: Desenvolvimento de Linfócitos e Rearranjo dos Genes dos Receptores de Antígenos

Visão geral do desenvolvimento de linfócitos

Rearranjo dos genes dos receptores de antígenos nos linfócitos B e T

Desenvolvimento de linfócitos B

Desenvolvimento dos linfócitos T

Resumo

## Capítulo 9: Ativação dos Linfócitos T

Visão geral da ativação dos linfócitos T

Sinais para ativação dos linfócitos T

Respostas funcionais dos linfócitos T

Declínio das respostas da célula T

Resumo

## Capítulo 10: Diferenciação e Funções das Células T CD4+ Efetoras

Visão geral da imunidade mediada por células

Subgrupos de células T CD4+ efetoras

O subgrupo TH1

O subgrupo TH2

O subgrupo TH17

Funções dos outros subtipos de células T

Resumo

## Capítulo 11: Diferenciação e Funções das Células T CD8+ Efetoras

Diferenciação das células T CD8+ em linfócitos T citotóxicos

Funções efetoras dos linfócitos T CD8+ citotóxicos

Funções dos CTLs CD8+ na defesa do hospedeiro

Resumo

## Capítulo 12: Ativação da Célula B e Produção de Anticorpos

Visão geral da resposta imune humoral

Reconhecimento do antígeno e ativação da célula B induzida pelo antígeno

Respostas de anticorpos dependentes de células T-auxiliares a antígenos proteicos

Respostas de anticorpos a antígenos T-Independentes

Retroalimentação de anticorpos: regulação da resposta imune humoral por receptores Fc

Resumo

## Capítulo 13: Mecanismos Efetores da Imunidade Humoral

Visão geral da imunidade humoral

Neutralização de microrganismos e toxinas microbianas

Opsonização e fagocitose mediadas por anticorpos

Sistema complemento

Imunidade neonatal

Resumo



## Capítulo 14: Imunidade Especializada em Barreiras Epiteliais e em Tecidos Imunologicamente Privilegiados

Características gerais da imunidade nas barreiras epiteliais

Imunidade no sistema gastrointestinal

Imunidade em Outros tecidos das mucosas

Sistema imune cutâneo

Tecidos imunologicamente privilegiados

Resumo

## Capítulo 15: Tolerância Imunológica e Autoimunidade

Visão geral da tolerância imunológica

Tolerância dos linfócitos T

Tolerância dos linfócitos B

Tolerância induzida por antígenos proteicos externos

Mecanismos de autoimunidade

Resumo

## Capítulo 16: Imunidade aos Microrganismos

Visão geral das respostas imunes contra microrganismos

Imunidade a bactérias extracelulares

Imunidade contra bactérias intracelulares

Imunidade contra fungos

Imunidade contra vírus

Imunidade contra parasitas

Estratégias para o desenvolvimento de vacinas

Resumo

## Capítulo 17: Imunologia do Transplante

Princípios gerais da imunologia do transplante

Resposta imunológica adaptativa aos aloenxertos

Padrões e mecanismos de rejeição de enxertos

Prevenção e tratamento de rejeição de aloenxertos

Transplante xenogênico

Transfusão de sangue e os grupos de antígenos sanguíneos abo e Rh

Transplante hematopoético de células-tronco

Resumo

## Capítulo 18: Imunidade aos Tumores

Visão geral da imunidade tumoral

Antígenos tumorais

Respostas imunes aos tumores

Evasão tumoral das respostas imunes

Imunoterapia para tumores

O papel da imunidade inata e adaptativa na promoção do crescimento tumoral

Resumo

## Capítulo 19: Reações de Hipersensibilidade

Causas da hipersensibilidade

Mecanismos e classificação das reações de hipersensibilidade

Doenças causadas por anticorpos

Doenças causadas por linfócitos T

Abordagens terapêuticas para as doenças imunológicas

Doenças imunológicas selecionadas: patogenia e estratégias terapêuticas

Resumo

## Capítulo 20: Alergia

Panorama das reações alérgicas dependentes de IgE

Produção de IgE

Papel de células TH2, mastócitos, basófilos e eosinófilos nas reações alérgicas

Reações dependentes de IgE e mastócitos

A susceptibilidade genética para doenças alérgicas

Doenças alérgicas em humanos: patogênese e terapia

O papel protetor das reações imunes mediadas por IgE e mastócitos

Resumo

## Capítulo 21: Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas

Visão geral das doenças por imunodeficiências

Imunodeficiências congênitas (primárias)

Imunodeficiências adquiridas (secundárias)

Vírus da imunodeficiência humana e a síndrome da imunodeficiência adquirida

Resumo



Apêndice I: Glossário

Apêndice II: Citocinas

Apêndice III: Principais características das moléculas de cd selecionadas

Apêndice IV: Técnicas laboratoriais comumente utilizadas em imunologia

Índice

---

# Copyright

---

© 2015 Elsevier Editora Ltda.

Tradução autorizada do idioma inglês da edição publicada por Saunders – um selo editorial Elsevier Inc.

Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.

Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.

ISBN: 978-85-352-8164-4

ISBN (versão eletrônica): 978-85-352-8320-4

Copyright © 2015, 2012, 2007, 2005, 2003, 2000, 1997, 1994, 1991 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

This edition of *Cellular and molecular immunology*, 8<sup>th</sup> edition by Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai is published by arrangement Elsevier Inc.

ISBN: 978-03-232-2275-4

## Capa

Studio Creamcrackers

## Editoração Eletrônica

Thomson Digital

## Elsevier Editora Ltda.

### Conhecimento sem Fronteiras

Rua Sete de Setembro, nº 111 – 16º andar

20050-006 – Centro – Rio de Janeiro – RJ

Rua Quintana, nº 753 – 8º andar

04569-011 – Brooklin – São Paulo – SP

Serviço de Atendimento ao Cliente

0800 026 53 40

[atendimento1@elsevier.com](mailto:atendimento1@elsevier.com)

Consulte nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site [www.elsevier.com.br](http://www.elsevier.com.br)

## **Nota**

Como as novas pesquisas e a experiência ampliam o nosso conhecimento, pode haver necessidade de alteração dos métodos de pesquisa, das práticas profissionais ou do tratamento médico. Tanto médicos quanto pesquisadores devem sempre basear-se em sua própria experiência e conhecimento para avaliar e empregar quaisquer informações, métodos, substâncias ou experimentos descritos neste texto. Ao utilizar qualquer informação ou método, devem ser criteriosos com relação a sua própria segurança ou a segurança de outras pessoas, incluindo aquelas sobre as quais tenham responsabilidade profissional.

Com relação a qualquer fármaco ou produto farmacêutico especificado, aconselha-se o leitor a cercar-se da mais atual informação fornecida (i) a respeito dos procedimentos descritos, ou (ii) pelo fabricante de cada produto a ser administrado, de modo a certificar-se sobre a dose recomendada ou a fórmula, o método e a duração da administração, e as contraindicações. É responsabilidade do médico, com base em sua experiência pessoal e no conhecimento de seus pacientes, determinar as posologias e o melhor tratamento para cada paciente individualmente, e adotar todas as precauções de segurança apropriadas.

Para todos os efeitos legais, nem a Editora, nem autores, nem editores, nem tradutores, nem revisores ou colaboradores, assumem qualquer responsabilidade por qualquer efeito danoso e/ou malefício a pessoas ou propriedades envolvendo responsabilidade, negligência etc. de produtos, ou advindos de qualquer uso ou emprego de quaisquer métodos, produtos, instruções ou ideias contidos no material aqui publicado.

## **O Editor**

### **CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO**

#### **SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ**

A112i

8. ed.

Abbas Abul K.

Imunologia celular e molecular / Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai; ilustrações de David L. Baker, Alexandra Baker ; [tradução de Tatiana Ferreira Robaina ...et al]. - 8. ed. - Rio de Janeiro : Elsevier, 2015.

il. ; 28 cm.

Tradução de: Immunology cellular and molecular

Apêndice



Inclui bibliografia e índice

ISBN 978-85-352-8164-4

1. Imunologia celular. 2. Imunologia molecular. 3. Linfócitos - Imunologia. I.

Lichtman, Andrew H. II. Pillai, Shiv. III. Título.

15-20707 CDD: 616.079

CDU: 612.017

---

# Dedicatória

---

Aos nossos estudantes, nossos colegas e nossas famílias.

---

# Revisão científica e tradução

---

## Supervisão da revisão científica

### Patricia Dias Fernandes

Professora Associada de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da UFRJ

Pós-doutora em Imunologia pelo Departamento de Imunologia da Universidade de São Paulo (USP)

Mestre e Doutora em Química Biológica pelo Departamento de Bioquímica Médica da UFRJ

Biomédica pela UNIRIO

## Revisão científica

### Josiane Sabbadini Neves (Caps. 11, 14 e 15)

Professora Adjunta de Farmacologia do Programa de Farmacologia e Inflamação do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da UFRJ

Pós-doutora em Imunologia pela Harvard Medical School – Boston - MA – USA

Doutora em Ciências Biológicas pelo Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da UFRJ

Farmacêutica graduada pela UFRJ

Patricia Dias Fernandes (Caps. 1 a 10, 12, 13, 16 a 21, Apêndices 1 a 4 e índice)

## Tradução

### Aldacilene Silva (Caps. 12, 13 e 19)

Médica Veterinária formada pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da USP

Imunologista/Bioquímica

Mestre em Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP

Doutora em Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP

### Angela Nishikaku (Caps. 11 e 14)

Pós-doutora na área de Doenças Infecciosas e Parasitárias pelo Departamento de Medicina da UNIFESP

Doutora em Ciências, área de Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP

Mestre em Ciências, área de Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP

Graduação em Ciências Biológicas - Modalidade Médica pela UNESP

**Carolina Dagli Hernandez (Cap. 8)**

Graduanda em Farmácia-Bioquímica na Universidade de São Paulo (USP)

**Fernanda Gurgel Zogaib (Cap. 15)**

Mestre em Ciências - Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental pela UERJ

Especialista em Anatomia Humana pela Universidade Estácio de Sá (Unesa), RJ

Graduada em Licenciatura Plena em Educação Física e Desportos pela UERJ

**Natália de Moraes Cordeiro (Caps. 7, 9, 10, 16, 17 e 20)**

Graduada em Biomedicina pelo IBMR Laureate Universities.

Mestre e doutoranda em Farmacologia e Química Medicinal pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

**Patricia Dias Fernandes (Caps. 1 a 4, Apêndices 1 a 4, índice)**

**Tatiana Dagli Hernandez (Cap. 6)**

Graduada em Farmácia-Bioquímica pela USP

Tradutora especializada na área médica e farmacêutica

**Tatiana Ferreira Robaina (Caps. 18 e 21)**

Doutora em Ciências pela UFRJ

Mestre em Patologia pela Universidade Federal Fluminense (UFF)

Especialista em Estomatologia pela UFRJ

Cirurgiã-dentista pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

---

# Apresentação

---

*Abul K. Abbas*

*Andrew H. Lichtman*

*Shiv Pillai*

Esta 8ª edição de *Imunologia Celular e Molecular* foi reescrita e revisada de forma significativa como parte de nossos contínuos esforços para fazer com que o livro fique atualizado com os avanços científicos e, ao mesmo tempo, preserva o estilo de fácil compreensão das edições anteriores. Adicionamos novas informações enquanto nos esforçamos para enfatizar conceitos importantes sem aumentar o tamanho do livro. Também reescrevemos muitas seções para maior clareza, precisão e abrangência.

Entre as principais mudanças está a reorganização dos capítulos que tratam de respostas de linfócitos T, a fim de descrever de maneira mais clara o início dos eventos de ativação das células T, diferenciação e funções dos subgrupos das células T auxiliares CD4<sup>+</sup> e funções das células T citotóxicas CD8<sup>+</sup>. Além disso, o livro foi atualizado para incluir importantes e recentes avanços da imunologia. Alguns dos tópicos que foram significativamente revisados incluem as células linfoides inatas, as vias de desenvolvimento de macrófagos e células dendríticas e os pontos de checagem imunes na imunidade tumoral. Consideramos fascinante que novos princípios continuem a surgir a partir de análises dos complexos sistemas que fazem parte do sistema imune. Talvez um dos progressos mais satisfatórios para os estudantes de doenças humanas seja o fato de os princípios básicos da imunologia representarem, agora, a base para o desenvolvimento racional de novas terapias imunológicas. Ao longo do texto, tentamos enfatizar essas novas terapias e os conceitos fundamentais nos quais o livro se fundamenta.

Também buscamos continuar aperfeiçoando as ilustrações. Novas figuras foram adicionadas, e outras previamente utilizadas foram revistas e, com frequência, modificadas para melhorar a precisão e qualidade. Mantivemos as características iniciais, tais como o uso de negrito e itálico para realçar informações, a fim de tornar a leitura mais fácil. As listas de leituras selecionadas continuam a enfatizar os recentes artigos de revisão que fornecem uma cobertura ampla de tópicos particulares e de interesse do leitor. Dividimos as listas em seções baseando-se em temas para auxiliar os leitores a encontrar os artigos mais úteis às suas necessidades.

As pessoas que nos ajudaram com tópicos específicos foram (em ordem alfabética): Drs. Jonathan Abbas, Mark Anderson, Homer Boushey, Andrew Gross,

Stephen Hauser, Miriam Merad, Michael Rosenblum, Wayne Shreffler e Catherine Wu; todos generosos com conselhos e comentários. Agradecemos aos nossos ilustradores, David e Alexandra Baker, responsáveis pelas ilustrações de DNA, permanecem como parceiros e fornecem sugestões valiosas para clareza e precisão. Vários membros da equipe da Elsevier tiveram papel importante. Nosso editor, James Merritt, foi uma fonte de apoio e encorajamento. Nossa editora-chefe, Rebecca Grulow, acompanhou o livro ao longo de sua preparação e produção. Lou Forgione foi responsável pela editoração do projeto, e Clay Broeker estava no comando da fase de produção. Também agradecemos às nossas famílias pelo apoio incondicional e pela tolerância com a nossa ausência. Finalmente, aos nossos estudantes, que foram a fonte de inspiração para a 1ª edição deste livro, aos quais continuamos gratos porque, com eles, aprendemos a pensar sobre a ciência da imunologia e como transmitir o conhecimento da maneira mais clara e significativa possível.

# CAPÍTULO 1

## Propriedades e Visão Geral das Respostas Imunes

IMUNIDADE INATA E ADAPTATIVA

TIPOS DE RESPOSTAS IMUNES ADAPTATIVAS

CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS DAS RESPOSTAS IMUNES ADAPTATIVAS

COMPONENTES CELULARES DO SISTEMA IMUNE ADAPTATIVO

VISÃO GERAL DAS RESPOSTAS IMUNES AOS MICRORGANISMOS

A Resposta Imune Inata Inicial aos Microrganismos

A Resposta Imune Adaptativa

RESUMO

O termo *imunidade* é derivado da palavra latina *imunitas*, que se refere à proteção contra processos legais oferecida aos senadores romanos durante seus mandatos. Historicamente, a imunidade significa proteção contra doenças e, mais especificamente, doenças infecciosas. As células e moléculas responsáveis pela imunidade constituem o **sistema imune**, e sua resposta coletiva e coordenada à entrada de substâncias estranhas é denominada **resposta imune**.

***A função fisiológica do sistema imune é a defesa contra microrganismos infecciosos. Entretanto, mesmo substâncias estranhas não infecciosas podem elicitar respostas imunes.*** Além disso, mecanismos que normalmente protegem os indivíduos contra uma infecção e eliminam substâncias estranhas também são capazes de causar lesão tecidual e doenças em algumas situações. Portanto, uma definição mais inclusiva da resposta imune é uma reação aos componentes de microrganismos, bem como a macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos, e pequenos agentes químicos que são reconhecidos como estranhos, independentemente da consequência fisiológica ou patológica de tal reação. Sob certas situações, mesmo moléculas próprias podem elicitar respostas imunes (as chamadas doenças autoimunes). A imunologia é o estudo das respostas imunes em seu sentido mais amplo e de eventos celulares e moleculares que ocorrem após um organismo encontrar microrganismos e outras macromoléculas estranhas.

Os historiadores frequentemente creditam a Thucydides, no século 5 a.C., em

Atenas, como tendo sido a primeira pessoa a mencionar a imunidade contra uma infecção que ele denominou praga (mas que provavelmente não era a peste bubônica reconhecida atualmente). O conceito de imunidade protetora pode ter existido muito antes, como sugerido pelo antigo costume chinês de tornar as crianças resistentes à varíola após fazê-las inalar pó preparado a partir de lesões cutâneas de pacientes que se recuperaram da doença. A imunologia, em sua forma moderna, é uma ciência experimental na qual explicações do fenômeno imunológico são baseadas em observações experimentais e as conclusões são obtidas a partir delas. A evolução da imunologia como uma disciplina experimental depende da nossa habilidade em manipular a função do sistema imune sob condições controladas. Historicamente, o primeiro exemplo claro desta manipulação, e o que permanece dentre o mais dramático já registrado, foi a vacinação bem-sucedida de Edward Jenner contra a varíola. Jenner, um médico inglês, constatou que vacas leiteiras que tinham se recuperado da varíola bovina nunca mais contraíam a forma mais grave da doença. Com base nesta observação, ele injetou o material de uma pústula de varíola bovina no braço de um menino de 8 anos de idade. Quando este menino foi posteriormente inoculado com a varíola, a doença não se desenvolveu. O tratado de Jenner, um marco na **vacinação** (do latim *vaccinus*, ou a partir de vacas) foi publicado em 1798. Isso levou à aceitação geral deste método para a indução da imunidade contra doenças infecciosas, e a vacinação permanece o método mais efetivo para a prevenção de infecções ([Tabela 1-1](#)). Um testemunho eloquente da importância da imunologia foi o anúncio pela Organização Mundial da Saúde, em 1980, de que a varíola era a primeira doença a ser erradicada em todo o mundo por meio de um programa de vacinação.



**Tabela 1-1**

**Efetividade das Vacinas para Algumas Doenças Infecciosas Comuns**

Doença	Número Máximo de Casos (Ano)	Número de Casos em 2009	Porcentagem de Queda
Difteria	206.939 (1921)	0	-99,99
Sarampo	894.134 (1941)	61	-99,99
Caxumba	152.209 (1968)	982	-99,35
<i>Pertussis</i>	265.269 (1934)	13.506	-94,72
Pólio (paralítico)	21.269 (1952)	0	-100,0
Rubéola	57.688 (1969)	4	-99,99
Tétano	1.560 (1923)	14	-99,10
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo B	~20.000 (1984)	25	-99,98
Hepatite B	26.611 (1985)	3.020	-87,66

Esta tabela ilustra a impressionante redução na incidência de doenças infecciosas selecionadas nos Estados Unidos para cada vacina efetiva que foi desenvolvida.

Dados de Orenstein WA, Hinman AR, Bart KJ, Hadler SC: Immunization. Em Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.): *Principles and practices of infectious diseases*, 4th ed. New York, 1995, Churchill Livingstone; e *Morbidity and Mortality Weekly Report* 58:1458–1469, 2010.

Desde a década de 1960, existe uma notável transformação em nossa compreensão sobre o sistema imune e suas funções. Avanços nas técnicas de cultura celular (incluindo a produção de anticorpo monoclonal), imuno-histoquímica, metodologia de DNA recombinante, cristalografia de raios X e criação de animais geneticamente alterados (especialmente camundongos transgênicos e *knockout*) mudaram a imunologia de uma ciência largamente descritiva em uma na qual fenômenos imunes diversos podem ser explicados em termos estruturais e bioquímicos. Neste capítulo, delinearemos as características gerais das respostas imunes e introduziremos os conceitos que formam os pilares da imunologia moderna e que se repetem ao longo deste livro.

## Imunidade inata e adaptativa

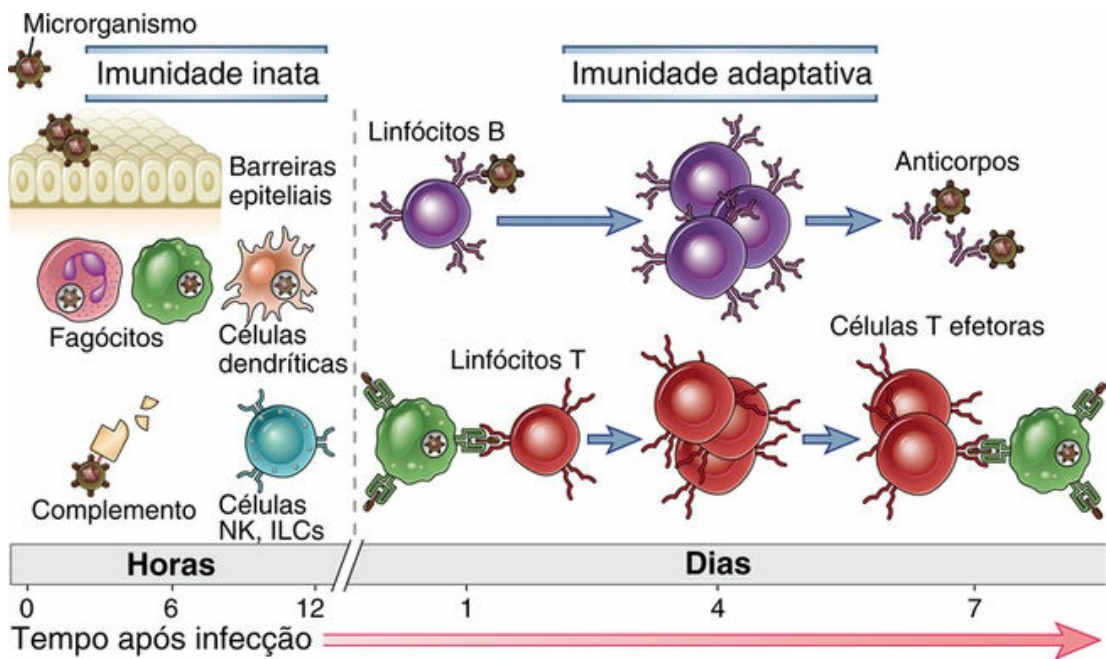
**A defesa contra microrganismos é mediada pelas reações iniciais da imunidade inata e pelas respostas tardias da imunidade adaptativa (Fig. 1-1 e Tabela 1-2).** A **imunidade inata** (também denominada **imunidade natural ou nativa**) fornece a primeira linha de defesa contra micror-ganismos. Ela consiste em mecanismos de defesa celulares e bioquímicos que estão em vigor mesmo antes da infecção e são preparados para responder rapidamente a infecções. Esses mecanismos reagem aos produtos dos microrganismos e células lesionadas, e elas

respondem essencialmente da mesma forma para exposições repetidas. Os mecanismos da imunidade inata são específicos para estruturas que são comuns a grupos de microrganismos relacionados e podem não distinguir pequenas diferenças entre os microrganismos. Os principais componentes da imunidade inata são: (1) barreiras físicas e químicas, tais como epitélio e agentes antimicrobianos produzidos nas superfícies epiteliais; (2) células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células dendríticas e células assassinas naturais (NK, do inglês *natural killer*) e outras células linfoides; e (3) proteínas sanguíneas, incluindo membros do sistema complemento e outros mediadores da inflamação.

## Tabela 1-2

### Características da Imunidade Inata e Adaptativa

	Inata	Adaptativa
Características		
Especificidade	Para moléculas compartilhadas por grupos de microrganismos relacionados e moléculas produzidas por células danificadas do hospedeiro	Para microrganismos e antígenos não microbianos
Diversidade	Limitada; células germinativas codificadas	Muito grande; receptores são produzidos por recombinação somática de segmentos de genes
Memória	Não	Sim
Não reatividade ao próprio	Sim	Sim
Componentes		
Células e barreiras químicas	Pele, epitélio mucoso, moléculas antimicrobianas	Linfócitos nos epitélios, anticorpos secretados nas superfícies epiteliais
Proteínas sanguíneas	Complemento, outros	Anticorpos
Células	Fagócitos (macrófagos, neutrófilos), células NK, células linfoides inatas	Linfócitos



**FIGURA 1-1** Imunidade inata e adaptativa.

Os mecanismos da imunidade inata fornecem a defesa inicial contra infecções. As respostas imunes adaptativas se desenvolvem mais tarde e necessitam de ativação de linfócitos. A cinética das respostas imunes inata e adaptativa são aproximações e podem variar em diferentes infecções. *ILC*, célula linfóide inata; *NK*, *natural killer*.

Contrapondo-se à imunidade inata, existem outras respostas imunes que são estimuladas pela exposição a agentes infecciosos e aumentam em magnitude e capacidade defensiva em cada exposição subsequente a um microrganismo particular. Pelo fato de esta forma de imunidade se desenvolver como uma resposta à infecção e se adaptar à infecção, ela é chamada de **imunidade adaptativa** (também denominada **imunidade adquirida** ou **específica**). O sistema imune adaptativo reconhece e reage a um grande número de substâncias microbianas e não microbianas. As características que definem a imunidade adaptativa são a habilidade de distinguir entre diferentes substâncias, chamada **especificidade**, e a habilidade de responder mais vigorosamente a exposições repetidas ao mesmo microrganismo, conhecida como **memória**. Os componentes exclusivos da imunidade adaptativa são células denominadas **linfócitos** e seus produtos secretados, tais como **anticorpos**. Substâncias estranhas que induzem as respostas imunes específicas ou são reconhecidas pelos linfócitos ou anticorpos chamam-se **antígenos**.

As **citocinas** constituem um grande grupo de proteínas secretadas com diversas estruturas e funções, que regulam e coordenam muitas atividades das células da imunidade inata e adaptativa. Todas as células do sistema imune secretam, pelo menos, algumas citocinas e expressam receptores específicos de sinalização para várias citocinas. A nomenclatura para as citocinas é inconsistente, com algumas

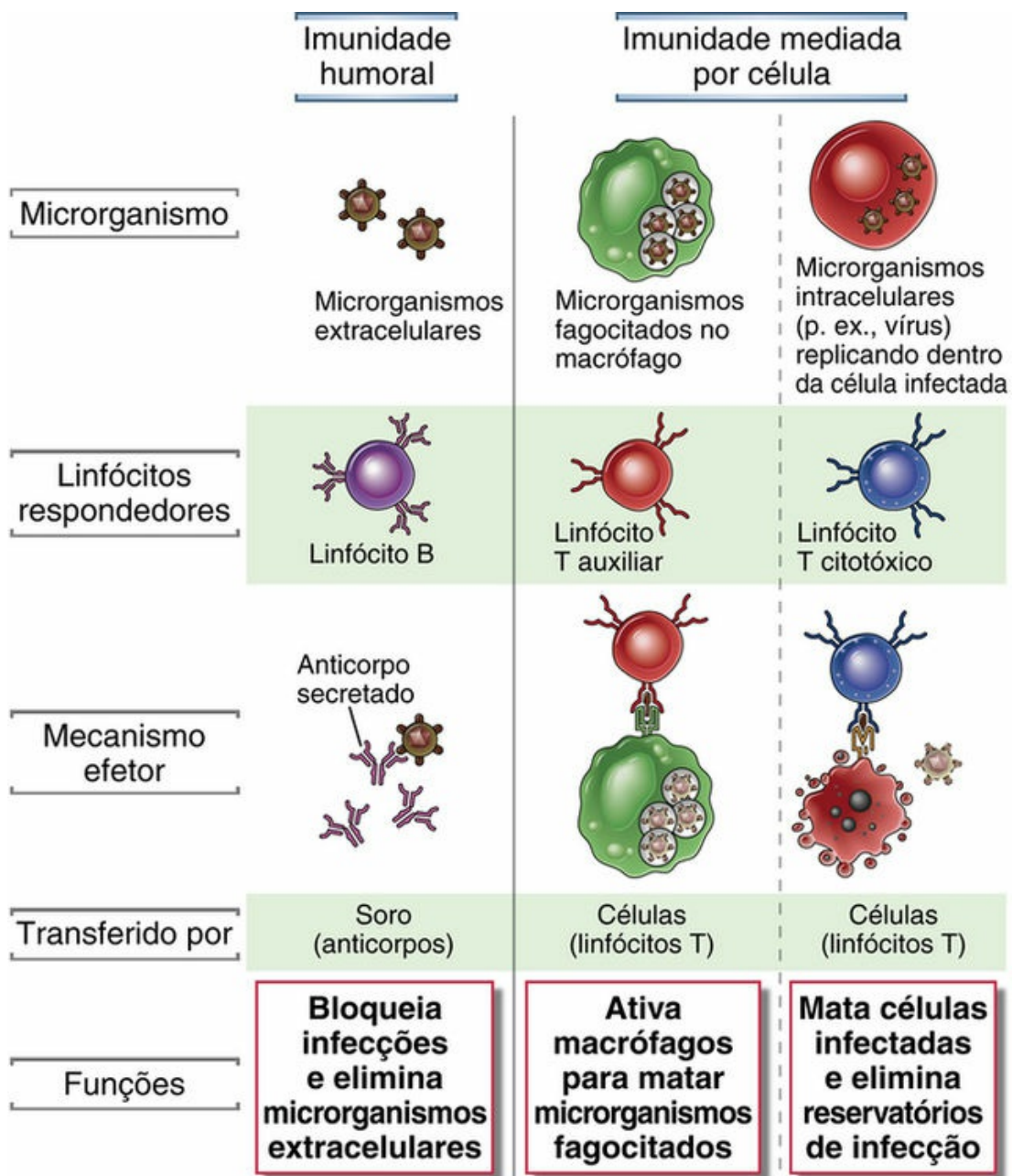
designadas *interleucina*, seguida por um número, e outras denominadas pela primeira atividade biológica atribuída a elas, tais como fator de necrose tumoral (TNF, do inglês *tumor necrosis factor*) ou interferon. Entre as muitas funções das citocinas que serão discutidas ao longo deste livro, estão o crescimento e diferenciação de todas as células imunes, a ativação de funções efetoras dos linfócitos e fagócitos e o movimento direcionado de células imunes do sangue para os tecidos e dentro dos tecidos. O grande subgrupo de citocinas estruturalmente relacionadas que regulam a migração e o movimento celular é denominado **quimiocinas**. Alguns dos fármacos mais efetivos desenvolvidos recentemente para tratar doenças imunológicas têm como alvo as citocinas, o que reflete a importância destas proteínas nas respostas imunes.

Mecanismos de defesa do hospedeiro contra microrganismos estão presentes em todos os organismos multicelulares. Os mecanismos filogeneticamente mais antigos de defesa do hospedeiro são aqueles da imunidade inata, que estão presentes mesmo em plantas e insetos. Há cerca de 500 milhões de anos, peixes sem mandíbulas, tais como lampreias e mixinídeos, desenvolveram um sistema imune que continha células do tipo de linfócito que podiam funcionar semelhantes aos linfócitos em espécies mais avançadas e mesmo responder à imunização. Os receptores de antígenos nestas células são receptores ricos em leucina variável capazes de reconhecer muitos antígenos, porém distintos dos receptores de anticorpos e células T que surgiram mais tarde na evolução. Os mecanismos de defesa mais especializados e que constituem a imunidade adaptativa são encontrados somente em vertebrados. A maioria dos componentes do sistema imune adaptativo, incluindo linfócitos com receptores de antígenos altamente diversos, anticorpos e tecidos linfoides especializados, evoluiu coordenadamente dentro de um curto tempo em vertebrados com mandíbula (p. ex., tubarão) há aproximadamente 360 milhões de anos.

As respostas imunes inata e adaptativa são componentes de um sistema integrado de defesa do hospedeiro no qual numerosas células e moléculas funcionam cooperativamente. Os mecanismos da imunidade inata fornecem defesa inicial efetiva contra infecções. Entretanto, muitos microrganismos patogênicos evoluíram para resistir à imunidade inata e sua eliminação necessita dos mecanismos mais potentes da imunidade adaptativa. Existem numerosas conexões entre os sistemas imunes inato e adaptativo. A resposta imune inata aos microrganismos estimula as respostas imunes adaptativas e influencia a natureza das respostas adaptativas. Por outro lado, as respostas imunes adaptativas frequentemente trabalham aumentando os mecanismos protetores da imunidade inata, tornando-os mais capazes de combater efetivamente os microrganismos patogênicos.

## Tipos de respostas imunes adaptativas

**Existem dois tipos de respostas imunes adaptativas, denominadas imunidade humoral e imunidade mediada por célula, que são mediadas por diferentes componentes do sistema imune e atuam para eliminar diferentes tipos de microrganismos (Fig. 1-2).** A **imunidade humoral** é mediada por moléculas no sangue e secreções mucosas, denominadas **anticorpos**, que são produzidos pelos **linfócitos B** (também chamados de **células B**). Os anticorpos reconhecem os antígenos microbianos, neutralizam a infectividade dos microrganismos e focam nos microrganismos para sua eliminação por vários mecanismos efetores. A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares e suas toxinas, porque os anticorpos secretados podem se ligar a esses microrganismos e toxinas e auxiliar na sua eliminação. Os próprios anticorpos são especializados e podem ativar diferentes mecanismos para combater os microrganismos (**mecanismos efetores**). Por exemplo, diferentes tipos de anticorpos promovem a ingestão de microrganismos pelas células do hospedeiro (fagocitose), ligação e ativação da liberação de mediadores inflamatórios das células e são ativamente transportados para os lumens de órgãos mucosos e através da placenta para fornecer defesa contra microrganismos ingeridos e inalados e contra infecções do recém-nascido, respectivamente.



**FIGURA 1-2** Tipos de imunidade adaptativa.

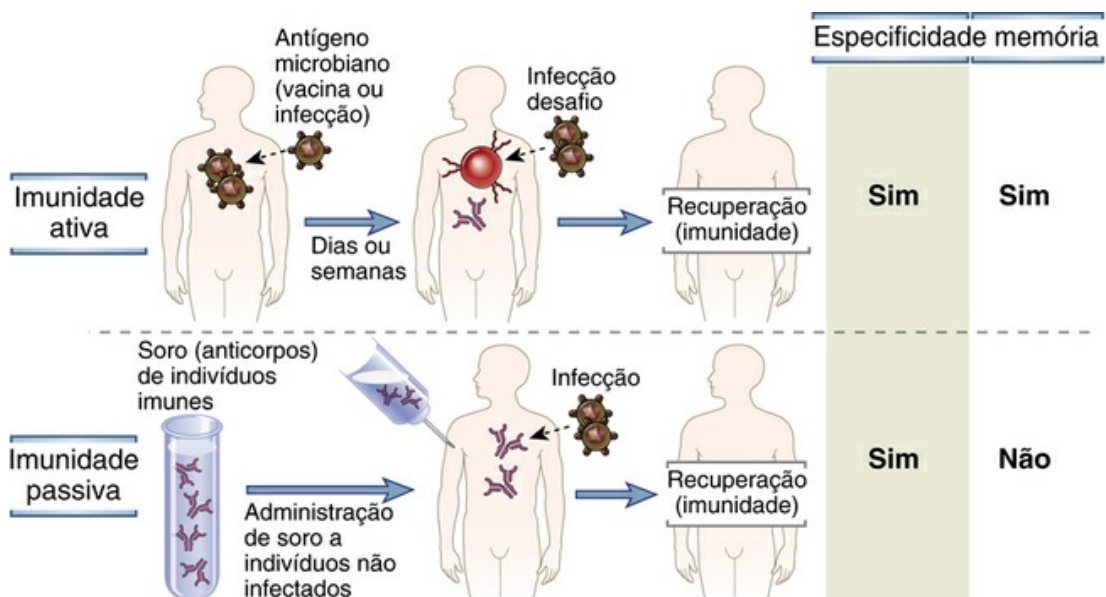
Na imunidade humoral, os linfócitos B secretam anticorpos que previnem as infecções e eliminam os microrganismos extracelulares. Na imunidade mediada por célula, os linfócitos T auxiliares ativam macrófagos para matar microrganismos fagocitados ou linfócitos T citotóxicos destroem diretamente células infectadas.

A **imunidade mediada por célula**, também denominada **imunidade celular**, é mediada pelos **linfócitos T** (também chamados de **células T**). Os microrganismos intracelulares, tais como vírus e algumas bactérias, sobrevivem e proliferam dentro dos fagócitos e outras células do hospedeiro. A defesa contra essas infecções é uma



função da imunidade mediada por células, que promove a destruição de microrganismos que residem nos fagócitos ou a morte das células infectadas para eliminar reservatórios de infecção. Alguns linfócitos T também contribuem para a erradicação de microrganismos extracelulares por meio do recrutamento de leucócitos que destroem esses patógenos e auxiliando as células B na produção efetiva de anticorpos.

A imunidade protetora contra um microrganismo normalmente é induzida pela resposta do hospedeiro ao microrganismo (Fig. 1-3). A forma de imunidade que é induzida pela exposição a um antígeno estranho é chamada de **imunidade ativa**, porque o indivíduo imunizado tem papel ativo na resposta ao antígeno. Indivíduos e linfócitos que não encontraram um antígeno particular são ditos como sendo *inativos* (imaturados ou *naïve*), implicando que eles são imunologicamente inexperientes. Indivíduos que responderam a um antígeno microbiano e são protegidos de exposições subsequentes àquele microrganismo são ditos como imunes.



**FIGURA 1-3** Imunidade ativa e passiva.

A imunidade ativa é conferida pela resposta do hospedeiro a um microrganismo ou antígeno microbiano, ao passo que a imunidade passiva é conferida pela transferência adaptativa de anticorpos ou linfócitos T específicos para o microrganismo. Ambas as formas de imunidade fornecem resistência à infecção e são específicas para antígenos microbianos, mas somente as respostas imunes ativas geram memória imunológica. A transferência terapêutica passiva de anticorpos, mas não linfócitos, é feita rotineiramente e também ocorre durante a gravidez (da mãe para o feto).

A imunidade também pode ser conferida a um indivíduo pela transferência de soro ou linfócitos de um indivíduo especificamente imunizado em situações experimentais, um processo conhecido como transferência adaptativa (Fig. 1-3). O receptor de tal transferência se torna imune a um antígeno particular sem nunca ter sido exposto ou ter respondido àquele antígeno. Portanto, esta forma de imunização é chamada de **imunidade passiva**. A imunidade passiva é um método útil para conferir rapidamente resistência, sem ter que esperar pelo desenvolvimento de uma resposta imune. Um exemplo fisiologicamente importante de imunidade passiva é a transferência de anticorpos maternos através da placenta para o feto, o que permite aos recém-nascidos o combate a infecções antes de eles próprios desenvolverem a habilidade de produzir anticorpos. A imunização passiva contra toxinas pela administração de anticorpos de animais imunizados é um tratamento salvador para infecções letais, tais como raiva e picadas de cobras. A técnica de transferência adaptativa tornou possível definir as várias células e moléculas que são responsáveis por mediar a imunidade específica. De fato, a imunidade humoral foi originalmente definida como o tipo de imunidade que pode ser transferida para indivíduos não imunizados, ou imaturos, com porções livres de células contendo o anticorpo do plasma (i.e., plasma ou soro) obtido de indivíduos previamente imunizados. Similarmente, a imunidade mediada por célula foi definida como o tipo de imunidade que pode ser transferida a animais imaturos, mas não com plasma ou soro.

A primeira demonstração experimental da imunidade humoral foi feita por Emil von Behring e Shibasaburo Kitasato, em 1890. Eles mostraram que se o soro de animais que haviam sido imunizados com uma forma atenuada de toxina diftérica fosse transferido a animais imaturos, os receptores se tornavam resistentes especificamente à infecção diftérica. Os componentes ativos do soro foram chamados de antitoxinas, porque eles neutralizaram os efeitos patológicos da toxina diftérica. Este resultado levou ao tratamento da outra forma letal da infecção diftérica, pela administração da antitoxina, um objetivo que foi reconhecido com o prêmio do primeiro Nobel em Fisiologia ou Medicina para von Behring. Na década de 1890, Paul Ehrlich postulou que as células imunes usam receptores, que ele chamou de cadeias laterais, para reconhecer toxinas microbianas e, subsequentemente, secretá-las para combater microrganismos. Ele também cunhou o termo *anticorpos* (do alemão *antikörper*) para as proteínas séricas que se ligam às toxinas, e as substâncias que produziram os anticorpos foram denominadas *antígenos*. A definição moderna de antígenos inclui substâncias que se ligam a receptores específicos em linfócitos, quer estimulem ou não respostas imunes. De acordo com definições estritas, substâncias que estimulam as respostas imunes são denominadas **imunógenos**, mas o termo antígeno frequentemente é usado de forma intercambiável com imunógeno. As propriedades dos anticorpos e antígenos são descritas no [Capítulo 5](#). Os conceitos de Ehrlich consistem em um modelo extraordinariamente preditivo da função das células B na imunidade humoral. Esta



ênfase inicial nos anticorpos levou à aceitação geral de que a teoria humoral da imunidade, com base na defesa do hospedeiro contra infecções, é mediada por substâncias presentes nos fluidos corporais (uma vez chamados de humores).

Elie Metchnikoff inicialmente defendeu a teoria celular da imunidade, que afirmava que as células do hospedeiro são os principais mediadores da imunidade. Sua demonstração de fagócitos em torno de um espinho colocado em uma larva de estrela do mar, publicada em 1883, talvez tenha sido a primeira evidência experimental de que as células respondem a invasores estranhos. Ehrlich e Metchnikoff dividiram o prêmio Nobel em 1908, em reconhecimento às suas contribuições para o estabelecimento destes princípios fundamentais da imunidade. A observação de Sir Almroth Wright, no início da década de 1900, de que fatores no soro imune aumentaram a fagocitose de bactéria recobrando a bactéria, um processo conhecido como **opsonização**, deu suporte à crença de que os anticorpos preparam os microrganismos para os fagócitos. Este pesquisador não foi capaz de provar que a imunidade específica aos microrganismos poderia ser mediada por essas células. A teoria celular da imunidade se firmou na década de 1950, quando foi mostrado que a resistência a uma bactéria intracelular, *Listeria monocytogenes*, poderia ser transferida a animais com células, mas não com soro. Atualmente, sabe-se que a especificidade da imunidade mediada por célula é atribuída aos linfócitos, que frequentemente funcionam em conjunto com outras células, tais como os fagócitos, para eliminar os microrganismos.

No âmbito clínico, a imunidade a um microrganismo previamente localizado é medida indiretamente ou com realização de ensaios para a presença de produtos das respostas imunes (tais como anticorpos séricos específicos para antígenos microbianos) ou pela administração de substâncias purificadas de microrganismos e medida das reações a essas substâncias. A reação a um antígeno é detectável somente em indivíduos que previamente entraram em contato com o antígeno; esses indivíduos são ditos serem *sensibilizados* ao antígeno, e a reação é uma indicação de *sensibilidade*. Tal reação a um antígeno microbiano implica que o indivíduo sensibilizado seja capaz de montar uma resposta protetora ao microrganismo.

## Características principais das respostas imunes adaptativas

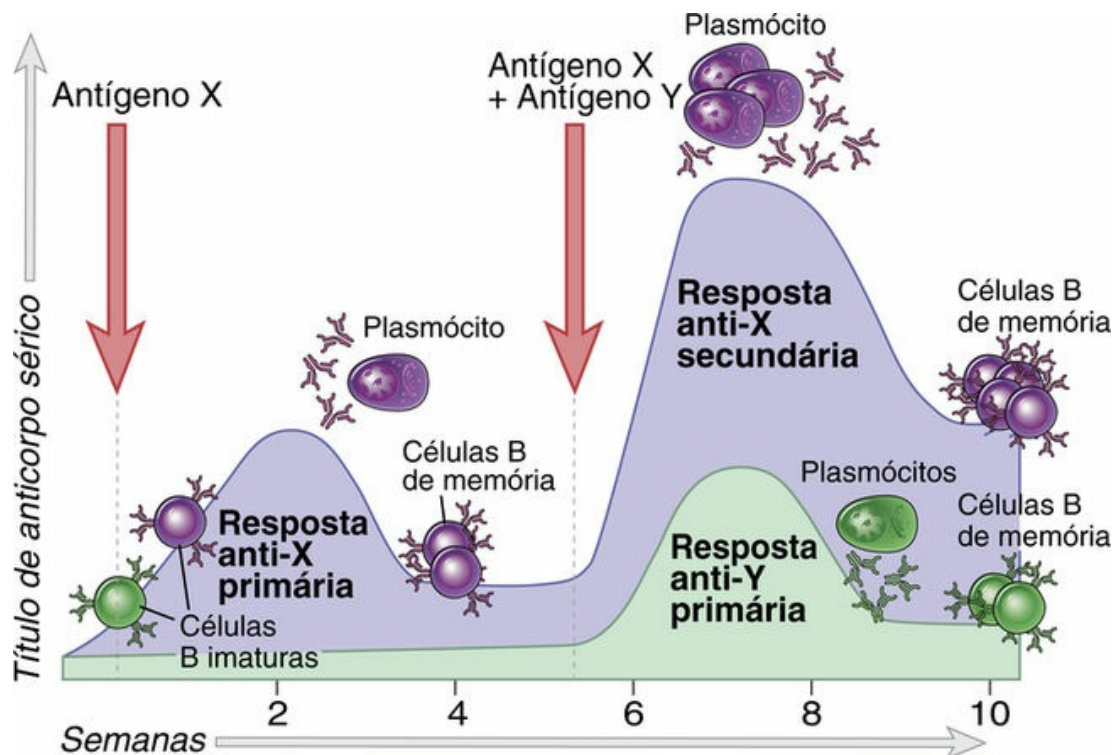
Todas as respostas imunes humoral e mediada por célula a antígenos estranhos têm uma quantidade de propriedades fundamentais que refletem as propriedades dos linfócitos que medeiam essas respostas (Tabela 1-3).

## Tabela 1-3

### Principais Características das Respostas Imunes Adaptativas

Características	Significância Funcional
Especificidade	Garante que a resposta imune a um microrganismo (ou antígeno não microbiano) é direcionada àquele microrganismo (ou antígeno)
Diversidade	Permite que o sistema imune responda a uma grande variedade de antígenos
Memória	Aumenta a habilidade no combate a infecções repetidas pelo mesmo microrganismo
Expansão clonal	Aumenta o número de linfócitos específicos para antígeno para manter equilíbrio com microrganismos
Especialização	Gera respostas que são ótimas para a defesa contra diferentes tipos de microrganismos
Contração e homeostasia	Permite que o sistema imune se recupere de uma resposta de tal forma que ele pode efetivamente responder a antígenos recentemente encontrados
Não reatividade ao próprio	Previne a lesão ao hospedeiro durante as respostas aos antígenos estranhos

- **Especificidade e diversidade.** Respostas imunes são específicas para antígenos distintos e, de fato, para diferentes porções de um único complexo de proteína, polissacarídeo ou outras macromoléculas (Fig. 1-4). As partes de tais antígenos que são especificamente reconhecidas por linfócitos individuais são denominadas **determinantes** ou **epítomos**. Esta fina especificidade existe porque os linfócitos individuais expressam receptores de membrana que podem distinguir sutis diferenças na estrutura entre epítomos distintos. Clones de linfócitos com diferentes especificidades estão presentes em indivíduos não imunizados e são capazes de reconhecer e responder aos antígenos estranhos. Este conceito é o princípio básico da hipótese de seleção clonal, que será discutida em detalhes mais adiante neste capítulo.



**FIGURA 1-4** Especificidade, memória e contração das respostas imunes adaptativas.

Antígenos X e Y induzem a produção de diferentes anticorpos (especificidade). A resposta secundária ao antígeno X é mais rápida e maior do que a resposta primária (memória). Os níveis de anticorpos declinam com o tempo após cada imunização (contração, o processo que mantém a homeostasia). As mesmas características são vistas nas respostas imunes mediadas por células.

O número total de especificidade antigênica dos linfócitos em um indivíduo, chamado de repertório dos linfócitos, é extremamente grande. É estimado que o sistema imune de um indivíduo possa discriminar  $10^7$  a  $10^9$  determinantes antigênicos distintos. Esta habilidade do repertório de linfócitos em reconhecer um grande número de antígenos é o resultado da variabilidade nas estruturas dos locais de ligação do antígeno de receptores de linfócitos para antígenos, que se chama **diversidade**. Em outras palavras, existem muitos clones de linfócitos que diferem nas estruturas de seus receptores de antígenos e, assim, nas suas especificidades para antígenos, contribuindo para o repertório total que é extremamente diverso. A expressão de diferentes receptores para antígenos em distintos clones de células T e B é a razão pela qual esses receptores são considerados clonalmente distribuídos. Os mecanismos moleculares que produzem tal diversidade de receptores de antígenos são discutidos no [Capítulo 8](#).

• **Memória.** Exposição do sistema imune a um antígeno estranho aumenta sua

habilidade em responder novamente àquele antígeno. Respostas a uma segunda exposição ou exposições subsequentes ao mesmo antígeno, denominadas respostas imunes secundárias, normalmente são mais rápidas, maiores e, com frequência, quantitativamente diferentes da primeira resposta imune, ou primária, àquele antígeno (Fig. 1-4). A memória imunológica ocorre porque cada exposição a um antígeno gera células de memória de vida longa e específicas para aquele antígeno, e são mais numerosas do que os linfócitos imaturos específicos para o antígeno que existia antes da exposição ao antígeno. Além disso, as células de memória têm características especiais que as tornam mais eficientes em responder e eliminar um antígeno do que os linfócitos imaturos que não foram previamente expostos ao antígeno. Por exemplo, os linfócitos B de memória produzem anticorpos que se ligam aos antígenos com maiores afinidades do que os anticorpos produzidos nas respostas imunes primárias, e as células T de memória reagem muito mais rápido e vigorosamente ao desafio do antígeno do que as células T imaturas.

- **Expansão clonal.** Linfócitos específicos para um antígeno se submetem a considerável proliferação após a exposição a um antígeno. O termo *expansão clonal* se refere a um aumento no número de células que expressam receptores idênticos para o antígeno e, assim, pertencem a um clone. Este aumento nas células específicas para um antígeno permite a adaptação da resposta imune em manter o ritmo com os patógenos infecciosos em rápida divisão.
- **Especialização.** Como já observamos, o sistema imune responde de maneiras diferentes a diferentes microrganismos, maximizando a efetividade dos mecanismos de defesa antimicrobianos. Assim, a imunidade humoral e a imunidade mediada por célula são elicitadas por diferentes classes de microrganismos ou pelo mesmo microrganismo em diferentes estágios de infecção (extracelular ou intracelular) e cada tipo de resposta imune protege o hospedeiro contra a classe de microrganismo. Mesmo entre as respostas imunes humoral e mediada por célula, a natureza dos anticorpos ou linfócitos T que são gerados pode variar de uma classe de microrganismos para outra. Retornaremos aos mecanismos e significância funcional de tal especialização em capítulos posteriores.
- **Contração e homeostasia.** Todas as respostas imunes normais diminuem com o tempo após a estimulação pelo antígeno, retornando, assim, ao seu estado de repouso basal, o estado chamado de **homeostasia** (Fig. 1-4). Esta contração das respostas imunes ocorre grandemente porque as respostas que são disparadas por antígenos funcionam, para eliminar os antígenos, eliminando um estímulo essencial para a sobrevivência e ativação dos linfócitos. Os linfócitos (exceto as células de memória) que são privados destes estímulos morrem por apoptose.
- **Não reatividade ao próprio.** Uma das propriedades mais marcantes do sistema imune de todos os indivíduos normais é sua habilidade em reconhecer, responder

e eliminar muitos antígenos estranhos (não próprios) enquanto não reagem negativamente às suas próprias substâncias antigênicas. A irresponsividade imunológica também é chamada de **tolerância**. A tolerância aos próprios antígenos, ou autotolerância, é mantida por vários mecanismos. Estes incluem a eliminação de linfócitos que expressam receptores específicos para alguns autoantígenos, inativando os linfócitos autorreativos ou suprimindo essas células pela ação de outras células (regulatórias). Anormalidades na indução ou manutenção da autotolerância levam a respostas imunes contra os próprios antígenos (autólogos), o que pode resultar em distúrbios denominados **doenças autoimunes**. Os mecanismos de autotolerância e suas falhas são discutidos no [Capítulo 15](#).

Essas características da imunidade adaptativa são necessárias se o sistema imune for realizar sua função normal de defesa do hospedeiro ([Tabela 1-3](#)). A especificidade e memória permitem que o sistema imune monte intensas respostas a exposições persistentes ou recorrentes do mesmo antígeno e, assim, combata infecções que são prolongadas ou ocorrem repetidamente. A diversidade é essencial se o sistema imune defende indivíduos contra os muitos potenciais patógenos do meio ambiente. A especialização permite ao hospedeiro “projetar” as respostas para um melhor combate contra os diferentes tipos de microrganismos. A contração da resposta permite que o sistema volte ao estado de repouso após eliminar cada antígeno estranho e esteja preparado para responder a outros antígenos. A autotolerância é vital para a prevenção de reações prejudiciais contra as próprias células e tecidos e manutenção de um repertório diverso de linfócitos específicos para antígenos estranhos.

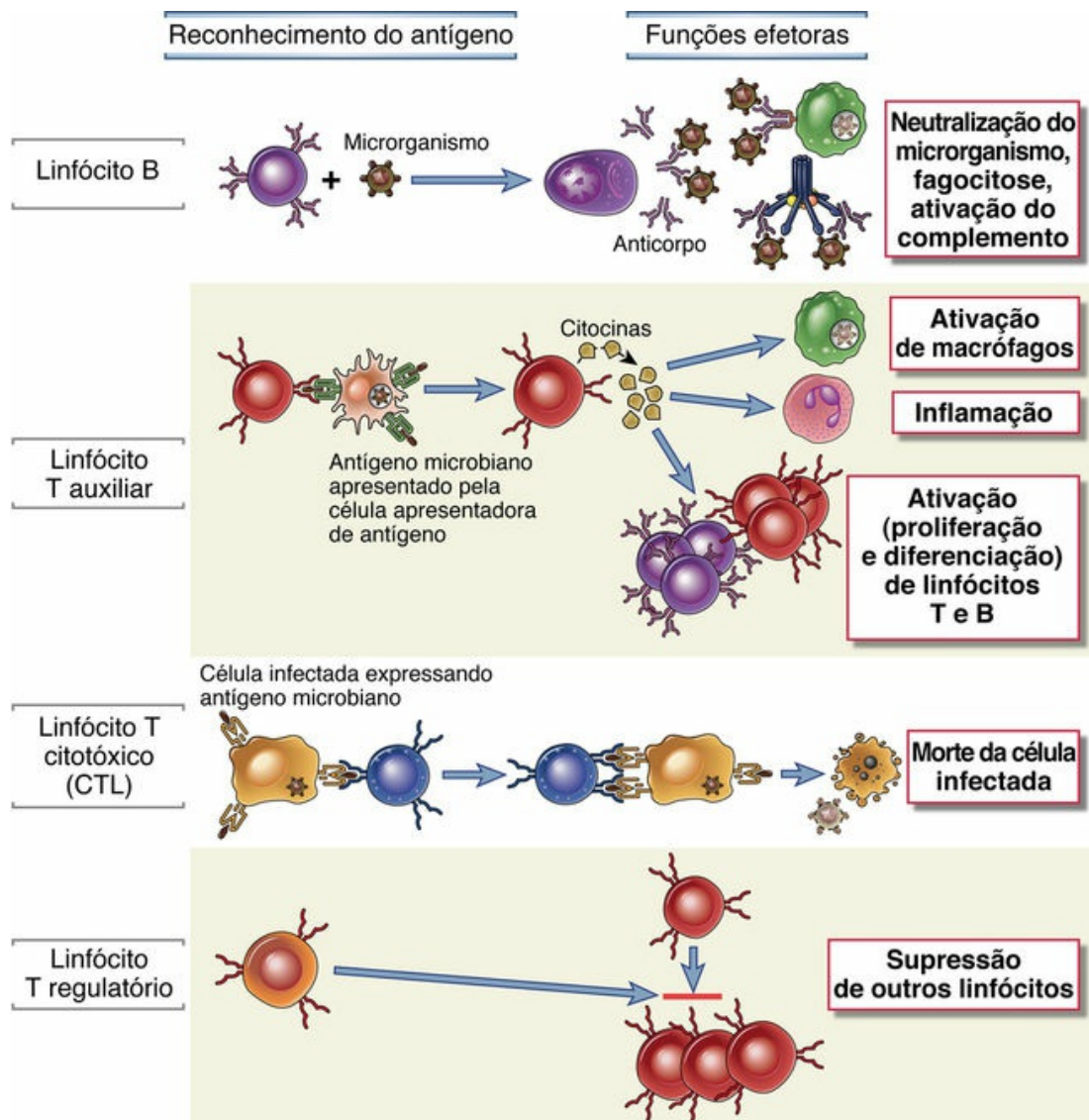
As respostas imunes são reguladas por um sistema de alças de retroalimentação positivas que amplificam a reação e por mecanismos de controle que previnem reações inapropriadas ou patológicas. Quando os linfócitos são ativados, eles disparam mecanismos que aumentam a magnitude da resposta. Esta retroalimentação positiva é importante para permitir que um pequeno número de linfócitos que são específicos para qualquer microrganismo produza a resposta necessária para erradicar aquela infecção. Muitos mecanismos de controle se tornam ativos nas respostas imunes para prevenir a ativação excessiva dos linfócitos, o que pode causar dano colateral aos tecidos normais, e para evitar respostas contra os autoantígenos. De fato, um balanço entre sinais ativadores e inibidores é uma característica de todas as respostas imunes. Mencionaremos exemplos específicos dessas características fundamentais do sistema imune ao longo deste livro.

## **Componentes celulares do sistema imune adaptativo**

***As principais células do sistema imune adaptativo são linfócitos, células apresentadoras de antígenos e células efectoras.*** Os linfócitos são as células que

especificamente reconhecem e respondem a antígenos estranhos, constituindo, assim, os mediadores da imunidade humoral e celular. Existem subpopulações distintas de linfócitos que diferem em como eles reconhecem os antígenos e em suas funções (Fig. 1-5). Os **linfócitos B** são as únicas células capazes de produzir anticorpos. Eles reconhecem antígenos extracelulares solúveis e na superfície celular e diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos, funcionando, assim, como mediadores da imunidade humoral. Os **linfócitos T**, as células da imunidade mediada por célula, reconhecem os antígenos dos microrganismos intracelulares e as células T ou auxiliam os fagócitos a destruir esses microrganismos ou matam as células infectadas. As células T não produzem moléculas de anticorpo. Seus receptores de antígenos são moléculas de membrana distintas, mas estruturalmente relacionadas com os anticorpos (Cap. 7). Os linfócitos T têm uma especificidade restrita para antígenos; eles reconhecem peptídios derivados das proteínas estranhas que estão ligadas às proteínas do hospedeiro e são denominadas moléculas do **complexo maior de histocompatibilidade** (MHC), expressas nas superfícies de outras células. Como resultado, essas células T reconhecem e respondem aos antígenos associados à superfície celular, mas não aos antígenos solúveis (Cap. 6).





**FIGURA 1-5** Classes de linfócitos.

Os linfócitos B reconhecem antígenos solúveis e se desenvolvem em células secretoras de antígenos. Os linfócitos T auxiliares reconhecem antígenos nas superfícies das células apresentadoras de antígenos e secretam citocinas, que estimulam diferentes mecanismos de imunidade e inflamação. Os linfócitos T citotóxicos reconhecem antígenos nas células infectadas, matando-as. As células T regulatórias suprimem e previnem as respostas imunes (p. ex., aos próprios antígenos).

Os linfócitos T consistem em populações funcionalmente distintas, os mais bem definidos dos quais são as **células T auxiliares** e os **linfócitos T citotóxicos** (ou **citolíticos**) (CTLs, do inglês *cytotoxic T lymphocytes*). Em resposta à estimulação antigênica, as células T auxiliares secretam citocinas, que são responsáveis por muitas das respostas celulares da imunidade inata e adaptativa, funcionando como

“moléculas mensageiras” do sistema imune. As citocinas secretadas pelos linfócitos T auxiliares estimulam a proliferação e diferenciação das próprias células T e ativam outras células, incluindo células B, macrófagos e outros leucócitos. Os CTLs matam as células que produzem antígenos estranhos, tais como células infectadas por vírus e outros microrganismos intracelulares. Alguns linfócitos T, denominados **células T regulatórias**, funcionam principalmente para inibir as respostas imunes. Uma pequena população de linfócitos T que expressa algumas proteínas de superfície celular encontradas somente nas células T é denominada **células NKT**. Suas especificidades e papel na defesa do hospedeiro não são bem compreendidos. Retornaremos a uma discussão mais detalhada sobre as propriedades dos linfócitos no [Capítulo 2](#) e em capítulos posteriores. Diferentes classes de linfócitos podem ser diferenciadas pela expressão de proteínas de superfície que são denominadas moléculas CD e numeradas ([Cap. 2](#)).

O início e desenvolvimento das respostas imunes adaptativas necessitam que os antígenos sejam capturados e apresentados aos linfócitos específicos. As células que servem a este papel são as chamadas **células apresentadoras de antígeno** (APCs, do inglês *antigen-presenting cells*). As APCs mais especializadas são as **células dendríticas**, que capturam antígenos microbianos que se originam do ambiente externo, transportam seus antígenos aos órgãos linfoides e apresentam os antígenos aos linfócitos T imaturos para iniciar as respostas imunes. Outros tipos celulares funcionam como APCs em diferentes estágios de respostas imunes mediada por célula ou humoral. Descreveremos as funções das APCs no [Capítulo 6](#).

A ativação dos linfócitos pelos antígenos leva à geração de numerosos mecanismos que funcionam para eliminar o antígeno. A eliminação do antígeno frequentemente necessita da participação das **células efectoras**, porque elas medeiam o efeito final da resposta imune, que é se livrar dos microrganismos. Os linfócitos T ativados, fagócitos mononucleares e outros leucócitos funcionam como células efectoras em diferentes respostas imunes.

Linfócitos e APCs são concentrados em órgãos linfoides anatomicamente discretos, onde eles interagem uns com os outros para iniciar as respostas imunes. Os linfócitos também estão presentes no sangue; do sangue, eles podem recircular através dos tecidos linfoides e voltar aos tecidos periféricos para os locais de exposição do antígeno para eliminar este antígeno ([Cap. 3](#)).

As células do sistema imune interagem umas com as outras e com outras células do hospedeiro durante os estágios de iniciação e efetores das respostas imunes inata e adaptativa. Muitas dessas interações são mediadas pelas citocinas. Descreveremos as funções das citocinas individuais quando discutirmos as respostas imunes nas quais estas proteínas desempenham papel importante.

## Visão geral das respostas imunes aos microrganismos



Agora que já fizemos uma introdução sobre os componentes principais do sistema imune e suas propriedades, é útil apresentarmos um resumo dos princípios das respostas imunes para diferentes tipos de microrganismos. Tal resumo será a base para os tópicos que serão discutidos ao longo deste livro. O sistema imune precisa combater muitos microrganismos diferentes. Como veremos brevemente, as respostas imunes a todos os patógenos infecciosos compartilham algumas características em comum e as respostas às diferentes classes destes microrganismos também podem ter características únicas. A maneira como essas reações imunes adaptativas são iniciadas, orquestradas e controladas consiste nas questões fundamentais da imunologia. Começaremos com uma discussão acerca da resposta imune inata.

## A Resposta Imune Inata Inicial aos Microrganismos

O sistema imune inato bloqueia a entrada de microrganismos e elimina ou limita o crescimento de muitos microrganismos que são capazes de colonizar os tecidos. Os principais locais de interação entre os indivíduos e seu ambiente – a pele, os pulmões e os tratos gastrintestinal e respiratório – são revestidos por um epitélio contínuo, que serve como barreira para prevenir a entrada de microrganismos a partir do meio ambiente externo. Se os microrganismos romperem com sucesso as barreiras epiteliais, eles encontrarão outras células do sistema imune. A resposta imune inata celular aos microrganismos consiste em dois tipos principais de reações – inflamação e defesa antiviral. A **inflamação** é o processo de recrutamento de leucócitos e proteínas plasmáticas do sangue, seu acúmulo nos tecidos e sua ativação para destruir os microrganismos. Muitas dessas reações envolvem citocinas que são produzidas pelas células dendríticas, macrófagos e outros tipos de células durante as reações imunes inatas. Os principais leucócitos recrutados na inflamação são os fagócitos, neutrófilos (que têm vida curta nos tecidos) e monócitos (que se desenvolvem em macrófagos teciduais). Os fagócitos ingerem os microrganismos e células mortas, destruindo-os nas vesículas intracelulares. A **defesa antiviral** consiste em uma reação mediada por citocina na qual as células adquirem resistência às infecções virais e morte das células infectadas por vírus pelas células especializadas do sistema imune inato, as células NK.

Os microrganismos que são capazes de resistir a essas reações de defesa nos tecidos podem entrar no sangue, onde são reconhecidos pelas proteínas circulantes da imunidade inata. Entre as proteínas plasmáticas mais importantes da imunidade inata, estão os componentes do sistema complemento. Quando as proteínas do complemento são ativadas pelas superfícies microbianas, os produtos da quebra proteolítica são gerados e medeiam as respostas inflamatórias, recobrem (opsonizam) os microrganismos para aumentar a fagocitose e lisam diretamente os microrganismos. Outras proteínas plasmáticas entram nos locais da infecção durante

as reações inflamatórias e auxiliam no combate aos microrganismos nos tecidos extravasculares.

As reações da imunidade inata são efetivas no controle e mesmo na erradicação das infecções. Entretanto, como mencionado anteriormente, muito microrganismos patogênicos evoluíram para resistir à imunidade inata. A defesa contra esses patógenos necessita de mecanismos mais potentes e especializados da imunidade adaptativa.

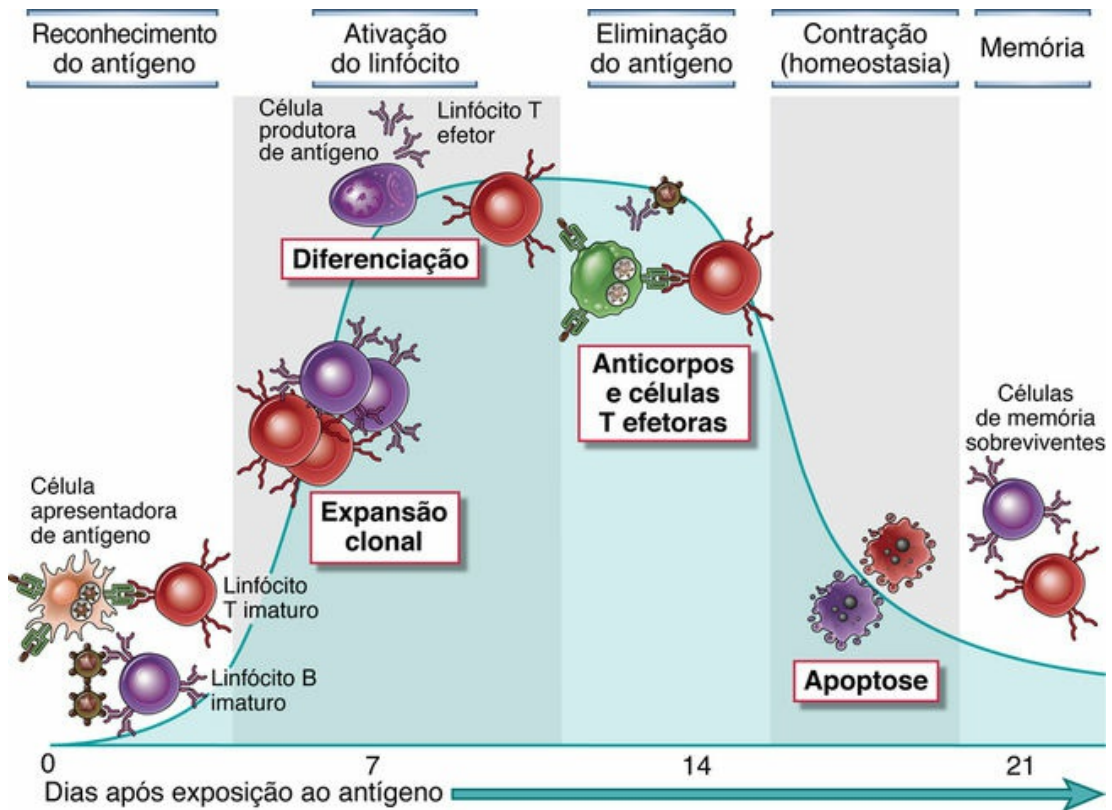
## A Resposta Imune Adaptativa

O sistema imune adaptativo utiliza três principais estratégias para combater a maioria dos microrganismos.

- **Anticorpos.** Os anticorpos secretados se ligam aos microrganismos extracelulares, bloqueiam sua habilidade de infectar as células do hospedeiro e promovem sua ingestão e subsequente destruição pelos fagócitos.
- **Fagocitose.** Os fagócitos ingerem os microrganismos e os matam, e os anticorpos e células T auxiliares aumentam as habilidades microbidas dos fagócitos.
- **Morte celular.** Os linfócitos T citotóxicos (CTLs) destroem as células infectadas pelos microrganismos que são inacessíveis aos anticorpos e à destruição fagocítica.

O objetivo da resposta adaptativa é ativar um ou mais mecanismos de defesa contra diversos microrganismos que podem estar em diferentes localizações anatômicas, tais como intestinos ou vias respiratórias circulação ou dentro das células.

Todas as respostas imunes se desenvolvem em passos sequenciais, cada qual correspondendo a reações particulares dos linfócitos (Fig. 1-6). Começaremos esta revisão da imunidade adaptativa com o primeiro passo, que é o reconhecimento dos antígenos.



**FIGURA 1-6** Fases das respostas imunes adaptativas.

As respostas imunes adaptativas consistem em fases distintas, as primeiras três sendo o reconhecimento do antígeno, a ativação de linfócitos e a eliminação do antígeno (a fase efetora). A resposta contrai (declina) à medida que os linfócitos estimulados por antígenos morrem por apoptose, restaurando a homeostasia, e as células específicas para antígeno que sobrevivem são responsáveis pela memória. A duração de cada fase pode variar em diferentes respostas imunes. O eixo y representa uma medida arbitrária da magnitude da resposta. Estes princípios se aplicam à imunidade humoral (mediada por linfócitos B) e imunidade mediada por célula (mediada por linfócitos T).

### A Captura e Apresentação de Antígenos Microbianos

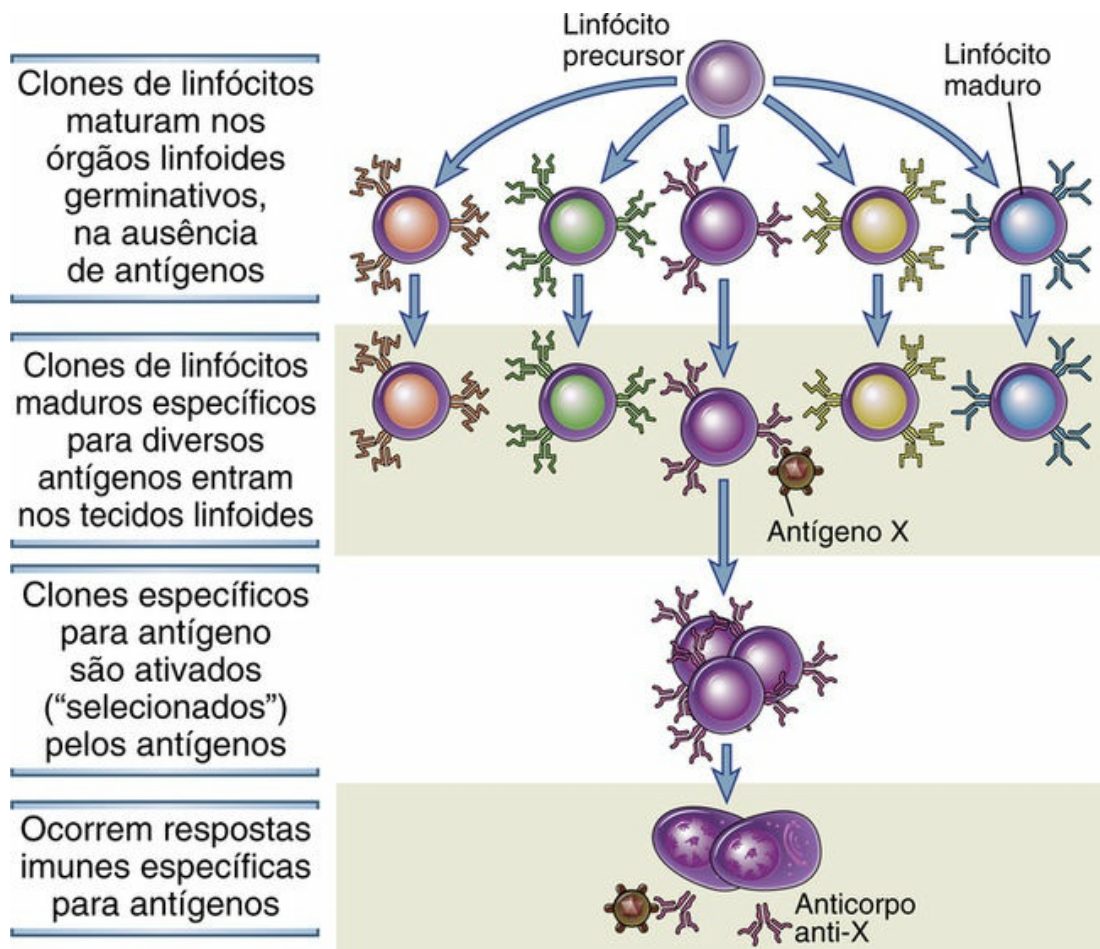
Pelo fato de o número de linfócitos imaturos específicos para qualquer antígeno ser muito pequeno (na ordem de 1 em  $10^5$  ou  $10^6$  linfócitos) e a quantidade de antígeno disponível também poder ser pequena, mecanismos especiais são necessários para capturar os microrganismos, concentrar seus antígenos na localização correta e distribuir os antígenos aos linfócitos específicos. As células dendríticas localizadas nos epitélios e tecidos conectivos capturam microrganismos, digerem suas proteínas em

fragmentos e expressam nas suas superfícies peptídios microbianos ligados às moléculas de MHC, que são as moléculas especializadas de apresentação de peptídios do sistema imune adaptativo. As células dendríticas transportam sua carga antigênica para os linfonodos de drenagem através dos quais os linfócitos T imaturos recirculam continuamente. Então, a probabilidade de uma célula T com receptores para um antígeno em particular encontrar aquele antígeno é grandemente aumentada pela concentração de muitos antígenos e células T na mesma localização anatômica. As células dendríticas também apresentam peptídios microbianos no baço.

Microrganismos intactos ou antígenos microbianos que entram nos linfonodos e baço são reconhecidos na forma não processada (nativa) pelos linfócitos B. Os antígenos também podem ser apresentados aos linfócitos B por algumas APCs nos órgãos linfoides.

### **Reconhecimento de Antígeno pelos Linfócitos**

Linfócitos específicos para um grande número de antígenos existem antes da exposição ao antígeno e, quando um antígeno entra em um órgão linfoide secundário, ele se liga (seleciona) às células específicas para o antígeno, ativando-as (Fig. 1-7). Este conceito fundamental é chamado de **hipótese da seleção clonal**. Foi sugerido por Niels Jerne, em 1955, e mais claramente enunciado por Macfarlane Burnet, em 1957, como uma hipótese para explicar como o sistema imune poderia responder a um grande número e variedade de antígenos. De acordo com essa hipótese, os clones de linfócitos específicos para antígenos se desenvolvem antes e independentemente da exposição ao antígeno. Um *clone* se refere a um linfócito de uma especificidade e sua progênie. Uma característica do sistema imune é que um grande número de clones é gerado durante a maturação dos linfócitos, maximizando, então, o potencial para o reconhecimento de diversos microrganismos.



**FIGURA 1-7** A hipótese da seleção clonal.

Cada antígeno (X) seleciona um clone preexistente de linfócitos específicos e estimula a proliferação e diferenciação daquele clone. O diagrama mostra somente linfócitos B dando origem a células efetoras secretoras de anticorpo, mas o mesmo princípio se aplica aos linfócitos T.

A ativação dos linfócitos T imaturos necessita do reconhecimento de complexos peptídeo-MHC apresentados nas células dendríticas. Pelo fato de os receptores de células T serem específicos para peptídeos associados ao MHC, esses linfócitos podem interagir somente com antígenos associados a células (porque as moléculas de MHC são proteínas da superfície celular), e não com antígeno livre. Esta característica é necessária porque todas as funções dos linfócitos T são dependentes de suas interações físicas com outras células. Para responder, as células T necessitam reconhecer não somente antígenos, mas também outras moléculas, chamadas de **coestimuladores**, que são induzidas nas APCs pelos microrganismos. O reconhecimento do antígeno fornece especificidade à resposta imune e a necessidade de coestimulação garante que as células T respondam aos microrganismos (os indutores das moléculas coestimulatórias), e não a substâncias inofensivas.

Os linfócitos B utilizam seus receptores de antígenos (moléculas de anticorpo ligado à membrana) para reconhecer os antígenos de muitos tipos químicos diferentes.

A ocupação dos receptores de antígenos e outros sinais disparam a proliferação e diferenciação do linfócito. As reações e funções dos linfócitos T e B diferem em vias importantes e são mais bem compreendidas separadamente.

## **Imunidade Mediada por Célula: Ativação dos Linfócitos T e Eliminação de Microrganismos Intracelulares**

Linfócitos T auxiliares  $CD4^+$  ativados proliferam e se diferenciam em células efetoras cujas funções são grandemente mediadas por citocinas secretadas. Quando as células T  $CD4^+$  imaturas são ativadas pelo antígeno, elas secretam a citocina interleucina-2 (IL-2), que é um fator de crescimento que estimula a proliferação (expansão clonal) de células T específicas para antígeno. Algumas das progênes destes linfócitos ativados se diferenciam em células efetoras que podem secretar diferentes grupos de citocinas e, então, realizar diferentes funções. Muitas das células efetoras deixam os órgãos linfoides quando elas são geradas e migram para locais de infecção e inflamação. Quando essas células T efetoras diferenciadas encontram novamente os microrganismos associados a células, elas são ativadas para realizar as funções que são responsáveis pela eliminação dos microrganismos. Algumas células T auxiliares  $CD4^+$  secretam citocinas que recrutam leucócitos e estimulam a produção de substâncias microbidas nos fagócitos. Assim, essas células T auxiliam os fagócitos a matar os patógenos infecciosos. Outras células T auxiliares  $CD4^+$  secretam citocinas que auxiliam as células B a produzir um tipo de anticorpo denominado imunoglobulina E (IgE) e ativam os leucócitos chamados de eosinófilos, que são capazes de matar parasitas muito grandes para serem fagocitados. Como discutiremos mais à frente, algumas células T auxiliares  $CD4^+$  permanecem nos órgãos linfoides e estimulam as respostas da célula B.

Linfócitos  $CD8^+$  proliferam e se diferenciam em CTLs que matam as células com microrganismos no citoplasma. Esses microrganismos podem ser vírus que infectam muitos tipos de células ou bactérias que são ingeridas pelos macrófagos, mas escapam das vesículas fagocíticas para o citoplasma (onde são inacessíveis à maquinaria de morte dos fagócitos, que fica grandemente confinada às vesículas). Com a destruição das células infectadas, os CTLs eliminam os reservatórios de infecção.

## **Imunidade Humoral: Ativação dos Linfócitos B e Eliminação dos Microrganismos Extracelulares**

Na ativação pelo antígeno, os linfócitos B se proliferam e se diferenciam em células



que secretam diferentes classes de anticorpos com funções distintas. A resposta das células B aos antígenos proteicos necessita de sinais de ativação (auxílio) das células T CD4<sup>+</sup> (que é a razão histórica para se chamar essas células de células T *auxiliares*). As células B podem responder a vários antígenos não proteicos sem a participação de células T auxiliares.

Algumas das progênes dos clones de células B expandidos se diferenciam em **plasmócitos** secretores de anticorpo. Cada plasmócito secreta anticorpos que têm o mesmo local de ligação do antígeno que os anticorpos da superfície células (receptores em célula B) que primeiro reconheceram o antígeno. Polissacarídeos e lipídios estimulam a secreção principalmente do anticorpo de classe denominada IgM. Os antígenos proteicos induzem a produção de anticorpos de classes funcionalmente diferentes (IgG, IgA, IgE) a partir de um único clone de células B. A produção desta classe de anticorpos com diferentes funções é denominada troca de classe. O processo necessita da ação de células T auxiliares. Ele fornece plasticidade na resposta do anticorpo, permitindo que sirva a várias funções. As células T auxiliares também estimulam a produção de anticorpos com afinidade aumentada para o antígeno. Este processo, chamado de maturação de afinidade, melhora a qualidade da resposta imune humoral.

A resposta imune humoral combate microrganismos de várias maneiras. Os anticorpos se ligam aos microrganismos e os impedem de infectar as células, neutralizando, então, os microrganismos. De fato, os anticorpos são os únicos mecanismos da imunidade adaptativa que previnem uma infecção antes de ela se estabelecer; essa é a razão pela qual elicitar a produção de anticorpos potentes consiste no objetivo principal da vacinação. Anticorpos IgG recobrem os microrganismos e os tornam alvo para a fagocitose porque os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) expressam receptores para partes das moléculas de IgG. IgG e IgM ativam o sistema complemento, e os produtos do complemento promovem a fagocitose e a destruição dos microrganismos. Alguns anticorpos atendem a papéis especiais em locais anatômicos em particular. A IgA é secretada pelo epitélio da mucosa e neutraliza microrganismos nos lumens dos tecidos mucosos, tais como os tratos respiratório e gastrointestinal. A IgG materna é ativamente transportada através da placenta e protege o feto até que o seu sistema imune e do futuro recém nascido se torne maduro. A maioria dos anticorpos tem meia-vida de poucos dias, mas grande parte dos anticorpos IgG tem meia-vida de cerca de 3 semanas. Alguns plasmócitos que secretam anticorpo migram para a medula óssea e vivem por anos, continuando a produzir baixos níveis de anticorpos. Os anticorpos que são secretados pelos plasmócitos de vida longa fornecem proteção imediata se o microrganismo voltar a infectar o indivíduo. Uma proteção mais efetiva é fornecida pelas células de memória que são ativadas pelo microrganismo e rapidamente se diferenciam para gerar grandes números de plasmócitos.

## Memória Imunológica

Uma resposta imune efetiva elimina os microrganismos que iniciam a resposta. Isso é seguido pela fase de contração, na qual os clones expandidos de linfócitos morrem e a homeostase é restaurada.

A ativação inicial dos linfócitos gera **células de memória** de vida longa, que podem sobreviver por anos após a infecção. As células de memória são mais efetivas no combate aos microrganismos do que os linfócitos imaturos, porque, com mencionado anteriormente, as células de memória representam um conjunto expandido de linfócitos específicos para antígeno (mais numerosos do que as células imaturas específicas para o antígeno) e respondem mais rápido e efetivamente contra o antígeno do que as células imaturas. É por isso que a geração de respostas de memória é outro importante objetivo da vacinação. Discutiremos as propriedades dos linfócitos de memória em capítulos posteriores.

No restante do livro, descreveremos em detalhes o reconhecimento, a ativação, a regulação e as fases efetoras das respostas imunes inata e adaptativa. Os princípios apresentados neste capítulo se repetirão ao longo deste livro.

## Resumo

A imunidade protetora contra microrganismos é mediada pelas reações iniciais da imunidade inata e das respostas tardias da imunidade adaptativa. As respostas imunes inatas são estimuladas por estruturas moleculares compartilhadas por grupos de microrganismos e pelas moléculas expressas por células do hospedeiro danificadas. A imunidade adaptativa é específica para diferentes microrganismos e antígenos não microbianos e é aumentada por exposições repetidas ao antígeno (memória imunológica).

A imunidade humoral é mediada pelos linfócitos B e seus produtos secretados, tais como anticorpos, e consiste no mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares. A imunidade mediada por célula é mediada por linfócitos T e seus produtos, tais como citocinas, sendo importante para a defesa contra microrganismos intracelulares.

A imunidade pode ser adquirida por uma resposta a um antígeno (imunidade ativa) ou conferida pela transferência de anticorpos ou células efetoras (imunidade passiva).

Muitas características do sistema imune são de fundamental importância para suas funções normais. Estas incluem especificidade para diferentes antígenos, repertório diverso capaz de reconhecimento de uma grande variedade de antígenos, memória do antígeno exposto, capacidade para rápida expansão de clones de linfócitos específicos para antígeno, respostas especializadas para diferentes microrganismos, manutenção da homeostasia e habilidade em distinguir entre antígenos estranhos e os próprios antígenos.



Os linfócitos são as únicas células capazes de especificamente reconhecer antígenos e, assim, constituem as principais células da imunidade adaptativa. A população total de linfócitos consiste em muitos clones, cada um com um único receptor de antígeno e especificidade. Os dois principais subgrupos de linfócitos são as células B e células T, e eles diferem em seus receptores para antígenos e funções. As células especializadas apresentadoras de antígenos capturam antígenos microbianos e os apresentam para o reconhecimento pelos linfócitos. A eliminação dos antígenos frequentemente necessita da participação de várias células efetoras.

A resposta imune adaptativa é iniciada pelo reconhecimento de antígenos estranhos pelos linfócitos específicos. Os linfócitos respondem pela proliferação e diferenciação em células efetoras, cuja função é a eliminação do antígeno, e em células de memória, que têm respostas aumentadas em contatos subsequentes com o antígeno. A ativação dos linfócitos necessita do antígeno e sinais adicionais que podem ser fornecidos pelos microrganismos ou pelas respostas imunes inatas aos microrganismos.

Os linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> auxiliam os macrófagos a eliminar os microrganismos ingeridos e ajudam as células B a produzir anticorpos. Os CTLs CD8<sup>+</sup> matam as células vizinhas aos patógenos intracelulares, eliminando, assim, os reservatórios da infecção.

Anticorpos, os produtos dos linfócitos B, neutralizam a infectividade dos microrganismos e promovem a eliminação dos microrganismos pelos fagócitos e pela ativação do sistema complemento.

## Leituras selecionadas

Burnet, F. M. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Australian Journal of Science*. 1957; 20:67–69.

Jerne, N. K. The natural-selection theory of antibody formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1955; 41:849–857.

Litman, G. W., Rast, J. P., Fugmann, S. D. The origins of vertebrate adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:543–553.

Silverstein, A. M. *Paul Erlich's receptor immunology: the magnificent obsession*. New York: Academic Press; 2001.

Silverstein, A. M. Cellular versus humoral immunology: a century-long dispute. *Nature Immunology*. 2003; 4:425–428.

Travis, J. On the origins of the immune system. *Science*. 2009; 324:580–582.

## CAPÍTULO 2

# Células e Tecidos do Sistema Imune

### CÉLULAS DO SISTEMA IMUNE

Fagócitos

Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos

Células Apresentadoras de Antígenos

Linfócitos

Células Linfoides Inatas

### ANATOMIA E FUNÇÕES DOS TECIDOS LINFOIDES

Medula Óssea

Timo

O Sistema Linfático

Linfonodos

Baço

Sistemas Imunes Regionais

### RESUMO

As células do sistema imune inato e adaptativo normalmente estão presentes como células circulantes no sangue e na linfa, como coleções anatomicamente definidas nos órgãos linfoides e como células dispersas em praticamente todos os tecidos. A organização anatômica destas células e sua habilidade em circular e trocar entre sangue, linfa e tecidos são de importância crucial para a geração de respostas imunes. O sistema imune enfrenta numerosos desafios para gerar respostas protetoras efetivas contra patógenos infecciosos. Primeiro, o sistema deve ser capaz de responder rapidamente a pequeno número de muitos microrganismos diferentes que podem ser introduzidos em qualquer local do corpo. Segundo, na resposta imune adaptativa, muito poucos linfócitos imaturos reconhecem especificamente e respondem a qualquer antígeno. Terceiro, os mecanismos efetores do sistema imune adaptativo (anticorpos e células T efetoras) podem ter que localizar e destruir microrganismos em locais que são distantes da região onde a resposta imune foi induzida. A habilidade do sistema imune em encontrar esses desafios e realizar otimamente suas funções protetoras é dependente de respostas rápidas e

extremamente variadas das células imunes e da maneira pela qual essas células são organizadas nos tecidos linfoides e ainda são capazes de migrar de um tecido para outro.

Este capítulo descreve as células e tecidos que compõem o sistema imune. No [Capítulo 3](#), apresentaremos os padrões de tráfego dos linfócitos através do corpo e os mecanismos de migração dos linfócitos e outros leucócitos.

## Células do sistema imune

As células que servem a papéis especializados nas respostas imunes inata e adaptativa incluem fagócitos, células dendríticas, linfócitos específicos para antígeno e vários outros leucócitos que agem para eliminar os antígenos. Estas células foram introduzidas brevemente no [Capítulo 1](#). Aqui descreveremos a morfologia e características funcionais das células do sistema imune e como elas são organizadas nos tecidos linfoides. Os números de alguns desses tipos celulares no sangue estão listados na [Tabela 2-1](#). Embora a maioria destas células seja encontrada no sangue, suas respostas aos microrganismos normalmente ocorrem nos tecidos linfoides e outros tecidos e, assim, podem não ser refletidas por alterações em seus números na circulação.

---

**Tabela 2-1**

**Contagens Normais de Células Sanguíneas**

---

	Número Médio por Microlitro	Variação Normal
Células brancas sanguíneas (leucócitos)	7400	4.500-11.000
Neutrófilos	4400	1.800-7.700
Eosinófilos	200	0-450
Basófilos	40	0-200
Linfócitos	2500	1.000-4.800
Monócitos	300	0-800

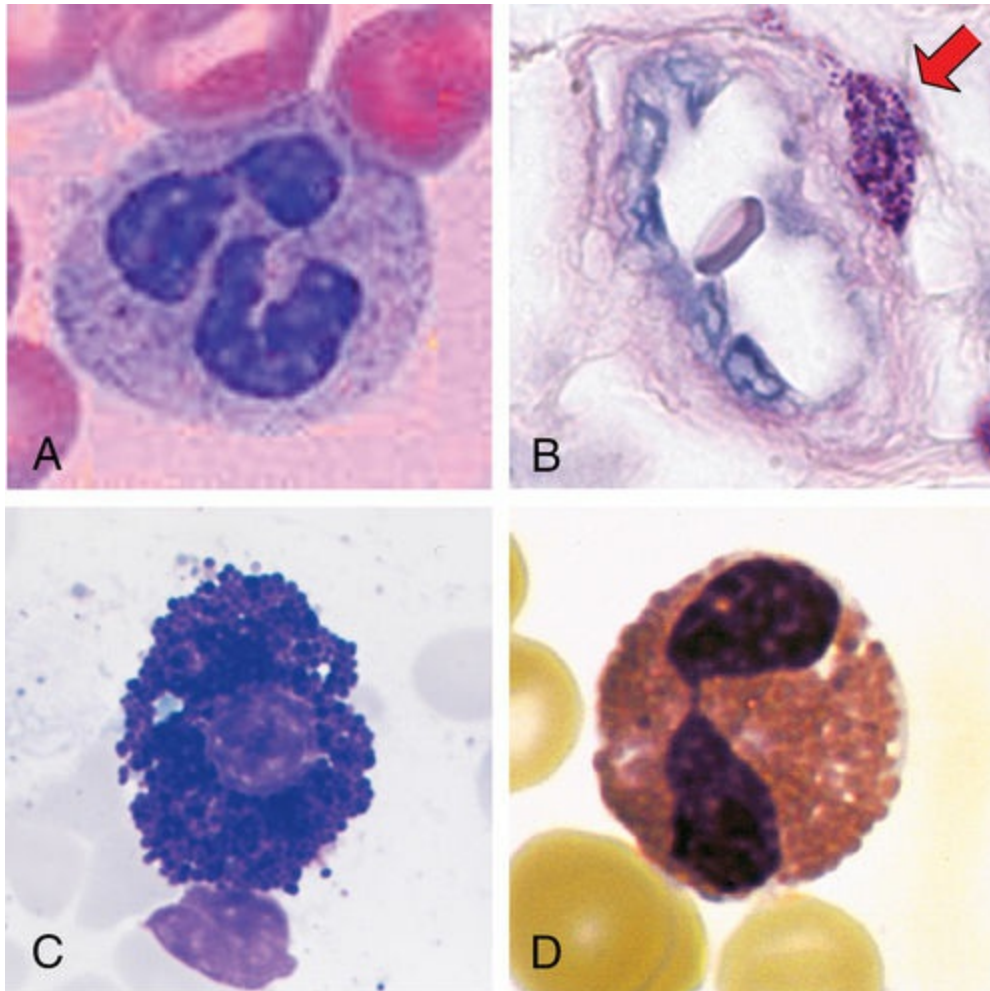
## Fagócitos

**Os fagócitos, incluindo neutrófilos e macrófagos, são as células cuja função primária é ingerir e destruir microrganismos e se livrar dos tecidos danificados.** As respostas funcionais dos fagócitos na defesa do hospedeiro consistem em passos sequenciais: recrutamento das células para locais de infecção, reconhecimento e ativação pelos microrganismos, ingestão dos microrganismos por processo de fagocitose e destruição dos microrganismos ingeridos. Além disso, pelo contato direto e pela secreção de citocinas, os fagócitos se comunicam com outras

células de modo a promover ou regular as respostas imunes. Essas funções dos fagócitos são importantes na imunidade inata, como discutiremos no [Capítulo 4](#), e também na fase efetora de algumas respostas imunes adaptativas, como abordaremos no [Capítulo 10](#). Como um prelúdio a discussões mais detalhadas sobre o papel dos fagócitos nas respostas imunes dos próximos capítulos, agora descreveremos as características morfológicas de neutrófilos e macrófagos e apresentaremos brevemente suas respostas funcionais.

## Neutrófilos

**Os neutrófilos, também chamados de leucócitos polimorfonucleares, constituem a população mais abundante de células brancas sanguíneas circulantes e medeiam as fases iniciais das reações inflamatórias.** Os neutrófilos circulam como células esféricas de aproximadamente 12 a 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro com numerosas projeções membranosas. O núcleo de um neutrófilo é segmentado em três a cinco lóbulos conectados, por isso o sinônimo de *leucócito polimorfonuclear* ([Fig. 2-1, A](#)). O citoplasma contém grânulos de dois tipos. A maioria, chamada de grânulos específicos, é preenchida com enzimas tais como lisozima, collagenase e elastase. Estes grânulos não coram fortemente nem com corantes básicos nem com corantes acídicos (hematoxilina e eosina, respectivamente), que distinguem os grânulos dos neutrófilos daqueles de dois outros tipos de granulócitos circulantes, chamados de **basófilos** e **eosinófilos**. O restante dos grânulos dos neutrófilos, denominados grânulos aurofílicos, consiste em lisossomas que contêm enzimas e outras substâncias microbicidas, incluindo defensinas e catelicidinas, que serão discutidas no [Capítulo 4](#). Os neutrófilos são produzidos na medula óssea e surgem de precursores que também dão origem a fagócitos mononucleares. A produção dos neutrófilos é estimulada pelo fator estimulador de colônias (G-CSF). Um humano adulto produz mais de  $1 \times 10^{11}$  neutrófilos por dia, cada qual circulando no sangue por horas ou poucos dias. Os neutrófilos podem migrar rapidamente para locais de infecção após a entrada de microrganismos. Após a entrada nos tecidos, os neutrófilos funcionam por somente 1 a 2 dias e, então, morrem.



**FIGURA 2-1** Morfologia dos neutrófilos, macrófagos, basófilos e eosinófilos.

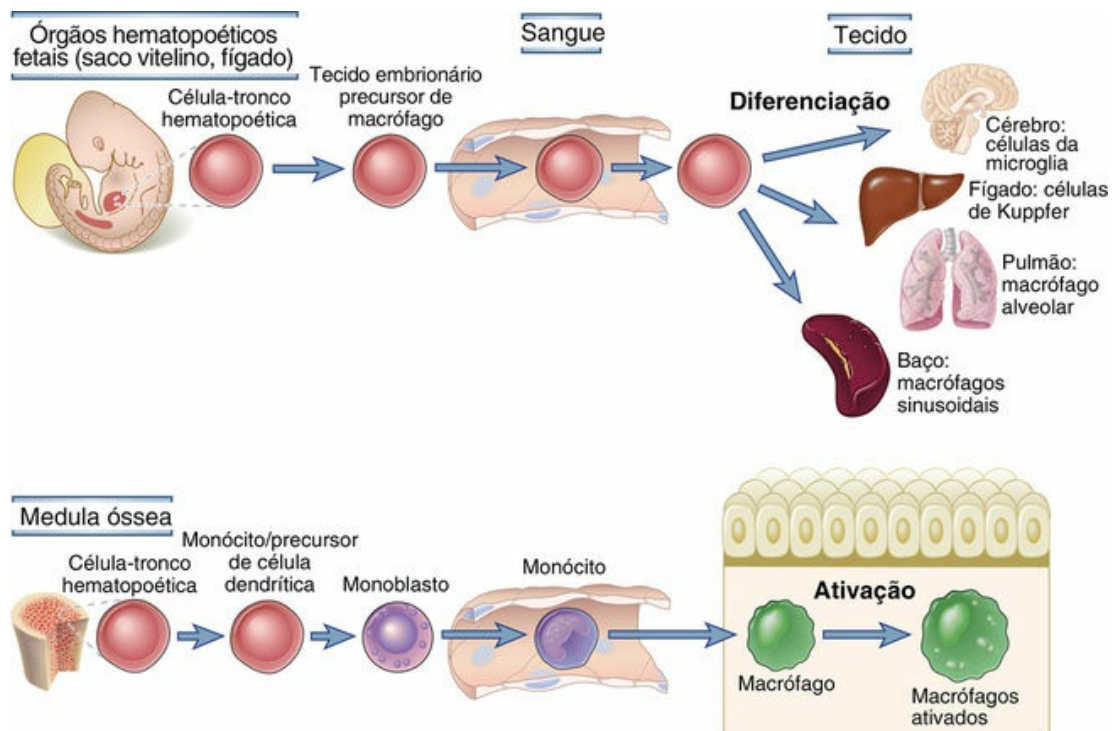
**A**, Uma micrografia de luz de neutrófilos sanguíneos corados com Wright-Giemsa mostra os núcleos multilobados, motivo pelo qual essas células também são denominadas leucócitos polimorfonucleares, e os grânulos citoplasmáticos fracos. **B**, Uma microscopia de luz de uma seção de pele corada com Wright-Giemsa mostra um mastócito (*seta*) adjacente a um pequeno vaso sanguíneo, identificável pela hemácia na luz. Os grânulos citoplasmáticos no mastócito, que são corados de roxo, são cheios de histamina e outros mediadores que agem nos vasos sanguíneos adjacentes para promover o aumento no fluxo sanguíneo e a distribuição de proteínas plasmáticas e leucócitos para os tecidos. (*Cortesia de Dr. George Murphy, Department of Pathology, Brigham and Womens's Hospital, Boston, Massachusetts.*) **C**, Uma micrografia de luz de um basófilo sanguíneo corado com Wright-Giemsa mostra os característicos grânulos citoplasmáticos corados de azul. (*Cortesia de Dr. Jonathan*

*Hecht, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.) D, Uma micrografia de luz de um eosinófilo sanguíneo corado com Wright-Giemsa mostra os característicos núcleos segmentados e grânulos citoplasmáticos corados de vermelho.*

## **Fagócitos Mononucleares**

***O sistema fagócito mononuclear inclui as células circulantes denominadas monócitos e células residentes teciduais denominadas macrófagos.*** Os macrófagos, que são amplamente distribuídos nos órgãos e tecido conectivo, têm papel central na imunidade inata e adaptativa. Muitos tecidos são povoados com macrófagos residentes com vida longa e derivados do saco vitelino ou precursores hepáticos fetais durante o desenvolvimento fetal que assumem fenótipos especializados dependendo do órgão (Fig. 2-2). Exemplos são as células de Kupffer que recobrem os sinusoides no fígado, macrófagos sinusoides no baço, macrófagos alveolares nos pulmões e células da microglia no cérebro. Nos adultos, as células da linhagem de macrófago surgem a partir de células precursoras na medula óssea, direcionadas por uma proteína denominada fator estimulador de colônia de monócito (ou macrófago) (M-CSF). Esses precursores evoluem para monócitos, que entram e circulam no sangue (Fig. 2-2) e, então, migram para os tecidos, especialmente durante as reações inflamatórias, onde eles então amadurecem em macrófagos.



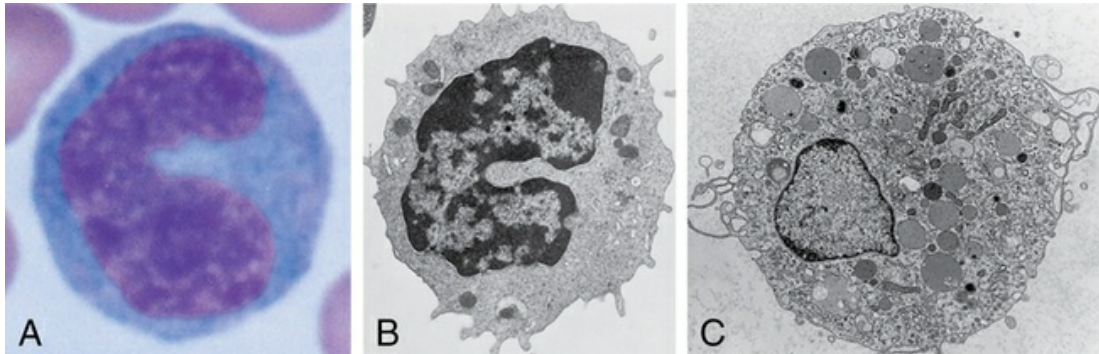


**FIGURA 2-2** Maturação dos fagócitos mononucleares.

Macrófagos residentes teciduais, que se diferenciam em formas especializadas em órgãos particulares, são derivados de precursores no saco vitelino e fígado fetal durante a vida fetal. Os monócitos se originam de uma célula precursora de linhagem mieloide na medula óssea, circulam no sangue e são recrutados para os tecidos em reações inflamatórias, onde eles amadurecem em macrófagos. Existem subgrupos de monócitos sanguíneos que têm funções inflamatórias ou reparadoras (não mostradas) distintas.

Os monócitos têm entre 10 a 15  $\mu\text{m}$  em diâmetro e apresentam um núcleo em formato de feijão com citoplasma finamente granular contendo lisossomas, vacúolos fagocíticos e filamentos de citoesqueleto (Fig. 2-3). Os monócitos são heterogêneos e consistem em diferentes subgrupos distinguíveis pelos marcadores de superfície celular e funções. Em ambos humanos e camundongos, os monócitos mais numerosos, algumas vezes denominados monócitos clássicos, produzem abundantes mediadores inflamatórios e são rapidamente recrutados para locais de infecção e tecido danificado. Em humanos, esses monócitos são identificáveis pela alta expressão na superfície celular de CD14 e não têm a expressão de CD16 ( $\text{CD14}^{++}\text{CD16}$ ); em camundongos, o subgrupo equivalente é identificável como  $\text{Ly6}^{\text{alto}}$ . Os monócitos não clássicos, que constituem a minoria dos monócitos sanguíneos, são  $\text{CD14}^{+}\text{CD16}^{++}$  em humanos e  $\text{Ly6c}^{\text{baixo}}$  em camundongos. Estas células contribuem para o reparo tecidual após a lesão e são conhecidas por rolar ao

longo das superfícies endoteliais (descrito como *patrulhamento*). Um subgrupo humano intermediário também foi descrito (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>).



**FIGURA 2-3** Morfologia dos fagócitos mononucleares.

**A**, Micrografia de luz de um monócito em um esfregaço de sangue periférico. **B**, Micrografia eletrônica de um monócito de sangue periférico. (Cortesia de Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.)

**C**, Micrografia eletrônica de um macrófago tecidual ativado mostrando numerosos vacúolos fagocíticos e organelas citoplasmáticas. (De Fawcett DW: *Bloom and Fawcett: a textbook of histology*, 12th ed, New York, 1994, Chapman & Hall. Com permissão de Springer Science and Business Media.)

Estes macrófagos teciduais realizam várias funções importantes na imunidade inata e adaptativa.

- A principal função dos macrófagos na defesa do hospedeiro é ingerir e matar microrganismos. Os mecanismos de morte, que abordaremos no [Capítulo 4](#), incluem a geração enzimática de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que são tóxicas aos microrganismos e digestão proteolítica.
- Em adição aos microrganismos ingeridos, os macrófagos também ingerem células mortas do hospedeiro, incluindo células que morrem nos tecidos por causa de trauma ou suprimento sanguíneo interrompido e neutrófilos que se acumulam nos locais de infecção. Esta é a parte do processo de limpeza após a infecção ou lesão tecidual. Os macrófagos também reconhecem e engolfam células apoptóticas antes que as células mortas possam liberar seus conteúdos e induzir respostas inflamatórias. Em todo o corpo e durante toda a vida de um indivíduo, as células indesejadas morrem por apoptose como parte de muitos processos fisiológicos, tais como desenvolvimento, crescimento e renovação dos tecidos saudáveis, e as células mortas são eliminadas pelos macrófagos.
- Macrófagos ativados secretam várias citocinas diferentes que agem nas células



endoteliais que recobrem os vasos sanguíneos para aumentar o recrutamento de mais monócitos e outros leucócitos do sangue para os locais de infecções, amplificando, assim, a resposta protetora contra os microrganismos. Algumas importantes citocinas derivadas de macrófagos serão discutidas no [Capítulo 4](#).

- Macrófagos servem como APCs que apresentam antígenos e ativam os linfócitos T. Esta função é importante na fase efetora das respostas imunes mediadas por células T ([Cap. 10](#)).
- Macrófagos promovem o reparo de tecidos danificados pela estimulação do crescimento de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e síntese de matriz extracelular rica em colágeno (fibrose). Estas funções são mediadas por citocinas secretadas pelos macrófagos que agem em várias células teciduais.

***Os macrófagos são ativados para realizar suas funções por meio do reconhecimento de muitos tipos diferentes de moléculas microbianas, bem como moléculas do hospedeiro produzidas em resposta a infecções e lesão.***

Estas várias moléculas ativadoras se ligam a receptores de sinalização específicos localizados na superfície ou dentro do macrófago. Exemplos destes receptores são os receptores do tipo *Toll*, que são de importância central na imunidade inata e serão discutidos em detalhes no [Capítulo 4](#). Os macrófagos também são ativados quando receptores em suas membranas plasmáticas ligam a opsoninas na superfície dos microrganismos. As opsoninas são substâncias que recobrem partículas para a fagocitose. Exemplos de receptores para opsoninas são os receptores do complemento e os receptores para anticorpo Fc, discutidos no [Capítulo 13](#). Na imunidade adaptativa, os macrófagos são ativados pelas citocinas secretadas e por proteínas de membrana nos linfócitos T, que serão abordadas no [Capítulo 10](#).

***Os macrófagos podem adquirir capacidades funcionais distintas, dependendo dos tipos de estímulos ativadores aos quais são expostos.*** O exemplo mais claro disto é a resposta dos macrófagos a diferentes citocinas produzidas pelos subgrupos de células T. Algumas destas citocinas ativam macrófagos para estes se tornarem eficientes em matar microrganismos, o que é chamado de **ativação clássica**. Outras citocinas ativam os macrófagos para promover o remodelamento e reparo tecidual, o que se denomina **ativação alternativa**. Essas diferentes vias de ativação e as citocinas envolvidas também podem assumir diferentes formas morfológicas após a ativação por estímulos externos, tais como microrganismos. Alguns desenvolvem um citoplasma abundante e são chamados de células epitelioides porque são semelhantes às células epiteliais da pele. Os macrófagos ativados podem se fundir para formar células gigantes multinucleadas.

Os macrófagos respondem tipicamente aos microrganismos mais próximos tão rapidamente quando os neutrófilos o fazem, mas os macrófagos sobrevivem por muito mais tempo nos locais de inflamação. Diferentemente dos neutrófilos, os macrófagos não são terminalmente diferenciados e podem sofrer divisão celular nos

locais de inflamação. Dessa maneira, os macrófagos são as células efetoras dominantes dos estágios finais na resposta imune inata, vários dias após uma infecção se iniciar.

## Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos

Mastócitos, basófilos e eosinófilos são três células adicionais que têm papel nas respostas imunes inata e adaptativa. Todos os três tipos de células apresentam em comum a característica de grânulos citoplasmáticos contendo vários mediadores inflamatórios e antimicrobianos. Outra característica em comum destas células é seu envolvimento nas respostas imunes que protegem contra helmintos e reações que causam doenças alérgicas. Apresentaremos as características destas células nesta seção e discutiremos suas funções em mais detalhes no [Capítulo 20](#).

### Mastócitos

***Os mastócitos são células derivadas da medula e presentes na pele e mucosa epitelial, contendo abundantes grânulos citoplasmáticos cheios de histamina e outros mediadores.*** O fator de citocina de célula-tronco (também denominado ligante c-Kit) é essencial para o desenvolvimento do mastócito.

Normalmente, os mastócitos maduros não são encontrados na circulação, mas estão presentes nos tecidos, em geral adjacentes a pequenos vasos sanguíneos e nervos ([Fig. 2-1, B](#)). Seus citoplasmas contêm numerosos grânulos ligados à membrana, que estão cheios de proteoglicanos acídicos que se ligam a corantes básicos. Os mastócitos expressam receptores de alta afinidade na membrana plasmática para um tipo de anticorpo denominado IgE e, geralmente, são recobertos com esses anticorpos. Quando os anticorpos na superfície dos mastócitos se ligam ao antígeno, eventos de sinalização são induzidos e levam à liberação dos conteúdos dos grânulos citoplasmáticos para dentro do espaço extravascular. A liberação do conteúdo do grânulo, incluindo histamina, promove mudanças nos vasos sanguíneos que causam inflamação. Os mastócitos funcionam como sentinelas nos tecidos, onde eles reconhecem produtos microbianos e respondem produzindo citocinas e outros mediadores que induzem inflamação. Estas células fornecem defesa contra helmintos e outros microrganismos, mas também são responsáveis pelos sintomas das doenças alérgicas ([Cap. 20](#)).

### Basófilos

***Basófilos são granulócitos sanguíneos com muitas similaridades estruturais e funcionais com os mastócitos.*** Assim como os granulócitos, os basófilos são derivados de progenitores da medula óssea (uma linhagem diferente da dos mastócitos), amadurecem na medula óssea e circulam no sangue. Os basófilos constituem menos de 1% dos leucócitos sanguíneos ([Tabela 2-1](#)). Embora

normalmente não estejam presentes nos tecidos, os basófilos podem ser recrutados para alguns locais inflamatórios. Os basófilos contêm grânulos que se ligam a corantes básicos (Fig. 2-1, C) e são capazes de sintetizar muitos dos mesmos mediadores dos mastócitos. Assim como os mastócitos, os basófilos expressam receptores para IgE, ligam IgE e podem ser ativados por antígeno ligado à IgE. Como o número de basófilos é pequeno nos tecidos, sua importância na defesa do hospedeiro e nas reações alérgicas é incerta.

## Eosinófilos

**Os eosinófilos são granulócitos sanguíneos que expressam grânulos citoplasmáticos contendo enzimas que são danosas às paredes celulares de parasitas, mas também podem danificar os tecidos do hospedeiro.** Os grânulos dos eosinófilos contêm proteínas básicas que ligam corantes ácidos tais como eosina (Fig. 2-1, D). Assim como os neutrófilos e basófilos, os eosinófilos são derivados da medula óssea. As citocinas GM-CSF, IL-3 e IL-5 promovem a maturação do eosinófilo a partir de precursores mieloides. Alguns eosinófilos normalmente estão presentes nos tecidos periféricos, especialmente nas coberturas mucosas dos tratos respiratório, gastrointestinal e geniturinário, e seus números podem aumentar com o recrutamento a partir do sangue em uma situação de inflamação.

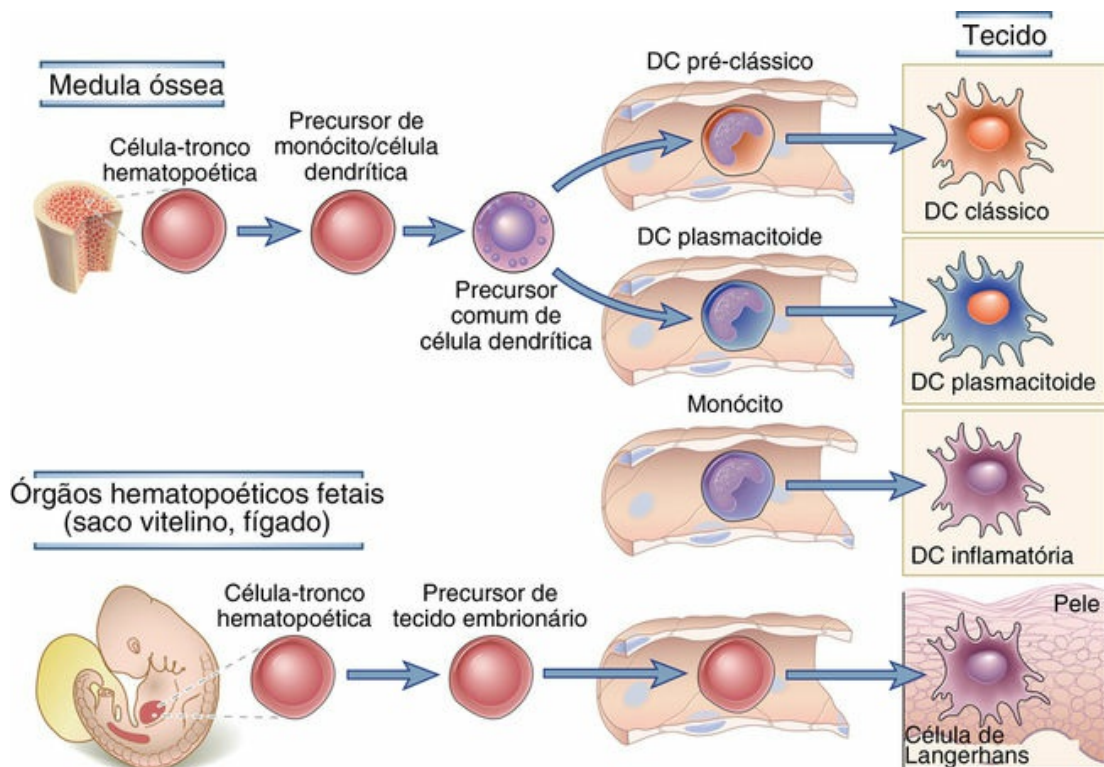
## Células Apresentadoras de Antígenos

**As células apresentadoras de antígenos (APCs) capturam microrganismos e outros antígenos, apresentam-nos aos linfócitos e fornecem sinais que estimulam a proliferação e diferenciação dos linfócitos.** Por convenção, APC normalmente se refere à célula que apresenta antígenos aos linfócitos T. O principal tipo de APC que está envolvido na iniciação das respostas da célula T é a **célula dendrítica**. Os macrófagos e células B apresentam os antígenos aos linfócitos T nas respostas imunes mediadas por células e humorais, respectivamente. Um tipo celular especializado, chamado de **célula dendrítica folicular**, apresenta antígenos aos linfócitos B durante fases particulares das respostas imunes humorais. Muitas APCs, tais como células dendríticas e macrófagos, também reconhecem e respondem aos microrganismos durante as reações imunes inatas e, assim, ligam as reações imunes inatas às respostas do sistema imune adaptativo. Em adição à introdução apresentada aqui, a função das APCs será descrita em mais detalhes no [Capítulo 6](#).

## Células Dendríticas

**As células dendríticas são as APCs mais importantes para a ativação das células T imaturas e têm papel principal nas respostas inatas às infecções e na ligação das respostas imunes inata e adaptativa.** Elas têm longas projeções membranosas e capacidades fagocítica e são amplamente distribuídas nos tecidos

linfoides, epitélio mucoso e parênquima de órgãos. A maioria das células dendríticas é parte de linhagem mieloide de células hematopoéticas e se origina de um precursor que também pode se diferenciar em monócitos, mas não em granulócitos (Fig. 2-4). A maturação das células dendríticas é dependente de uma citocina denominada ligante Flt3, que se liga ao receptor tirosinoquinase Flt3 nas células precursoras. Similarmente aos macrófagos, as células dendríticas expressam receptores que reconhecem moléculas tipicamente produzidas pelos microrganismos e não células de mamíferos, e elas respondem aos microrganismos com a secreção de citocinas.



**FIGURA 2-4** Maturação das células dendríticas.

As células dendríticas surgem de uma célula precursora comum de linhagem mieloide na medula óssea e se diferenciam em subgrupos, o principal sendo células dendríticas clássicas e células dendríticas plasmocitoides. As células dendríticas inflamatórias podem surgir como monócitos em tecidos inflamados, e algumas células dendríticas residentes em tecidos, tais como células de Langerhans na pele, podem se desenvolver a partir de precursores embrionários.

A maioria das células dendríticas na pele, mucosa e parênquima de órgãos, que são chamadas de **células dendríticas clássicas** (ou **convencionais**), responde aos microrganismos migrando para os linfonodos, onde elas apresentam antígenos

proteicos microbianos aos linfócitos T. Uma subpopulação de células dendríticas, denominadas **células dendríticas plasmocitoides**, consiste em respondedores celulares precoces à infecção viral. Elas reconhecem ácidos nucleicos de vírus intracelular e produzem proteínas solúveis chamadas de interferons tipo I, que têm potentes atividades antivirais. As populações de células dendríticas também podem ser derivadas de precursores embrionários e, durante a inflamação, dos monócitos. Discutiremos o papel das células dendríticas como mediadores da imunidade inata e como APCs nos [Caps. 4 e 6](#), respectivamente.

## Outras Células Apresentadoras de Antígeno

Em adição às células dendríticas, macrófagos e linfócitos B são importantes células apresentadoras de antígenos para as células T auxiliares  $CD4^+$ . Macrófagos apresentam antígenos para os linfócitos T auxiliares nos locais de infecção, o que leva à ativação da célula T auxiliar e produção de moléculas que ativarão os macrófagos. Este processo é importante para a erradicação de microrganismos que são ingeridos pelos fagócitos, mas resistem à morte; nestes casos, as células T auxiliares aumentam grandemente as atividades microbianas dos macrófagos. As células B apresentam antígenos às células T auxiliares, o que é um passo importante na cooperação das células T auxiliares com as células B para as respostas de anticorpos aos antígenos proteicos. Discutiremos essas funções de apresentação de antígeno dos macrófagos e células B nos [Capítulos 10 e 12](#), respectivamente.

Os linfócitos T citotóxicos (CTLs) são células T  $CD8^+$  efetoras que podem reconhecer antígenos de qualquer tipo de célula nucleada e se tornar ativados para matar a célula. Dessa maneira, todas as células nucleadas são potencialmente APCs para CTLs.

## Células Dendríticas Foliculares

As células dendríticas foliculares (FDCs) são células com projeções membranosas encontradas entremeadas em coleções de células B ativadas nos folículos linfóides de linfonodos, baço e tecidos linfóides mucosos. As FDCs não são derivadas de precursores na medula óssea e não estão relacionadas com as células dendríticas que apresentam antígenos aos linfócitos T. As FDCs ligam e apresentam antígenos proteicos em suas superfícies para o reconhecimento pelos linfócitos B. Isso é importante para a seleção dos linfócitos B que expressam anticorpos que ligam antígenos com alta afinidade ([Cap. 12](#)). As FDCs também contribuem para a organização estrutural dos folículos (ver adiante).

## Linfócitos

***Os linfócitos, as únicas células da imunidade adaptativa, são as células***

**exclusivas no corpo que expressam receptores de antígenos clonalmente expressos, cada um específico para um determinante antigênico diferente.**

Cada clone de linfócitos T e B expressa receptores de antígenos com uma única especificidade, que é diferente das especificidades dos receptores em outros clones. Assim, os receptores de antígenos nestes linfócitos são clonalmente distribuídos. Como abordaremos aqui e em capítulos posteriores, existem milhões de clones de linfócitos no corpo, permitindo que o organismo reconheça e responda aos milhões de antígenos estranhos.

O papel do linfócito em mediar a imunidade adaptativa foi estabelecido em várias linhas de evidência acumuladas ao longo de décadas de pesquisas. Uma das primeiras pistas surgiu da observação de que humanos com estados de deficiência imune congênita ou adquirida apresentam números reduzidos de linfócitos na circulação periférica e nos tecidos linfoides. Experimentos realizados principalmente com camundongos mostraram que a imunidade protetora contra microrganismos pode ser adaptativamente transferida de animais imunizados para imaturos somente por linfócitos ou seus produtos secretados. Experimentos *in vitro* estabeleceram que a estimulação de linfócitos com antígenos leva a respostas que mostram muitas das características das respostas imunes induzidas sob condições mais fisiológicas *in vivo*. Após a identificação dos linfócitos como os mediadores da imunidade humoral e celular, muitas descobertas foram rapidamente feitas sobre os diferentes tipos de linfócitos, suas origens na medula óssea e timo, seus papéis nas diferentes respostas imunes e as consequências de sua ausência. Entre os achados mais importantes, está o fato de que receptores clonalmente distribuídos, altamente diversos e específicos para antígenos são produzidos pelos linfócitos, mas não por quaisquer outros tipos de células. Durante as últimas três décadas, uma enorme quantidade de informação se acumulou sobre os genes, proteínas e funções de linfócitos. Provavelmente agora sabemos mais sobre linfócitos do que a respeito de qualquer outra célula em toda a biologia.

Uma das questões mais interessantes sobre os linfócitos era como o repertório extremamente diverso de receptores de antígenos com diferentes especificidades é gerado a partir de um pequeno número de genes para esses receptores que estão presentes na linha germinativa. Agora é conhecido que os genes que codificam os receptores de antígenos dos linfócitos são formados pela recombinação de segmentos de DNA durante a maturação destas células. Existe um aspecto randômico destes eventos de recombinação somática que resulta na geração de milhões de diferentes genes de receptores e um repertório altamente diverso de especificidades antigênicas dentre os diferentes clones de linfócitos (Cap. 8).

O número total de linfócitos em um adulto saudável é de cerca de  $5 \times 10^{11}$ . Destes, ~2% estão no sangue, ~4% na pele, ~10% na medula óssea, ~15% nos tecidos linfoides mucosos dos tratos gastrointestinal e respiratório e ~65% nos órgãos linfoides (principalmente baço e linfonodos). Descreveremos primeiramente as propriedades



destas células e, então, suas organizações em vários tecidos linfoides.

## **Subgrupos de Linfócitos**

**Os linfócitos consistem em subgrupos distintos que são diferentes em suas funções e produtos proteicos** (Tabela 2-2). As principais classes de linfócitos foram introduzidas no [Capítulo 1](#) (Fig. 1-5). Morfologicamente, todos os linfócitos são similares e suas aparências não refletem sua heterogeneidade ou suas diversas funções. Os **linfócitos B**, as células que produzem os anticorpos, foram assim chamados porque, em pássaros, elas foram encontradas maduras em um órgão denominado bursa de Fabricius. Em mamíferos, não existe nenhum equivalente anatômico da bursa e os estágios iniciais da maturação da célula B ocorrem na medula óssea. Assim, os *linfócitos B* agora se referem aos linfócitos derivados da medula óssea. Os **linfócitos T**, os mediadores da imunidade celular, surgem na medula óssea e migram para e amadurecem no timo; os *linfócitos T* se referem aos linfócitos derivados do timo.

## Tabela 2-2

### Classes de Linfócitos

Classes	Funções	Receptor de Antígeno e Especificidade	Marcadores de Fenótipo Selecionado	Porcentagem de Linfócitos Totais <sup>*</sup>		
				Sangue	Linfonodo	Baço
Linfócitos T $\alpha\beta$						
Linfócitos T auxiliares CD4 <sup>+</sup>	Diferenciação de célula B (imunidade humoral) Ativação de macrófago (imunidade mediada por célula) Estimulação da inflamação	Heterodímeros $\alpha\beta$ Especificidades diversas para complexos MHC de classe II-peptídeo	CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>-</sup>	35-60 <sup>**</sup>	50-60	50-60
Linfócitos T citotóxicos CD8 <sup>+</sup>	Morte de células infectadas com vírus ou bactérias intracelulares	Heterodímeros $\alpha\beta$ Especificidades diversas para complexos MHC de classe II-peptídeo	CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>-</sup> , CD8 <sup>+</sup>	15-40	15-20	10-15
Células T regulatórias	Suprime a função de outras células T (regulação das respostas imunes, manutenção da autotolerância)	Heterodímeros $\alpha\beta$ Específico para os próprios antígenos e alguns antígenos estranhos (complexos MHC de classe II-peptídeo)	CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup> (mais comum, mas também outros fenótipos)	Raro	10	10
Células NKT	Suprimem ou ativam as respostas imunes inata e adaptativa	Heterodímeros $\alpha\beta$ Especificidade limitada para complexos glicolípido-CD1	CD56, CD16 (receptor Fc para IgG), CD3	5-30	Raro	10
Linfócitos T $\gamma\delta$	Funções auxiliares e citotóxicas (imunidade inata)	Heterodímeros $\gamma\delta$ Especificidade limitada para antígenos peptídicos e não peptídicos	CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>-</sup> variável	Raro	Raro	Raro
Linfócitos B						
Células B foliculares	Produção de anticorpo (imunidade humoral)	Ig de superfície Especificidades diversas para muitos tipos de moléculas	Receptores Fc, MHC de classe II, CD19, CD23	5-20	20-25	40-45
Células B da zona marginal	Produção de anticorpo (imunidade humoral)	Ig de superfície Especificidade limitada para um grupo restrito de moléculas	IgM, CD27	2-3	3-5	7-10

Esta tabela resume as principais propriedades dos linfócitos do sistema imune adaptativo. Não estão incluídas as células NK e outras células linfoides inatas, que serão discutidas no [Capítulo 4](#).

Ig, imunoglobulina; MHC, complexo maior de histocompatibilidade.

\* As percentagens são aproximações, baseadas em dados de sangue periférico humano e órgãos linfoides murinos.

\*\* Na maioria dos casos, a razão de CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup> para CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup> é de cerca de 2:1.

Os subgrupos de linfócitos B e T existem com características fenotípicas e funcionais diferentes. Os principais subgrupos de células B são as células B foliculares, as células B da zona marginal e as células B-1, cada qual encontrada em localizações anatômicas distintas dentro dos tecidos linfoides. As células B foliculares expressam grupos de anticorpos altamente diversos e clonalmente distribuídos que servem como receptores de superfície para antígenos e como moléculas efetoras secretadas e importantes na imunidade humoral adaptativa. Em contrapartida, as células B-1 e B da zona marginal produzem anticorpos com diversidade muito limitada.

Os dois subgrupos principais de célula T são os linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> e os CTLs CD8<sup>+</sup>, que expressam receptores para antígenos denominados receptores  $\alpha\beta$



de célula T (TCRs) e agem como mediadores da imunidade celular. As células T regulatórias CD4<sup>+</sup> constituem um terceiro subgrupo de células T que expressam receptores αβ; sua função é inibir as respostas imunes. Além disso, as células NKT e as células T γδ são dois subgrupos numericamente menores de células T que expressam TCRs com diversidade limitada, análogos aos anticorpos produzidos pelas células B-1. As funções destas classes de células B e T serão discutidas em capítulos posteriores.

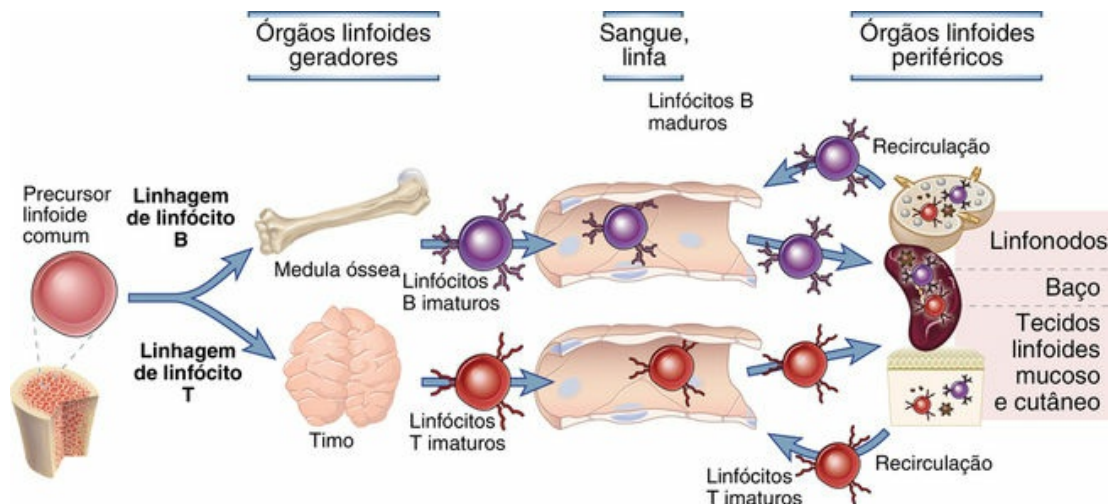
**A expressão de várias proteínas na membrana é usada para distinguir populações distintas de linfócitos (Tabela 2-2).** Por exemplo, a maioria das células T auxiliares expressa uma proteína de superfície denominada CD4 e a maior parte das CTLs expressa uma proteína de superfície diferente e chamada de CD8. Estas e muitas outras proteínas de superfície frequentemente são chamadas de marcadores, porque elas identificam e discriminam entre (marcam) diferentes populações celulares. Estes marcadores não somente delineiam as diferentes classes de linfócitos, mas também têm muitas funções nos tipos celulares nos quais eles são expressos. A forma mais comum para determinar se um marcador fenotípico de superfície se expressa em uma célula é testar se os anticorpos específicos para o marcador se ligam na célula. Neste contexto, os anticorpos são usados pelos investigadores ou médicos como ferramentas analíticas. Existem disponíveis centenas de diferentes preparações de anticorpos puros, chamados de anticorpos monoclonais, cada qual específico para uma molécula diferente e marcado com indicadores que podem ser facilmente detectados nas superfícies celulares com o uso de instrumentos apropriados. (Anticorpos monoclonais são descritos no [Capítulo 5](#), e os métodos para detectar os anticorpos marcados e ligados às células são mostrados no Apêndice IV.) A nomenclatura do agrupamento de diferenciação (CD, do inglês *cluster of differentiation*) é um método uniforme e amplamente adotado para a denominação das moléculas da superfície celular que são características de uma linhagem celular em particular ou diferenciam estágios, têm uma estrutura definida e são reconhecidas por um grupo de anticorpos monoclonais. Assim, todas as moléculas estruturalmente definidas da superfície celular recebem a denominação CD com designação numérica (p. ex., CD1, CD2). Embora originalmente pensados para definir os subtipos de leucócitos, os marcadores CD são encontrados em todos os tipos celulares do corpo. O Apêndice III fornece uma lista dos marcadores CD dos leucócitos que são mencionados neste livro.

## **Desenvolvimento dos Linfócitos**

Após o nascimento, os linfócitos, assim como as células sanguíneas, surgem a partir das células-tronco na medula óssea. A origem dos linfócitos a partir dos progenitores da medula óssea foi primeiramente demonstrada por experimentos com quimeras de medula óssea induzidas por radiação. Os linfócitos e seus precursores são radiosensíveis e mortos por altas doses de radiação γ. Se um camundongo de uma

linhagem for irradiado e, então, injetado com células da medula óssea ou pequeno número de células-tronco hematopoéticas de outra linhagem que possa ser distinta do hospedeiro, todos os linfócitos que se desenvolverem subsequentemente serão derivados das células da medula óssea ou células-tronco hematopoéticas do doador. Tais procedimentos têm sido úteis para o exame de maturação de linfócitos e outras células sanguíneas.

Todos os linfócitos passam por complexos estágios de maturação, durante os quais eles expressam receptores de antígenos e adquirem as características funcionais e fenotípicas de células maduras (Fig. 2-5). Os locais anatômicos onde ocorrem os principais passos no desenvolvimento do linfócito são chamados de órgãos linfoides geradores. Estes incluem a medula óssea, onde precursores de todos os linfócitos surgem e as células B amadurecem, e o timo, onde as células T amadurecem. Abordaremos em mais detalhes os processos da maturação dos linfócitos B e T no [Capítulo 8](#). Estas células B e T maduras são chamadas de **linfócitos imaturos**. Os linfócitos imaturos são funcionalmente quiescentes, mas, após ativação pelo antígeno, eles proliferam e sofrem dramáticas alterações na atividade fenotípica e funcional.



**FIGURA 2-5** Maturação dos linfócitos.

Os linfócitos se desenvolvem a partir de células-tronco da medula óssea, amadurecem nos órgãos linfoides geradores (medula óssea e timo para células B e T, respectivamente) e, então, circulam através do sangue aos órgãos linfoides secundários (linfonodos, baço e tecidos linfoides regionais, tais como tecidos linfoides associados à mucosa). As células T completamente maduras deixam o timo, mas as células B imaturas deixam a medula óssea e completam seu amadurecimento nos órgãos linfoides secundários. Os linfócitos imaturos podem responder aos antígenos estranhos nestes tecidos linfoides secundários ou retornar pela drenagem linfática ao sangue e recircular através de outros órgãos linfoides secundários.

## Populações de Linfócitos Diferenciados pela História de Exposição ao Antígeno

*Os linfócitos imaturos que emergem da medula óssea ou do timo migram para os órgãos linfoides periféricos, onde são ativados pelos antígenos para proliferar e se diferenciar em células efetoras e de memória, algumas das quais então migram para os tecidos (Fig. 2-6 e Tabela 2-3).* A ativação dos linfócitos segue uma série de etapas sequenciais que se iniciam com a síntese de novas proteínas, tais como receptores de citocinas e citocinas, que são necessárias para muitas das alterações subsequentes. As células imaturas passam então a proliferar, resultando em tamanho aumentado dos clones específicos para o antígeno, um processo chamado de **expansão clonal**. Em algumas infecções, os números de células T infectadas pelo microrganismo pode aumentar mais de 50 mil vezes, e o número de células B específicas pode aumentar até 5 mil vezes. Esta rápida expansão clonal dos linfócitos específicos para microrganismos é necessária para

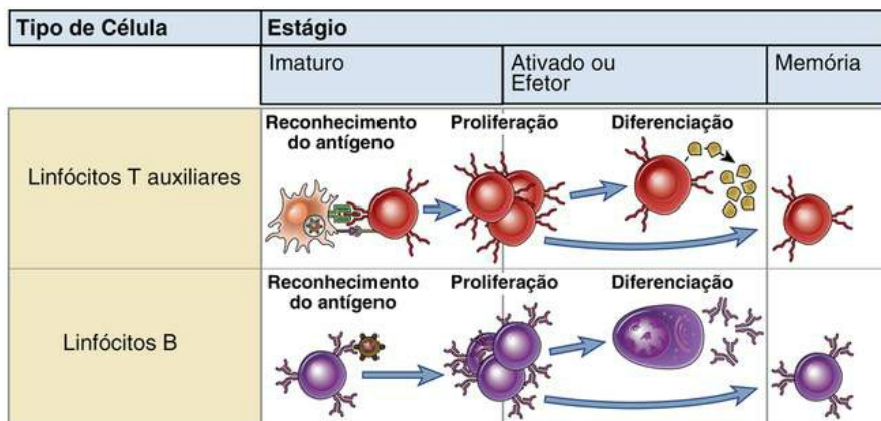
manter o ritmo com a habilidade dos microrganismos de rapidamente replicarem. Em paralelo com a expansão clonal, os linfócitos estimulados por antígeno se diferenciam em **células efectoras** cujas funções são eliminar o antígeno. Outra progênie dos linfócitos B e T estimulados por antígeno se diferencia em **células de memória** de vida longa, cuja função é mediar respostas rápidas e aumentadas (i.e., secundárias) a subsequentes exposições aos antígenos. Misturas de linfócitos imaturos, efetores e de memória sempre estão presentes em vários locais por todo o corpo, e estas populações podem ser diferenciadas por meio de vários critérios funcionais e fenotípicos ([Tabela 2-3](#)).

---

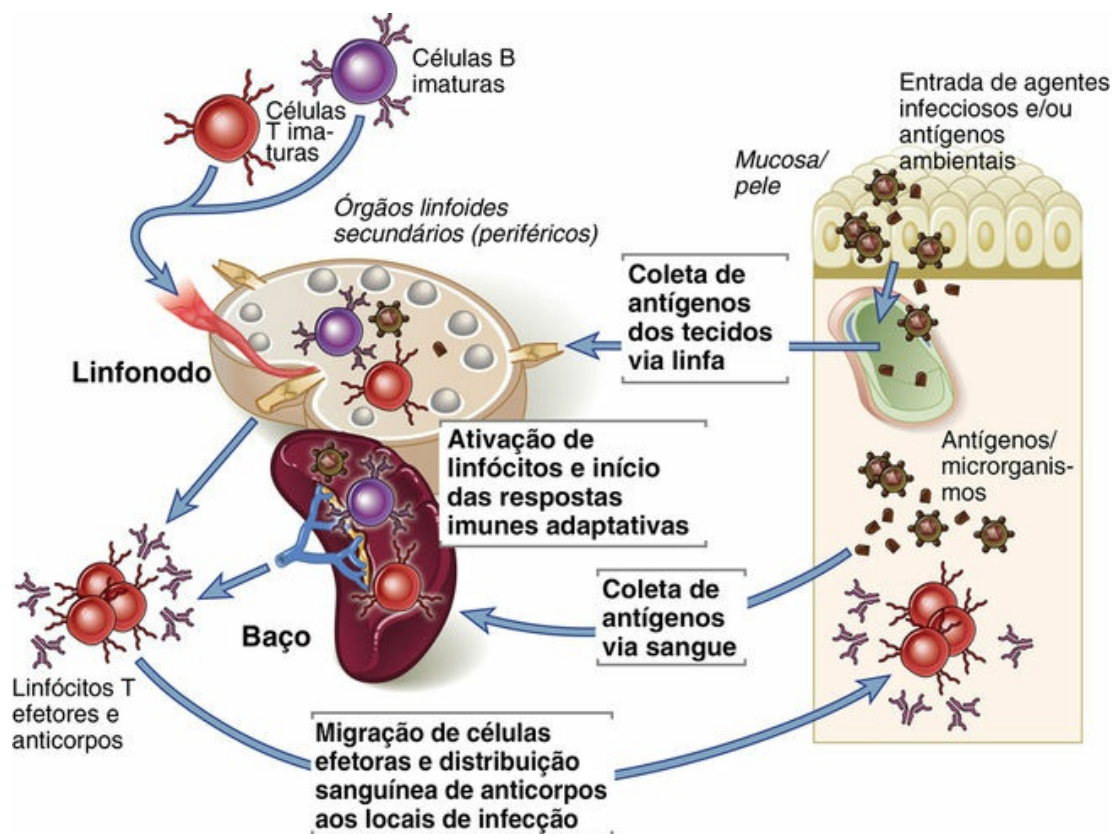
### **Tabela 2-3**

#### **Características dos Linfócitos Imaturos, Efetores e de Memória**

---



	Imaturo	Ativado ou Efetor	Memória
<b>Linfócitos T</b>			
Migração	Preferencialmente aos órgãos linfóides secundários	Preferencialmente aos tecidos inflamados	Preferencialmente aos tecidos inflamados, tecidos mucosos
Frequência de células responsivas ao antígeno em particular	Muito baixa	Alta	Baixa
Ciclagem celular	Não	Sim	+/-
Expressão de proteína de superfície			
IL-2R (CD25)	Baixa	Alta	Variável
L-selectina (CD62L)	Alta	Baixa	Alta
IL-7R (CD127)	Moderadamente alta	Baixa	Alta
Moléculas de adesão: integrinas, CD44	Baixa	Alta	Alta
Receptor de quimiocina: CCR7	Alta	Baixa	Variável
Principal isoforma de CD45 (somente humanos)	CD45RA	CD45RO	CD45RO, variável
Morfologia	Pequena; citoplasma escasso	Grande; mais citoplasma	pequeno
<b>Linfócitos B</b>			
Isotipo de imunoglobulina de membrana (Ig)	IgM e IgD	Frequentemente IgG, IgA, IgE	Frequentemente IgG, IgA, IgE
Afinidade para Ig produzida	Relativamente baixa	Aumenta durante a resposta imune	Relativamente alta
Função efetora	Nenhuma	Secreção de anticorpo	Nenhuma
Morfologia	Pequena; citoplasma escasso	Grande; mais citoplasma; plasmócito	Pequena
Expressão de proteína de superfície			
Receptor de quimiocina: CXCR5	Alta	Baixa	?
CD27	Baixa	Alta	Alto



**FIGURA 2-6** Etapas na ativação do linfócito.

As células T imaturas que emergem do timo e as células B imaturas que emergem da medula óssea migram para órgãos secundários linfoides, incluindo linfonodos e baço. Nestas localizações, as células B completam sua maturação; células B e T imaturas ativadas pelos antígenos se diferenciam em linfócitos efetores e de memória. Alguns linfócitos efetores e de memória migram para tecidos periféricos, locais de infecção. Anticorpos secretados pelas células B efetoras nos linfonodos, no baço e na medula óssea (não mostrados) entram no sangue e são distribuídos aos locais de infecção.

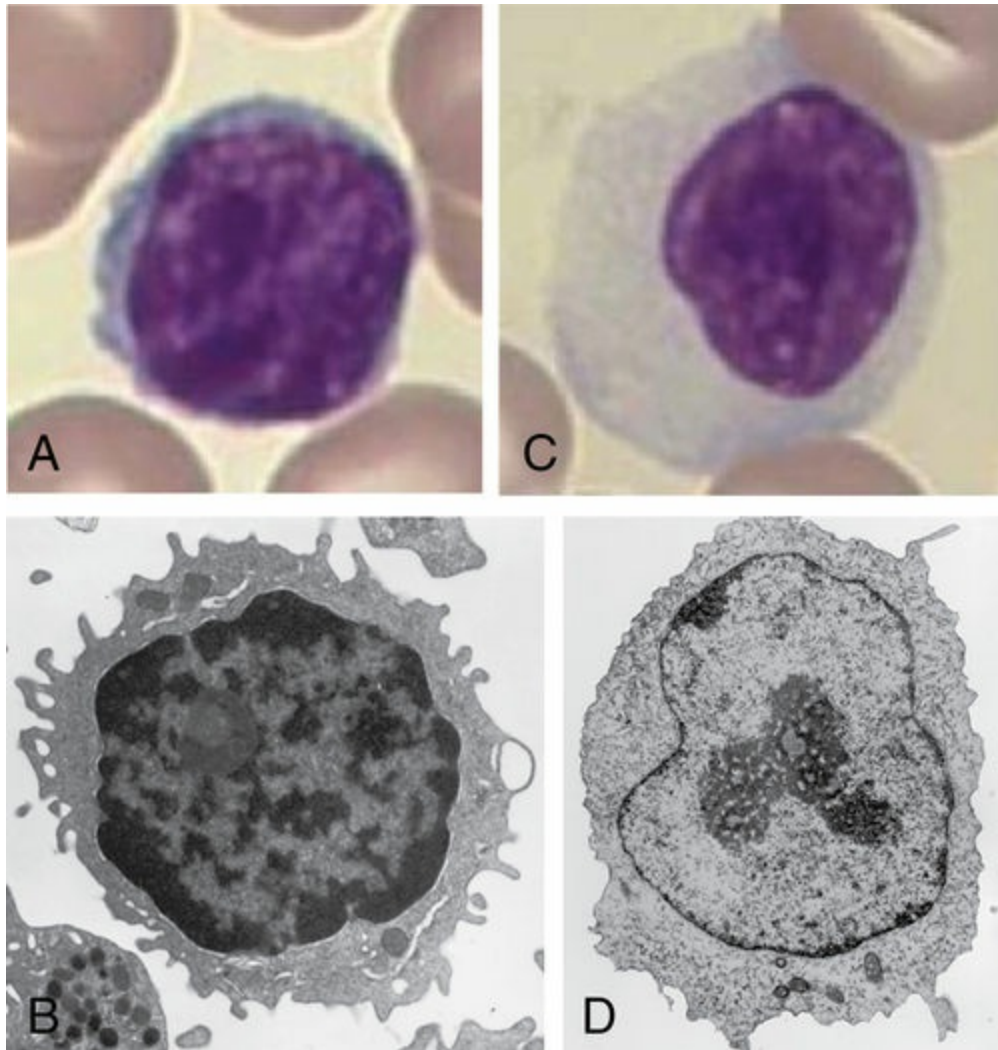
Os detalhes da ativação e diferenciação do linfócito, bem como as funções de cada uma das subpopulações, serão discutidos mais adiante neste livro. Aqui resumiremos as características fenotípicas de cada população.

### Linfócitos Imaturos

Os linfócitos imaturos são células T ou B maduras situadas nos órgãos linfoides periféricos e circulação e que nunca encontraram antígeno estranho. (O termo *imatur* se refere à ideia de que estas células são imunologicamente inexperientes porque elas nunca encontraram um antígeno.) Os linfócitos imaturos morrem

tipicamente após 1 a 3 meses se não reconhecerem antígenos. Os linfócitos imaturos e de memória são ambos chamados de linfócitos em repouso porque eles não estão ativamente em divisão, nem realizam funções efetoras. Linfócitos B e T imaturos (e de memória) não são facilmente diferenciados morfológicamente, e ambos são frequentemente denominados como linfócitos pequenos quando observados em esfregaço sanguíneo. Um linfócito pequeno tem 8 a 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro e possui um núcleo grande com heterocromatina densa e um fino anel de citoplasma que contém pouca mitocôndria, ribossomos e lisossomas, mas nenhuma organela especializada visível (Fig. 2-7). Antes da estimulação antigênica, os linfócitos imaturos estão em estado de repouso, ou em um estágio  $G_0$  do ciclo células. Em resposta à estimulação, eles entram no estágio  $G_1$  do ciclo celular antes de se dividirem. Os linfócitos ativados são maiores (10 a 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro), contêm mais citoplasma e organelas e quantidade aumentada de RNA citoplasmático, e são chamados de linfócitos grandes ou linfoblastos (Fig. 2-7).





**FIGURA 2-7** Morfologia dos linfócitos.

**A**, Micrografia de luz de um linfócito em um esfregaço de sangue periférico. (Cortesia de Jean Shafer, Department of Pathology, University of California, San Diego. Copyright 1995-2008, Carden Jennings Publishing Co., Ltd.) **B**, Micrografia eletrônica de um pequeno linfócito. (Cortesia de Dr. Noel Weidner, Department of Pathology, University of California, San Diego.) **C**, Micrografia de luz de um linfócito grande (linfoblasto). (Cortesia de Jean Shafer, Department of Pathology, University of California, San Diego. Copyright 1995-2008, Carden Jennings Publishing Co., Ltd.) **D**, Micrografia eletrônica de um linfócito grande (linfoblasto). (Cortesia de Fawcett DW: *Bloom and Fawcett: a textbook of histology*, 12th ed, New York, 1994, Chapman & Hall. With kind permission of Springer Science and Business Media.).

A sobrevivência dos linfócitos imaturos depende de sinais gerados pelos



receptores de antígenos e pelas citocinas. É postulado que o receptor de antígeno das células B imaturas gera sinais de sobrevivência mesmo na ausência de antígeno. Os linfócitos T imaturos reconhecem rapidamente vários dos próprios antígenos, o que é suficiente para gerar sinais de sobrevivência, mas sem disparar os sinais mais fortes que são necessários para iniciar a expansão clonal e diferenciação em células efetoras. A necessidade de expressão de receptor para antígeno para a manutenção do grupo de linfócitos imaturos nos órgãos linfoides periféricos foi demonstrada em estudos com camundongos nos quais os genes que codificam os receptores de antígenos das células B ou células T foram deletados após a maturação dos linfócitos. Nestes estudos, os linfócitos imaturos que perderam seus receptores de antígeno morreram dentro de 2 a 3 semanas.

As citocinas também são essenciais para a sobrevivência de linfócitos imaturos, e as células B e T expressam receptores para estas citocinas. As mais importantes destas citocinas são a interleucina-7 (IL-7), que promove a sobrevivência e, talvez, baixo nível de ciclagem das células T, e o fator de ativação da célula B (BAFF), uma citocina pertencente à família do TNF, que é necessária para a sobrevivência de células B imaturas.

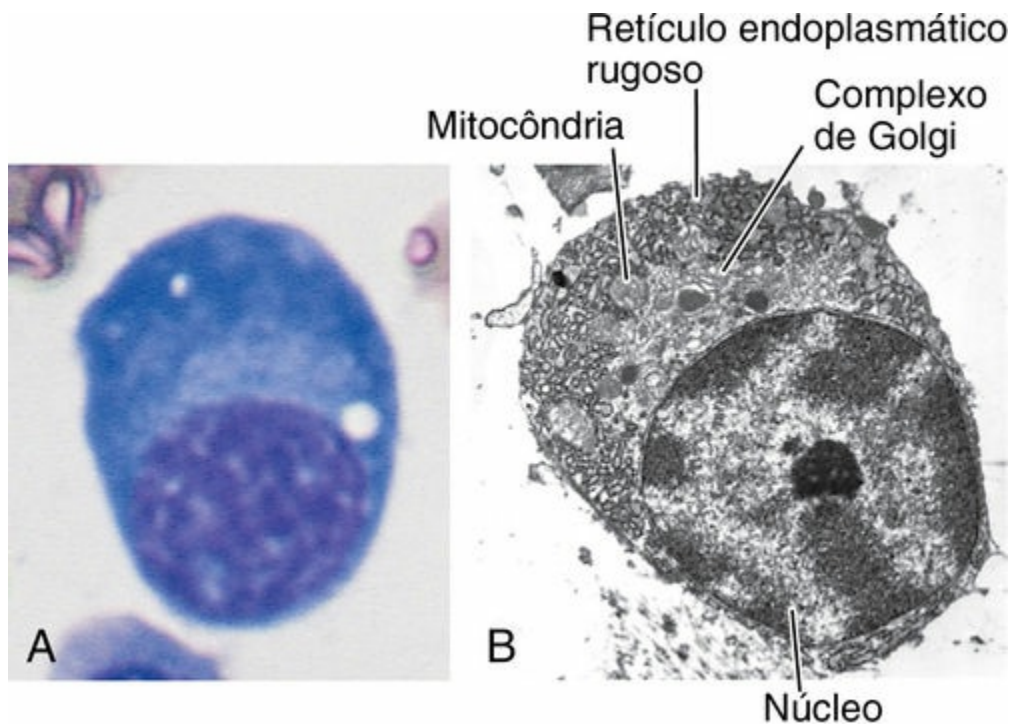
No estado de equilíbrio, o conjunto de linfócitos imaturos é mantido a um número constante por causa do balanço entre a morte espontânea destas células e a produção de novas células nos órgãos linfoides geradores. Qualquer perda de linfócitos leva à proliferação compensatória dos remanescentes e ao aumento na saída dos órgãos geradores. Uma demonstração da habilidade da população de linfócitos em preencher o espaço disponível é o fenômeno da proliferação homeostática. Se as células imaturas são transferidas para um hospedeiro que é deficiente em linfócitos (dito ser linfopênico), os linfócitos transferidos começam a proliferar e aumentam em número até atingir aproximadamente os números de linfócitos nos animais normais. Este processo ocorre na situação clínica de transplante de célula-tronco hematopoética para o tratamento de certos tumores e em doenças genéticas. A proliferação homeostática parece ser direcionada pelos mesmos sinais – fraco reconhecimento dos próprios antígenos e citocinas, principalmente IL-7 – que são necessários para a manutenção dos linfócitos imaturo.

## Linfócitos Efetores

Após os linfócitos imaturos serem ativados, eles se tornam maiores e começam a proliferar. Algumas destas células se diferenciam em linfócitos efetores que têm a habilidade de produzir moléculas capazes de eliminar antígenos estranhos. Os linfócitos T efetores incluem as células auxiliares e os CTLs, e os linfócitos B são células secretoras de anticorpos, incluindo plasmócitos. As células T auxiliares, que normalmente são CD4<sup>+</sup>, expressam moléculas de superfície, tais como ligante CD40 (CD154), e secretam citocinas que se ligam aos receptores nos macrófagos e linfócitos B, levando à sua ativação. Os CTLs possuem grânulos citoplasmáticos

cheios de proteínas que, quando liberadas, matam as células que os CTLs reconhecem, que normalmente são infectadas com vírus ou células tumorais. Ambas as células T efectoras  $CD4^+$  e  $CD8^+$  normalmente expressam proteínas de superfície indicativas de ativação recente, incluindo CD25 (um componente do receptor para o fator de crescimento de célula T IL-2) e padrões alterados de moléculas de adesão (selectinas e integrinas, discutidas no [Capítulo 3](#)). A maioria dos linfócitos T efetores diferenciados são de vida curta e não têm autorrenovação.

Muitas células B secretoras de anticorpos são morfológicamente identificáveis como **plasmócitos**. Elas têm núcleo característico posicionado excentricamente na célula e com a cromatina distribuída em torno da membrana nuclear em um padrão de roda de carroça; citoplasma abundante contendo retículo endoplasmático rugoso denso é o local onde os anticorpos (e outras proteínas secretadas e de membrana) são sintetizados e complexos de Golgi perinuclear distintos, onde as moléculas de anticorpo são convertidas às suas formas finais e preparadas para a secreção ([Fig. 2-8](#)). É estimado que metade ou mais do RNA mensageiro nestas células codifica para proteínas de anticorpos e um único plasmócito pode secretar milhões de moléculas de anticorpos por segundo. Os plasmócitos se desenvolvem nos órgãos linfóides e em locais das respostas imunes, e alguns deles migram para a medula óssea, onde podem viver e secretar anticorpos por longos períodos após a resposta imune ser induzida e mesmo após o antígeno ser eliminado. Os **plasmoblastos**, que são precursores circulantes de plasmócitos de vida longa, podem ser encontrados em baixo número no sangue.



**FIGURA 2-8** Morfologia dos plasmócitos.  
**A**, Micrografia de luz de um plasmócito no tecido. **B**,  
 Micrografia eletrônica de um plasmócito. (Cortesia de Dr. Noel  
 Weidner, Department of Pathology, University of California, San  
 Diego.)

### Linfócitos de Memória

As células de memória podem sobreviver em um estado funcionalmente quiescente ou com ciclo lento por meses ou anos, sem a necessidade de estimulação pelo antígeno e presumivelmente após o antígeno ser eliminado. Elas podem ser identificadas pela expressão de proteínas de superfície que as distinguem dos linfócitos imaturos e dos linfócitos efetores recentemente ativados, embora não seja claro quais proteínas de superfície são os marcadores definitivos das populações de memória (Tabela 2-3). As células T de memória, assim como as células T imaturas, mas não as efetoras, expressam altos níveis de receptor para IL-7 (CD127). As células T de memória também expressam moléculas de superfície que promovem sua migração para os locais de infecção em qualquer local do corpo (Cap. 3). Em humanos, a maioria das células T imaturas expressa uma isoforma de 200-kD de uma molécula de superfície chamada de CD45, que contém um segmento codificado por um éxon designado A, sendo assim denominada CD45RA (para A restrito). Em contrapartida, a maioria das células T ativadas e de memória expressa uma isoforma de 180-kD da CD45 na qual o RNA do éxon A foi retirado; esta isoforma é chamada de CD45RO. Entretanto, esta maneira de distinguir as células T imaturas das de memória não é perfeita e a interconversão entre as populações CD45RA<sup>+</sup> e

CD45RO<sup>+</sup> foi documentada.

Os linfócitos B de memória podem expressar certas classes (isotipos) de Ig de membrana, tais como IgG, IgE ou IgA, como resultado da troca de isotipo, ao passo que as células B imaturas expressam somente IgM e IgD (Caps. 5 e 12). Em humanos, a expressão de CD27 é um marcador para as células B de memória.

As células B parecem ser heterogêneas e existem subgrupos que diferem especialmente no que diz respeito à sua localização e propriedades migratórias. As células T e B de memória serão mais discutidas nos Capítulos 9 e 12, respectivamente.

As características que distinguem os linfócitos imaturos, efetores e de memória refletem diferentes programas de expressão gênica que são regulados por fatores de transcrição e por alterações epigenéticas estáveis, incluindo metilação e acetilação de histona e remodelamento da cromatina. Por exemplo, o fator de transcrição denominado fator 2 do tipo Kruppel (KLF-2) é necessário para a manutenção do fenótipo da célula T imatura. Os fenótipos dos diferentes tipos funcionais de células T efectoras CD4<sup>+</sup>, chamados de células T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17, dependem dos fatores de transcrição T-bet, GATA-3 e ROR $\gamma$ T, respectivamente, assim como alterações epigenéticas no locus do gene de citocina (Cap. 10). Outros fatores de transcrição são necessários para a manutenção dos fenótipos das células B e T. Nossa compreensão sobre os determinantes moleculares do fenótipo do linfócito ainda é incompleta e está em evolução.

## Células Linfoides Inatas

***As células linfoides inatas (ILCs) incluem vários subgrupos evolucionariamente relacionados de células derivadas da medula óssea com morfologia linfoide e funções efectoras similares àquelas das células T, mas sem receptores de antígeno da célula T.*** As principais funções das ILCs são fornecer defesa inicial contra patógenos infecciosos, reconhecer células estressadas e danificadas do hospedeiro e auxiliar na eliminação destas células e influenciar a natureza da resposta imune adaptativa subsequente.

As primeiras e mais bem caracterizadas células linfoides inatas são as células assassinas naturais (NK, do inglês *natural killer*), que secretam a citocina IFN- $\gamma$  e matam células infectadas e danificadas e secretam IFN- $\gamma$ , uma citocina também produzida pelo subgrupo T<sub>H</sub>1 das células T efectoras CD4<sup>+</sup>. Descreveremos as células NK mais detalhadamente no Capítulo 4. Outros subgrupos de células linfoides inatas secretam citocinas que também são produzidas por certos subgrupos de células T auxiliares CD4<sup>+</sup>, incluindo IL-5, IL-13, IL-17 e IL-22. As funções dessas citocinas são descritas no Capítulo 10, quando discutiremos as funções efectoras das

células T CD4<sup>+</sup>. As células indutoras de tecidos linfoides são um subgrupo de ILCs que produzem as citocinas linfotoxina e TNF e são essenciais para a formação de tecidos linfoides secundários organizados, descritos mais adiante neste capítulo.

## Anatomia e funções dos tecidos linfoides

Para otimizar as interações celulares necessárias para o reconhecimento do antígeno e ativação do linfócito nas respostas imunes adaptativas, os linfócitos e APCs estão localizados e concentrados em tecidos ou órgãos anatomicamente definidos, que também são os locais para onde os antígenos estranhos são transportados e concentrados. Tal compartimentalização anatômica não é fixa porque, como discutiremos no [Capítulo 3](#), muitos linfócitos recirculam constantemente e trocam entre a circulação e os tecidos.

***Os tecidos linfoides são classificados como órgãos geradores, também denominados órgãos linfoides primários ou centrais, onde os linfócitos primeiro expressam os receptores de antígenos e atingem a maturidade fenotípica e funcional, e órgãos periféricos, também chamados de órgãos linfoides secundários, onde as respostas dos linfócitos aos antígenos estranhos são iniciadas e se desenvolvem (Fig. 2-5).*** Incluso nos órgãos linfoides geradores de mamíferos adultos, estão a medula óssea e o timo, os locais de maturação das células B e células T, respectivamente. Os linfócitos B parcialmente maduros na medula óssea entram na circulação, ocupam os órgãos linfoides secundários, incluindo baço e linfonodos, e completam sua maturação principalmente no baço. Os linfócitos T amadurecem no timo e, então, entram na circulação e povoam os órgãos linfoides periféricos e tecidos. Duas importantes funções compartilhadas pelos órgãos geradores são fornecer fatores de crescimento e outros sinais moleculares necessários para a maturação do linfócito e apresentar os próprios antígenos para o reconhecimento e seleção dos linfócitos em maturação ([Cap. 8](#)).

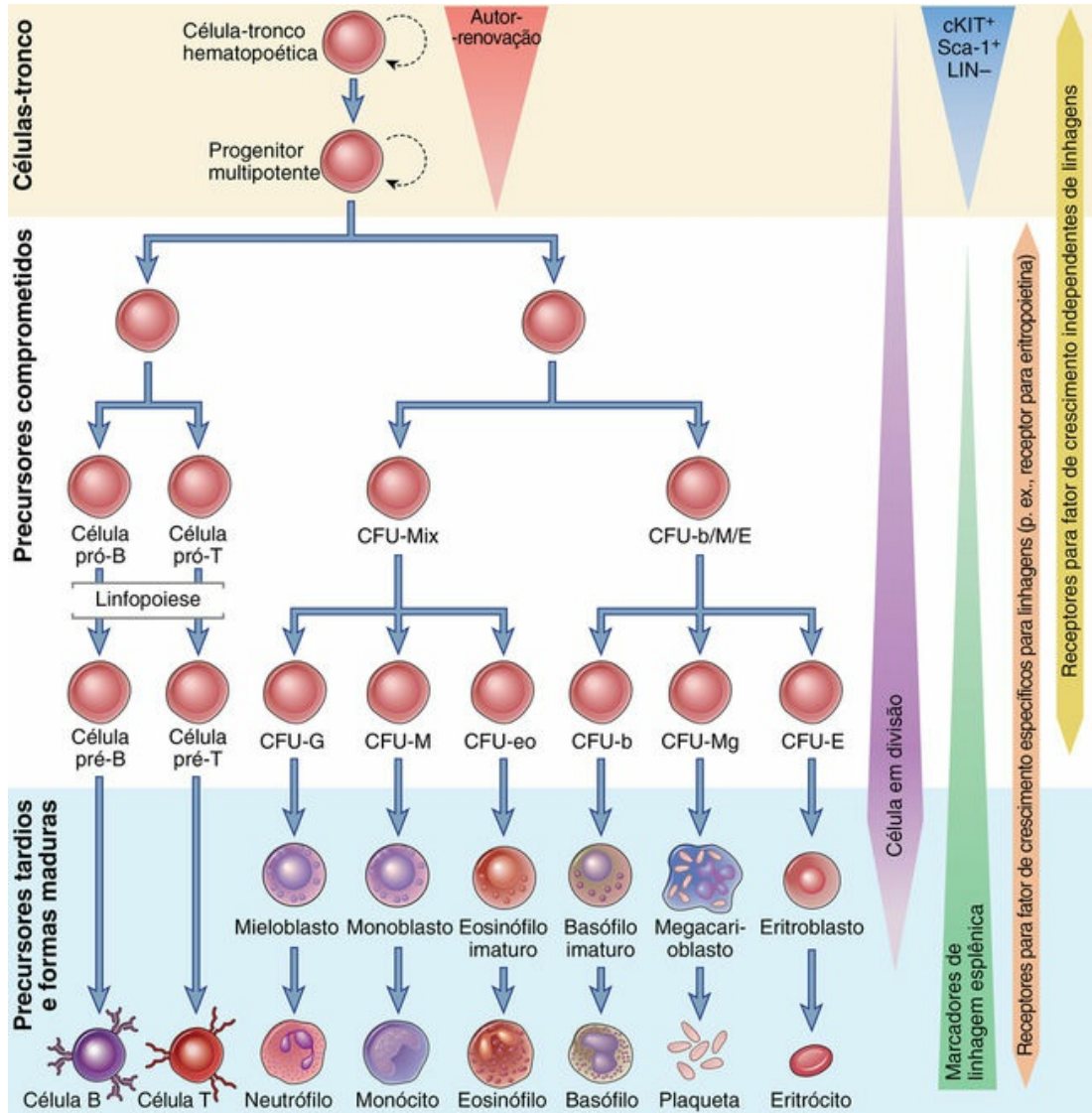
Os tecidos linfoides periféricos incluem linfonodos, baço, sistema imune cutâneo e sistema imune mucoso. Além disso, agregados de linfócitos fracamente definidos são encontrados nos tecidos conectivos e na maioria dos órgãos. Todos os órgãos linfoides periféricos também compartilham funções comuns, incluindo a liberação de antígenos e a resposta dos linfócitos imaturos à mesma localização, de tal forma que as respostas imunes adaptativas possam ser iniciadas, e uma organização anatômica que permita que as células T e células B interajam cooperativamente.

## Medula Óssea

***A medula óssea é o local de geração da maioria das células sanguíneas maduras circulantes, incluindo hemácias, granulócitos e monócitos, e o local***

**dos eventos iniciais na maturação da célula B.** A geração de todas as células sanguíneas, chamada de **hematopoese** (Fig. 2-9), ocorre inicialmente durante o desenvolvimento fetal nas ilhotas sanguíneas do saco vitelino e no mesênquima para-aórtico; então, elas se deslocam para o fígado entre os terceiro e quarto mês de gestação e, finalmente, se localizam na medula óssea. No nascimento, a hematopoese ocorre principalmente nos ossos do esqueleto, mas se torna grandemente restrita à medula dos ossos chatos, de modo que, na puberdade, ela se dá principalmente no esterno, nas vértebras, no osso ilíaco e nas costelas. A medula vermelha que é encontrada nestes ossos consiste em uma malha reticular do tipo esponja localizada entre os longos ossos trabeculares. Os espaços desta malha contêm uma rede de sinusoides cheios de sangue e recobertos por células endoteliais ligadas a uma membrana basal descontínua. Por fora dos sinusoides, estão conjuntos de precursores de células sanguíneas em vários estágios de desenvolvimento, bem como células adiposas maduras. Os precursores das células sanguíneas amadurecem e migram através da membrana basal sinusoidal e entre as células endoteliais, entrando na circulação vascular. Quando a medula óssea é danificada ou quando uma demanda excepcional para a produção de novas células sanguíneas ocorre, o fígado e baço frequentemente se tornam locais de hematopoese extramedular.





**FIGURA 2-9** Hematopoese.

O desenvolvimento das principais linhagens de células sanguíneas está mostrado nesta árvore hematopoética. As principais citocinas que direcionam a maturação das diferentes linhagens estão descritas na [Tabela 2-4](#). O desenvolvimento dos linfócitos é descrito mais adiante neste capítulo e na [Figura 8-2](#). A maioria das células dendríticas também é proveniente do mesmo precursor mieloide comum do qual os monócitos são derivados (não mostrado). Mastócitos, células NK e outras células linfóides inatas (não mostrados) também são derivados dos progenitores comprometidos na medula óssea.

Hemácias, granulócitos, monócitos, células dendríticas, plaquetas, linfócitos B e T e células NK se originam de uma célula-tronco hematopoética comum (HSC) na medula óssea ([Fig. 2-9](#)). As HSCs são pluripotentes, significando que cada HSC

individual pode gerar todos os diferentes tipos de células sanguíneas maduras. As HSCs também são autorrenováveis, porque cada vez que elas se dividem, pelo menos uma célula-filha mantém as propriedades da célula-tronco, enquanto a outra pode se diferenciar em uma linhagem particular (chamada de divisão assimétrica). As HSCs podem ser identificadas pela presença de marcadores de superfície, incluindo as proteínas CD34 e c-Kit e a ausência de marcadores específicos da linhagem que são expressos nas células maduras. As HSCs são mantidas dentro de nichos anatômicos microscópicos e especializados na medula óssea. Nestas localizações, as células estromais não hematopoéticas fornecem sinais dependentes de contato e fatores solúveis necessários para o ciclo contínuo das HSCs. As HSCs dão origem a dois tipos de células progenitoras multipotentes: uma que gera células linfoides e algumas células mieloides e outra que produz mais células mieloides, eritrócitos e plaquetas. O progenitor comum mielóide-linfoide dá origem a precursores comprometidos de linhagens eritroide, megacariocítica-granulocítica e monocítica, que originam, respectivamente, hemácias maduras, plaquetas, granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) e monócitos. A maioria das células dendríticas se origina de um ramo da linhagem monocítica.

***A proliferação e maturação das células precursoras na medula óssea são estimuladas pelas citocinas.*** Muitas destas citocinas são chamadas de **fatores estimuladores de colônia**, porque elas foram originalmente ensaiadas por suas habilidades em estimular o crescimento e desenvolvimento de várias colônias leucocíticas ou eritroides a partir das células da medula. As citocinas hematopoéticas são produzidas pelas células estromais e macrófagos na medula óssea, fornecendo, assim, o ambiente local para a hematopoese. Elas também são produzidas pelos linfócitos T estimulados por antígeno e macrófagos ativados por citocina ou microorganismo, fornecendo um mecanismo para a reposição de leucócitos que podem ser consumidos durante as reações imune e inflamatória. Os nomes e propriedades da maioria das citocinas hematopoéticas são listados na [Tabela 2-4](#).



## Tabela 2-4

### Citocinas Hematopóéticas

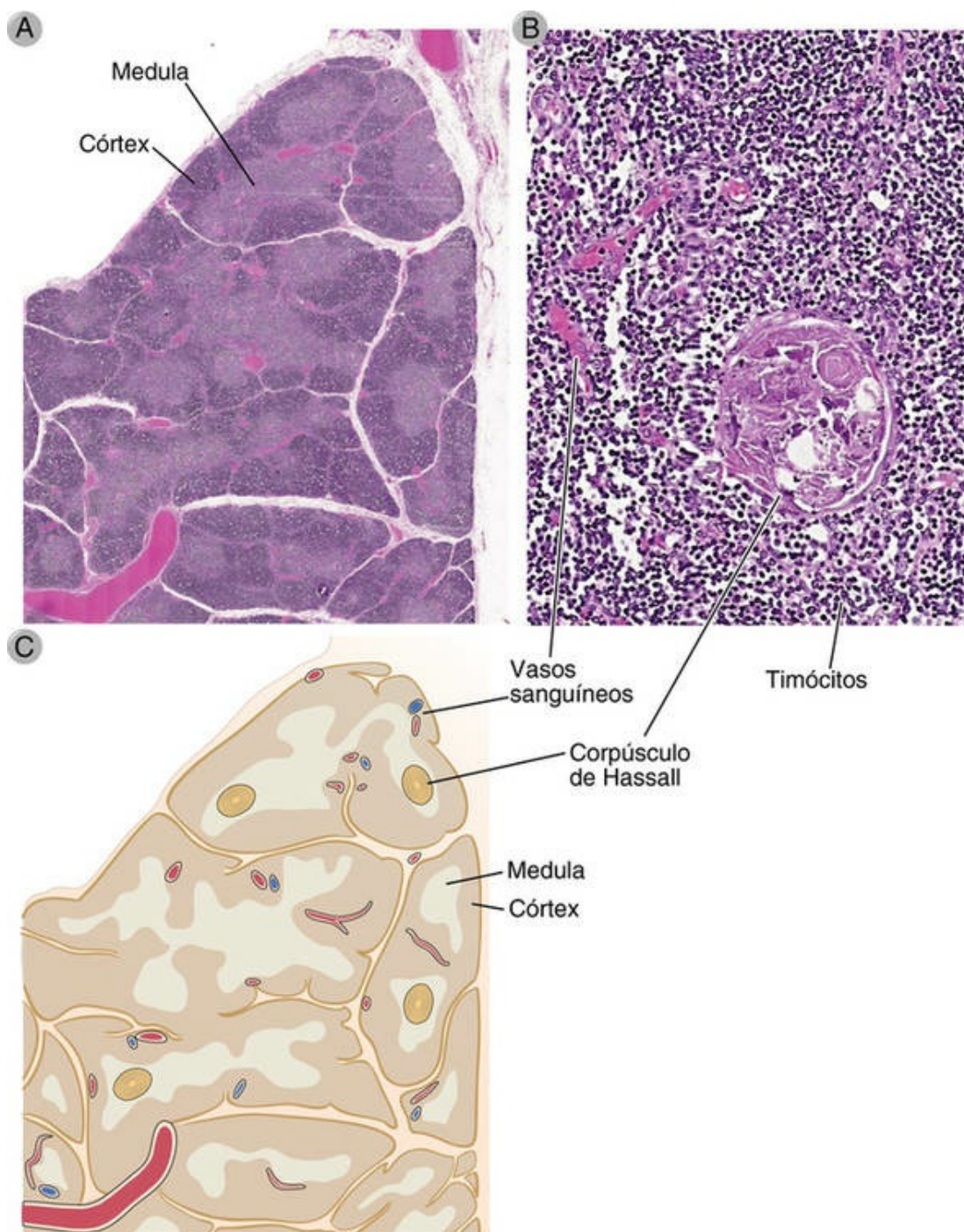
Citocina	Tamanho	Principais Fontes Celulares	Principais Células Imaturas Alvo	Principais Populações Celulares Induzidas
Fator de célula-tronco (ligante c-Kit)	24kD	Células estromais da medula óssea	Células-tronco hematopóéticas	Todas
Interleucina-7 (IL-7)	20 kD	Fibroblastos, células estromais da medula óssea	Progenitores linfóides imaturos	Linfócitos T
Interleucina-3 (IL-3)	20-26 kD	Células T	Progenitores imaturos	Todas
Fator estimulador de colônia de granulócito-monócito (GM-CSF)	18-22 kD	Células T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos	Progenitores mielóides imaturos e comprometidos, macrófagos maduros	Granulócitos e monócitos, ativação de macrófagos
Fator estimulador de colônia de monócito (M-CSF)	Dímero de 70-90 kD; subunidades de 40 kD	Células T, macrófagos, células endoteliais, células da medula óssea, fibroblastos	Progenitores comprometidos	Monócitos
Fator estimulador de colônia granulócito (G-CSF)	19 kD	Macrófagos, fibroblastos, células endoteliais	Progenitores de granulócitos comprometidos	Granulócitos
Ligante Flt-3	30 kD	Células estromais da medula óssea	Células-tronco hematopóéticas, progenitores de célula dendrítica e célula B	Células clássicas e dendríticas plasmacitoides, células B

Em adição à autorrenovação das células-tronco e sua progênie em diferenciação, a medula contém numerosos plasmócitos secretores de anticorpo de vida longa. Estas células são geradas nos tecidos linfóides periféricos como uma consequência da estimulação antigênica das células B e, então, migram para a medula óssea. A medula também contém células B foliculares maduras recirculantes que podem responder aos microrganismos originados no sangue. Além disso, alguns linfócitos T de memória e de vida longa migram para a medula e podem lá residir.

## Timo

**O timo é o local da maturação da célula T.** O timo é um órgão bilobado situado no mediastino anterior. Cada lóbulo é dividido pelo septo fibroso em múltiplos lóbulos, e cada lóbulo consiste em um córtex externo e uma medula interna (Fig. 2-10). O córtex contém uma densa coleção de linfócitos T, e a medula levemente corada é mais esparsamente povoada com linfócitos. Macrófagos derivados da medula óssea e células dendríticas são encontrados quase exclusivamente na medula. Espalhadas por todo o timo, estão as células epiteliais não linfóides, que têm citoplasma abundante. As **células epiteliais corticais** tímicas produzem IL-7, que é necessária na fase inicial do desenvolvimento da célula T. Um subgrupo diferente de células epiteliais encontrado somente na medula, chamado de **células epiteliais tímicas medulares** (MTEC), tem um papel especial na apresentação dos próprios antígenos às células T em desenvolvimento e causando sua deleção. Este é um mecanismo para garantir que o sistema imune permaneça tolerante a ele mesmo e será discutido em detalhes no [Capítulo 15](#). Na medula, existem estruturas denominadas corpúsculos de Hassall, que são compostos de espirais de células epiteliais hermeticamente embaladas e que podem ser remanescentes de células em

degeneração. O timo tem um rico suprimento vascular e vasos linfáticos eferentes que drenam para os linfonodos mediastinais. O componente epitelial do timo é derivado de invaginações do ectoderma do pescoço e tórax em desenvolvimento nos embrião, formando estruturas denominadas bolsas branquiais. Células dendríticas, macrófagos e precursores de linfócitos são provenientes da medula óssea.



**FIGURA 2-10** Morfologia do timo.

**A,** Micrografia de baixa luz de um lobo do timo mostrando o córtex e a medula. O córtex externo corado de azul mais

escuro e a medula interna azul clara estão aparentes. **B**, Micrografia de alta luz da medula tímica. As numerosas pequenas células coradas de azul são células T em desenvolvimento e denominadas *timócitos*, e a estrutura rosa e maior é o corpúsculo de Hassall, característica única da medula tímica, mas cuja função é pouco compreendida. **C**, Diagrama esquemático do timo ilustrando uma porção do lobo dividido em múltiplos lóbulos pela trabécula fibrosa.

Humanos com a síndrome de DiGeorge sofrem de deficiência da célula T por causa de uma deleção cromossômica que elimina genes necessários para o desenvolvimento do timo ([Cap. 21](#)). Na linhagem de camundongo nude, que tem sido amplamente utilizada na pesquisa em imunologia, a mutação no gene que codifica um fator de transcrição causa uma falha da diferenciação de certos tipos de células epiteliais necessárias para o desenvolvimento normal do timo e dos folículos capilares. Consequentemente, esses camundongos não têm células T e pelo.

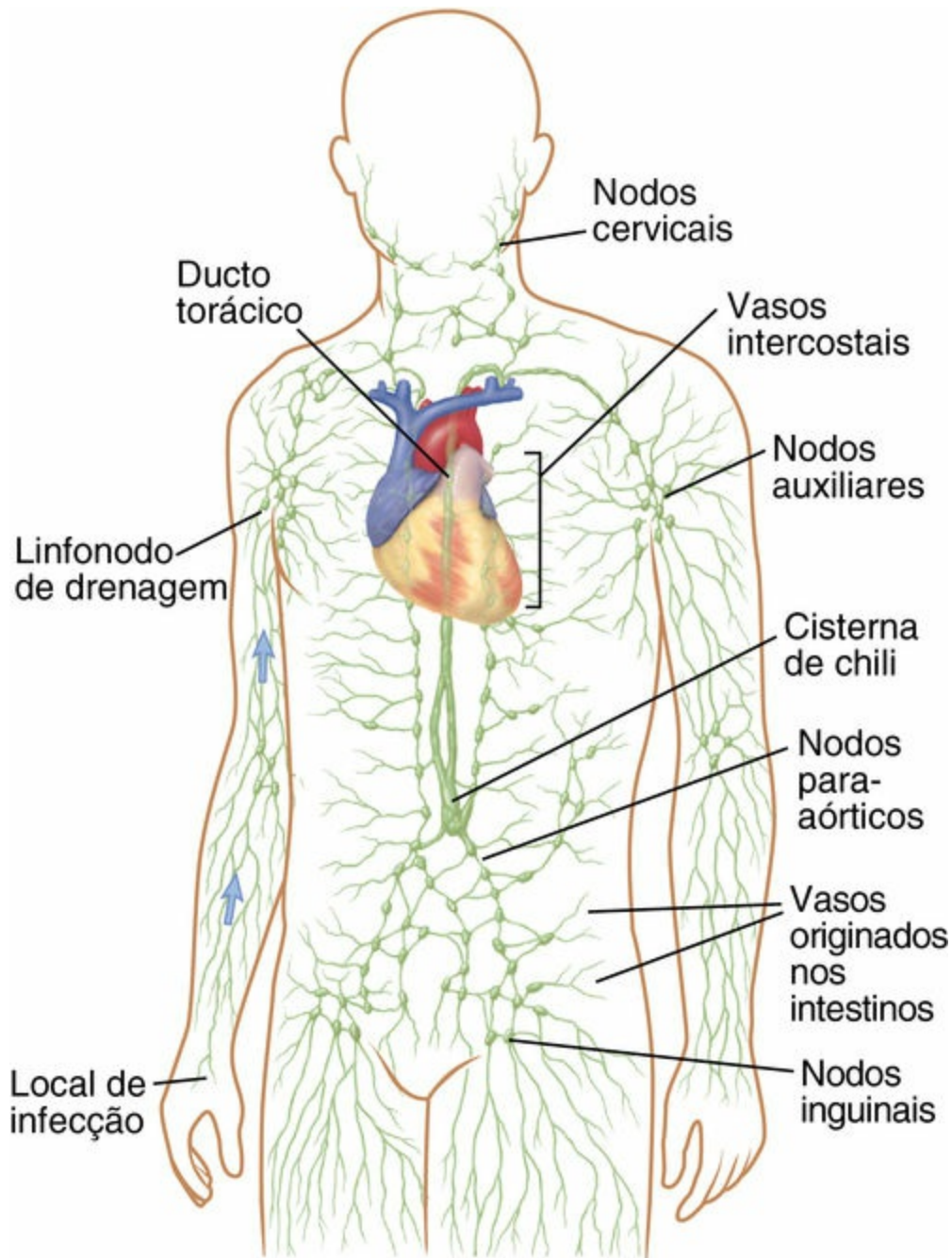
Os linfócitos no timo, também chamados de **timócitos**, são linfócitos T em vários estágios de maturação. A maioria das células imaturas entra no timo, e sua maturação se inicia no córtex. À medida que os timócitos amadurecem, eles migram em direção à medula, de tal forma que esta contém primordialmente células T maduras. Somente células T virgens maduras existem no timo e entram no sangue e tecidos linfóides periféricos. Os detalhes da maturação do timócito são descritos no [Capítulo 8](#).

## O Sistema Linfático

O sistema linfático consiste em vasos especializados que drenam fluido dos tecidos para dentro e para fora dos linfonodos e, então, para o sangue ([Fig. 2-11](#)). Ele é essencial para a homeostasia do fluido tecidual e para as respostas imunes. O fluido intersticial é constantemente formado em todos os tecidos vascularizados em razão do movimento de um filtrado de plasma para fora dos capilares, e a taxa de formação local pode aumentar drasticamente quando o tecido é lesionado ou infectado. A pele, o epitélio e os órgãos parenquimais contêm numerosos capilares linfáticos que absorvem esse fluido oriundo dos espaços entre as células teciduais. Os capilares linfáticos são canais vasculares sem fim recobertos pela sobreposição de células endoteliais sem as finas junções intercelulares ou membrana basal que são típicas de vasos sanguíneos. Esses capilares linfáticos permitem a livre absorção do fluido intersticial e a sobreposição da organização das células endoteliais, e válvulas de sentido único dentro dos lumens previnem o retorno do fluxo de fluido. O fluido absorvido, chamado de **linfa**, é bombeado para vasos linfáticos convergentes e progressivamente maiores através da contração de células musculares lisas perilinfáticas e da pressão exercida pelo movimento dos tecidos musculoesqueléticos. Esses vasos se fundem em linfáticos aferentes que drenam para os linfonodos, e a

linfa é drenada para fora dos nodos através dos linfáticos eferentes. Pelo fato de os linfonodos serem conectados em série pelos linfáticos, um linfático eferente que sai de um nodo pode servir como um vaso aferente para outro. O vaso linfático eferente no final de uma cadeia de linfonodos se une a outros vasos linfáticos, eventualmente culminando em um vaso linfático maior e chamado de ducto torácico. A linfa oriunda do ducto torácico é esvaziada para dentro da veia cava superior, retornando, então, o fluido à corrente sanguínea. Os vasos linfáticos do tronco direito superior, braço direito e lado direito da cabeça drenam para o ducto linfático direito, que também drena para a veia cava superior. Cerca de dois litros de linfa normalmente retornam cada dia para a circulação, e o rompimento do sistema linfático por tumores ou algumas infecções parasíticas pode levar a um grave inchaço tecidual.





**FIGURA 2-11** O sistema linfático.

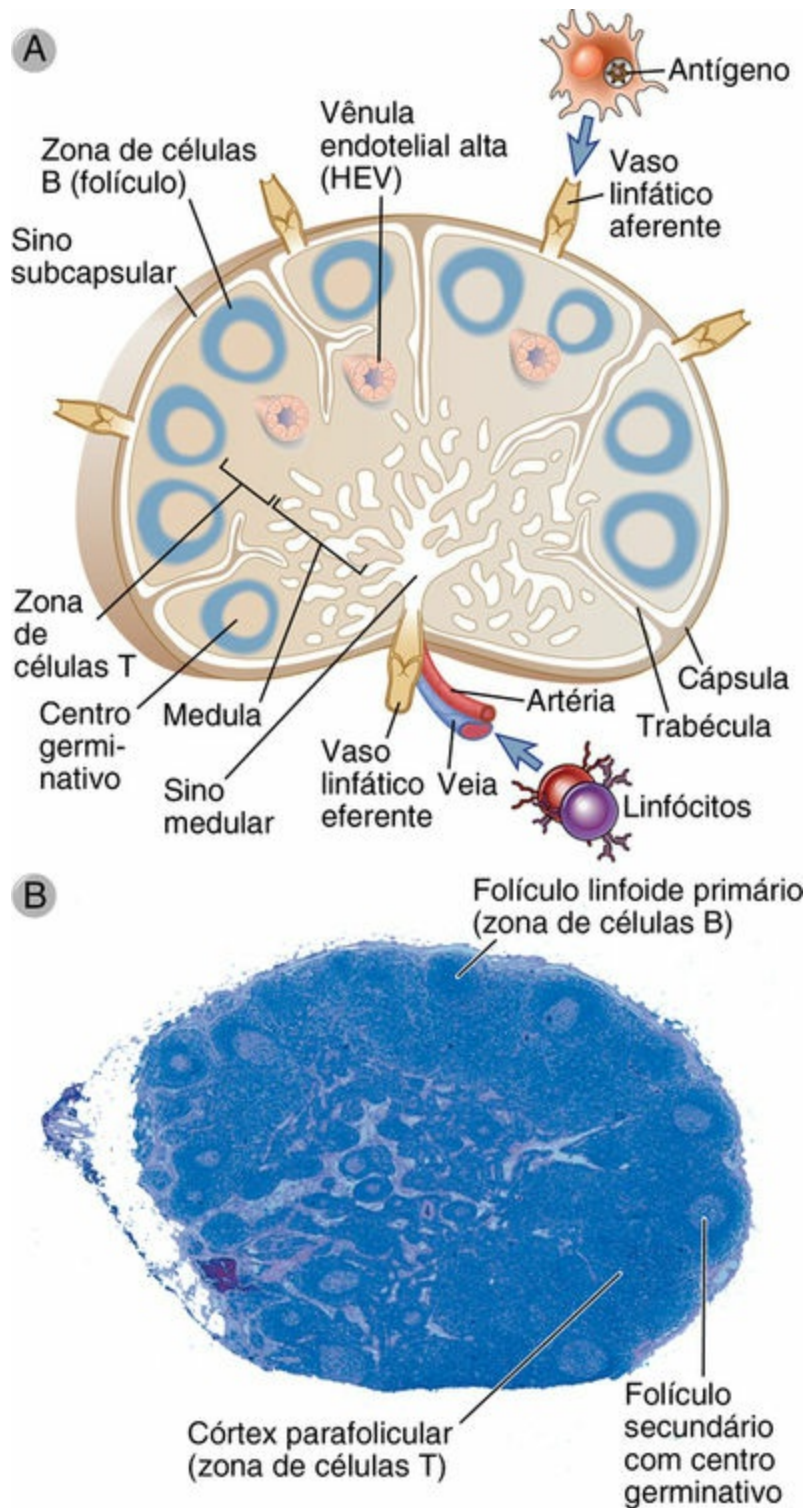
Os principais vasos linfáticos, que drenam para a veia cava inferior (e veia cava superior, não mostrada), e coleções de linfonodos são ilustrados. Antígenos são capturados no local da infecção e drenados para o linfonodo, para onde eles são transportados e onde a resposta imune é iniciada.

O sistema linfático coleta antígenos microbianos de seus portais de entrada e liberação para os linfonodos, onde eles podem estimular as respostas imunes adaptativas. Os microrganismos entram no corpo mais frequentemente através da pele e dos tratos gastrointestinal e respiratório. Todos esses tecidos são recobertos por

epitélio que contém células dendríticas e são drenados pelos vasos linfáticos. As células dendríticas capturam antígenos microbianos e entram nos vasos linfáticos. Outros microrganismos e antígenos solúveis podem entrar nos linfáticos independentemente das células dendríticas. Além disso, mediadores inflamatórios solúveis, tais como quimiocinas, que são produzidas nos locais de infecção, entram nos linfáticos. Os linfonodos são interpostos ao longo dos vasos linfáticos e agem como filtros que coletam os antígenos solúveis e associados às células dendríticas nos linfonodos antes de eles alcançarem o sangue. Os antígenos capturados podem, então, ser localizados pelas células do sistema imune adaptativo. Este processo é descrito no [Capítulo 6](#).

## Linfonodos

**Os linfonodos são órgãos linfoides secundários, encapsulados, vascularizados e com características anatômicas que favorecem a iniciação das respostas imunes adaptativas aos antígenos carregados dos tecidos pelos vasos linfáticos (Fig. 2-12).** Os linfonodos estão situados ao longo dos canais linfáticos por todo o corpo e, assim, têm acesso aos antígenos encontrados nos epitélios e originados no fluido intersticial na maioria dos tecidos. Existem cerca de 500 linfonodos no corpo humano. Um linfonodo é cercado por uma cápsula fibrosa, sob a qual existe um sistema sinusal cercado por células reticulares, com pontes cruzadas por fibrilas de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular e preenchido com linfa, macrófagos, células dendríticas e outros tipos celulares. Os linfáticos aferentes se esvaziam no sino subcapsular (marginal), e a linfa pode ser drenada dele diretamente para o sino medular conectado e, então, para fora do linfonodo através dos linfáticos eferentes. Sob o piso inferior do sino subcapsular, está o córtex rico em linfócitos. O córtex externo contém agregados de células denominadas **folículos**. Alguns folículos possuem áreas centrais chamadas de **centros germinativos**, que se coram levemente com corantes histológicos comumente utilizados. Cada centro germinativo consiste em uma zona escura com células B em proliferação denominadas centoblastos e uma zona clara contendo células chamadas de centrócitos que interromperam a proliferação e estão sendo selecionadas para sobreviver e se diferenciar. A reação do centro germinativo durante as respostas imunes humorais está descrita no [Capítulo 12](#). Folículos sem centros germinativos são chamados de folículos primários, e aqueles com centros germinativos são denominados folículos secundários. O córtex em volta dos folículos é denominado córtex parafolicular ou paracórtex e está organizado em cordas, que são regiões com uma complexa microanatomia de proteínas da matriz, fibras, linfócitos, células dendríticas e fagócitos mononucleares.



**FIGURA 2-12** Morfologia de um linfonodo.

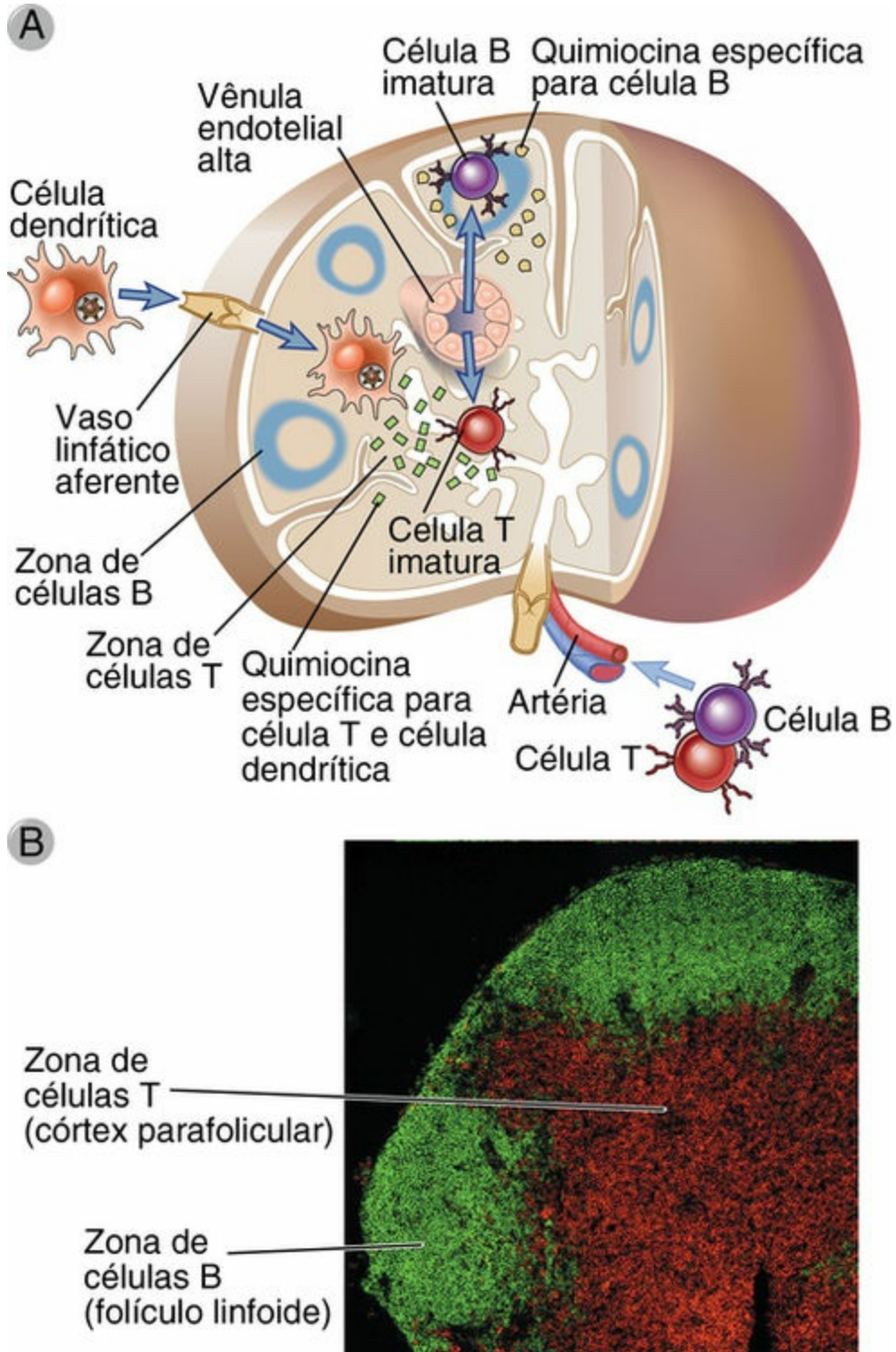
**A**, Diagrama esquemático de um linfonodo ilustrando as zonas ricas em células T e células B e as vias de entrada dos linfócitos e antígenos (capturados pela célula dendrítica). **B**, Micrografia de luz de um linfonodo ilustrando as zonas de células T e células B. (Cortesia de Dr. James Gulizia, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital,



Boston, Massachusetts.)

## **Organização Anatômica dos Linfócitos B e T**

***Os linfócitos B e T são sequestrados em regiões distintas do córtex dos linfonodos, cada região com sua própria arquitetura de fibras reticulares e células estromais (Fig. 2-13).*** Os folículos são as zonas de célula B. Eles estão localizados no córtex do linfonodo e organizam-se em torno das FCs, que têm processos que interdigitam para formar uma malha reticular densa. Os folículos primários contêm principalmente linfócitos B virgens maduros. Os centros germinativos se desenvolvem em resposta à estimulação antigênica. Eles são locais de grande proliferação de célula B, seleção de células B produtoras de anticorpos de alta afinidade e geração de células B de memória e plasmócitos de vida longa.

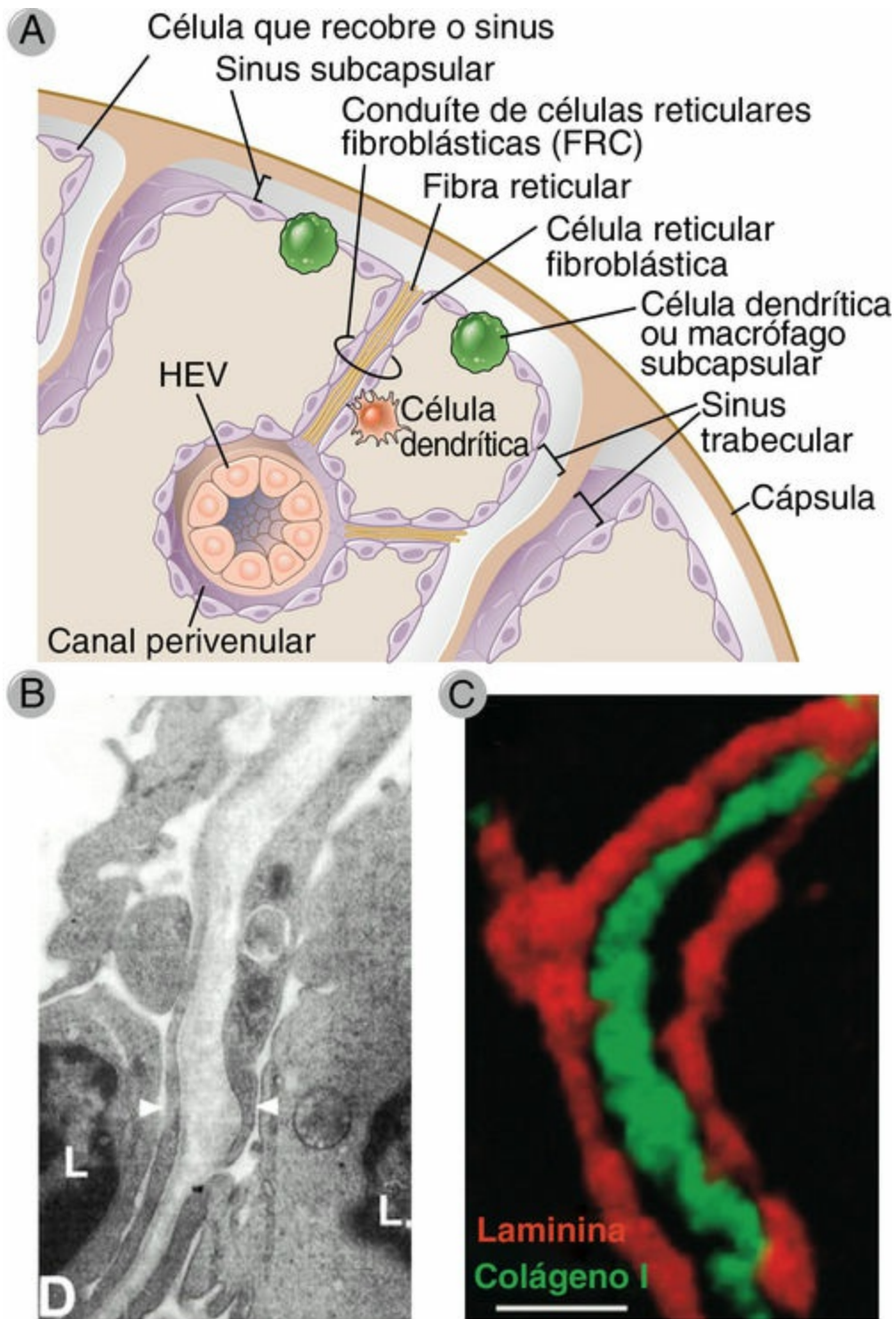


**FIGURA 2-13** Segregação das células B e células T em um linfonodo.

**A**, Diagrama esquemático ilustrando a via pela qual os linfócitos T e B imaturos migram para diferentes áreas do linfonodo. Os linfócitos imaturos entram no nodo através de uma artéria, deixam a circulação pelo movimento através da parede da vênula endotelial alta e, então, as células B e T

migram para diferentes zonas do linfonodo direcionadas pelas quimiocinas que são produzidas nestas áreas e ligam seletivamente a um dos tipos celulares. Também está mostrada a migração das células dendríticas, que captam antígenos dos locais de entrada desses antígenos, entram através dos vasos linfáticos aferentes e migram para as áreas ricas em célula T no nodo. **B**, Nesta seção do linfonodo, os linfócitos B, localizados nos folículos, estão corados em verde; as células T, no córtex parafolicular, estão vermelhas. O método usado para corar essas células é chamado de *imunofluorescência* (consulte o Apêndice IV para detalhes). (Cortesia de Dr. Kathryn Pape e Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis). A segregação anatômica das células T e B também é mostrada no baço (Fig. 2-15).

Os linfócitos T estão localizados principal e mais centralmente sob os folículos, nas cordas paracorticais. Estas zonas ricas em células T, frequentemente denominadas paracórtex, contêm uma rede de **células reticulares fibroblásticas** (FRCs), muitas das quais formam a camada externa de estruturas similares a tubos chamadas de condúites FRC (Fig. 2-14). Os condúites variam em diâmetro entre 0,2 a 3  $\mu\text{m}$  e possuem matrizes organizadas de moléculas da matriz extracelular, incluindo feixes paralelos de fibras de colágeno embebidas em uma malha de microfibras de fibrilina, todas firmemente rodeadas por uma membrana basal produzida por uma malha de FRCs. Estes condúites se iniciam no sino subcapsular e se estendem para ambos os vasos linfáticos do sino medular e vasos linfáticos corticais, denominados **vênulas endoteliais altas** (HEVs). As células T imaturas entram nas zonas da célula T através das HEVs, como descrito em detalhes no [Capítulo 3](#). As células T são densamente presas em torno dos condúites no córtex do linfonodo. A maioria (~70%) das células T corticais consiste em células T auxiliares  $\text{CD4}^+$ , intercaladas com células  $\text{CD8}^+$  relativamente esparsas. Estas proporções podem mudar drasticamente durante o curso de uma infecção. Por exemplo, durante uma infecção viral, pode ocorrer um grande aumento nas células T  $\text{CD8}^+$ . As células dendríticas também são concentradas no paracórtex dos linfonodos, muitas das quais estão intimamente associadas aos condúites FRC.



**FIGURA 2-14** Microanatomia do córtex do linfonodo.

**A**, Esquema da microanatomia do linfonodo mostrando a rota de drenagem da linfa a partir do sino subcapsular, através dos conduítes de células fibrorreticulares, para o canal perivenular em torno da vênular alta (HEV). **B**, Micrografia eletrônica de transmissão de um conduíte FRC cercado de células reticulares fibroblastos (*pontas de seta*) e linfócitos adjacentes (L). (De Gretz JE, Norbury CC, Anderson AO,



*Proudfoot AEI, Shaw S: Lymph-borne chemokines and other low molecular weight molecules reach high endothelial venules via specialized conduits while a functional barrier limits access to the lymphocyte microenvironments in lymph node cortex, The Journal of Experimental Medicine 192:1425–1439, 2000.) C, Coloração imunofluorescente de um condúite FRC formado pela proteína laminina, pela membrana basal (em vermelho) e por fibrilas de colágeno (em verde). (De Sixt M, Nobuo K, Selg M, Samson T, Roos G, Reinhardt DP, Pabst R, Lutz M, Sorokin L: The conduit system transports soluble antigens from the afferent lymph to resident dendritic cells in the T cell area of the lymph node, *Immunity* 22:19-29, 2006. Copyright © 2005 by Elsevier Inc.)*

A segregação anatômica dos linfócitos B e T nas áreas distintas do nódulo é dependente de citocinas que são secretadas pelas células estromais do linfonodo em cada área e que direcionam a migração dos linfócitos (Fig. 2-13). Linfócitos B e T imaturos são liberados para um nódulo através da artéria e deixam a circulação para entrar no estroma do nódulo através das HEVs, que estão localizadas no centro dos cordões corticais. O tipo de citocinas que determina onde as células B e T residem no nódulo é denominado **quimiocinas** (citocinas quimioatraentes), que se ligam aos receptores de quimiocinas nos linfócitos. As quimiocinas incluem uma grande família de citocinas de 8 a 10 kD que estão envolvidas em uma grande variedade de funções da motilidade celular no desenvolvimento, manutenção da arquitetura tecidual e respostas imune e inflamatória. Discutiremos as propriedades das quimiocinas e seus receptores no [Capítulo 3](#). As células T imaturas expressam um receptor denominado CCR7 que liga as quimiocinas CCL19 e CCL21 produzidas pelas células estromais nas zonas da célula T do linfonodo. Estas quimiocinas promovem o movimento da célula T imatura do sangue, através da parede das HEVs, para dentro da zona da célula T. As células dendríticas que foram ativadas pelos microrganismos e entram no nódulo através dos linfáticos também expressam CCR7, e esta é a razão de eles migrarem para a mesma área dos nódulos como fazem as células T imaturas ([Cap. 6](#)). As células B imaturas expressam baixos níveis de CCR7 e níveis maiores de outro receptor de quimiocina, CXCR5, que reconhece uma quimiocina, CXCL13, produzida somente nos folículos pelas FDCs. Assim, as células B imaturas circulantes também entram nos linfonodos através das HEVs e são, então, atraídas para dentro dos folículos. Outra citocina denominada linfotoxina (que não é uma quimiocina) tem papel na estimulação da produção de CXCL13, especialmente nos folículos. As funções das quimiocinas e outras citocinas na regulação da localização dos linfócitos nos órgãos linfoides e na formação destes órgãos foram estabelecidas por numerosos estudos em camundongos. Por exemplo, os camundongos *knockout* em

CXCR5 não têm folículos contendo célula B nos linfonodos e baço e os camundongos *knockout* em CCR7 não apresentam zonas de célula T.

**Os linfonodos em desenvolvimento, assim como outros órgãos linfoides periféricos, dependem de células indutoras de tecido linfoide e das ações coordenadas de várias citocinas, quimiocinas e fatores de transcrição.** Durante a vida fetal, as células indutoras de tecido linfoide, que são um subgrupo de células linfoides inatas discutidas anteriormente, estimulam o desenvolvimento dos linfonodos e outros órgãos linfoides secundários. Esta função é mediada por várias proteínas expressas pelas células indutoras, sendo as mais profundamente estudadas a citocina linfotóxica- $\alpha$  (LT $\alpha$ ) e a linfotóxica- $\beta$  (LT $\beta$ ). Camundongos *knockout* sem qualquer uma dessas citocinas não desenvolvem linfonodos ou tecidos linfoides secundários nos intestinos. O desenvolvimento da polpa branca esplênica também é desorganizado nestes camundongos. A LT $\beta$  produzida pelas células indutoras estimula as células estromais em diferentes localizações de um órgão linfoide secundário em desenvolvimento para secretar quimiocinas que auxiliam na organização da estrutura dos órgãos linfoides. As FDCs são ativadas pela LT $\beta$  para produzirem a quimiocina CXCL13, que serve para recrutar as células B e organizar o folículo em desenvolvimento. As células reticulares fibroblásticas (FRCs, mencionadas anteriormente) são ativadas para produzir CCL19 e CCL21, que recrutam células T e células dendríticas e formam a zona da célula T.

**A segregação anatômica das células B e T garante que cada população de linfócito esteja em contato com as APCs apropriadas, que são células B com FDCs e células T com células dendríticas.** Além disso, por causa desta segregação precisa, as populações de linfócitos B e T são mantidas separadas até que seja o momento de interagirem de maneira funcional. Como veremos nos [Capítulos 9 e 12](#), após a estimulação por antígenos, as células B e T alteram sua expressão de receptores de quimiocinas e começam a migrar uma em direção a outra em resposta aos sinais das quimiocinas e outros mediadores. As células T ativadas migram em direção aos folículos para auxiliar as células B ou saem do nódulo e entram na circulação. As células B ativadas migram em direção dos centros germinativos e, após diferenciação em plasmócitos, podem se dirigir para a medula óssea.

## **Transporte de Antígeno através dos Linfonodos**

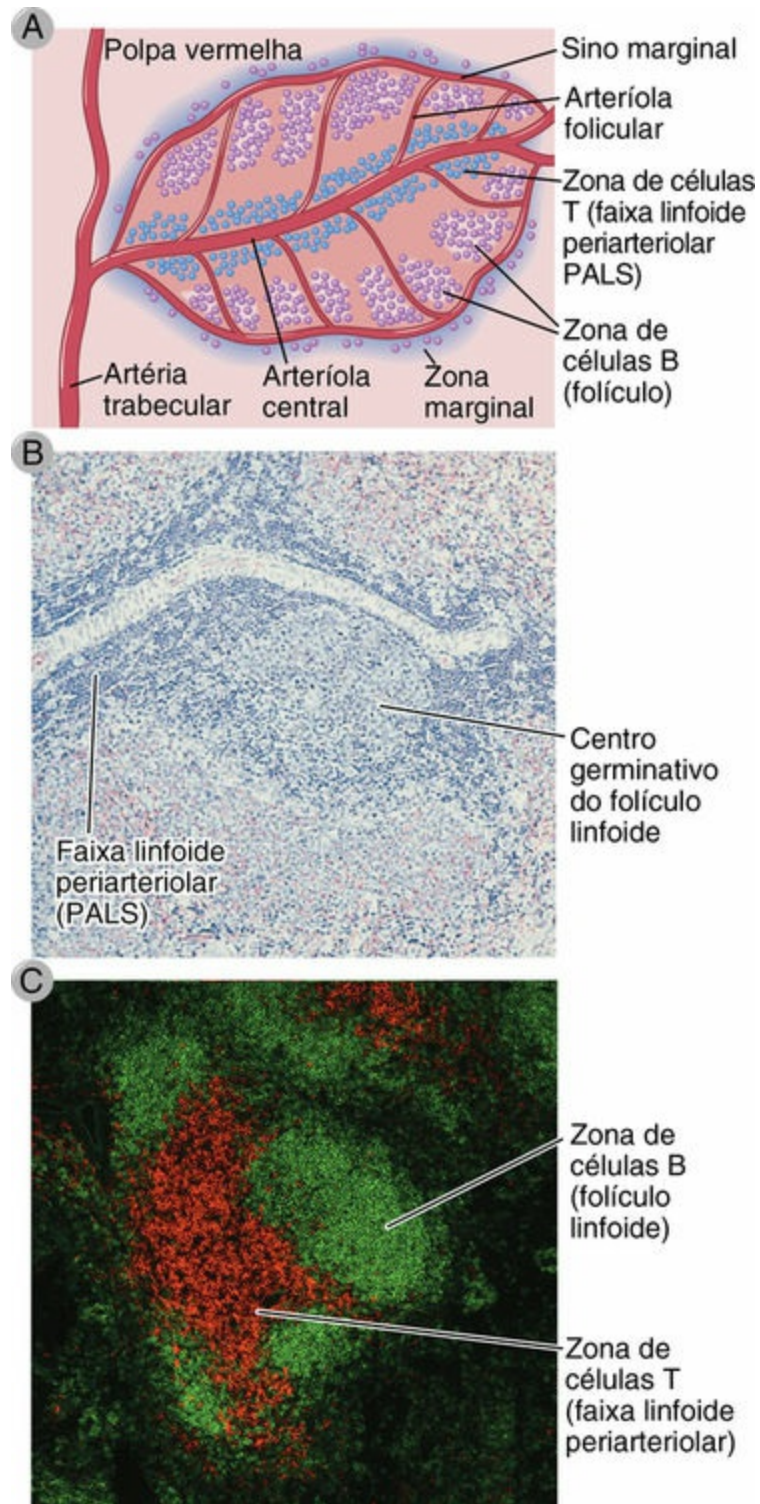
**As substâncias que se originam na linfa que entram no sino subcapsular do linfonodo são separadas por tamanho molecular e distribuídas para diferentes tipos celulares para iniciar várias respostas imunes.** A base do sino subcapsular é construída de tal forma que permite que as células no sino entrem em contato ou migrem para o córtex subjacente, mas não permite que moléculas solúveis na linfa passem livremente para o córtex. Microrganismos e antígenos de alto peso molecular são presos pelos macrófagos do sino e apresentados aos linfócitos B

corticais logo abaixo do sino. Este é o primeiro passo nas respostas de anticorpos a estes antígenos. Antígenos solúveis de baixo peso molecular são transportados para fora do sino através dos condutos FRC e passam a células dendríticas corticais residentes localizadas ao lado dos condutos. As células dendríticas residentes estendem processos entre as células que recobrem os condutos e para dentro do lúmen e capturam e fazem pinocitose dos antígenos solúveis dentro dos condutos. A contribuição desta via de distribuição de antígeno pode ser importante para o início das respostas imunes da célula T a alguns antígenos microbianos, mas respostas maiores e sustentadas necessitam de distribuição de antígenos para o nódulo pelas células dendríticas, como discutido no [Capítulo 6](#). Em adição aos antígenos, existem evidências de que mediadores inflamatórios solúveis, tais como quimiocinas e outras citocinas, são transportados na linfa que flui através dos condutos; alguns destes podem agir nas células dendríticas adjacentes e outros podem ser distribuídos para as HEVs para onde os condutos drenam. Esta é uma via possível na qual a inflamação tecidual pode ser detectada no linfonodo e, assim, influenciar o recrutamento e ativação dos linfócitos no nódulo.

## Baço

***O baço é um órgão altamente vascularizado, cujas principais funções são remover células sanguíneas velhas e danificadas e partículas (tais como imunocomplexos e microrganismos opsonizados) da circulação e iniciar as respostas imunes adaptativas aos antígenos originados no sangue.*** O baço pesa cerca de 150 g em adultos e está localizado no quadrante superior esquerdo do abdome. O parênquima esplênico é funcional e anatomicamente dividido em polpa vermelha, que é composta principalmente de sinusoides vasculares cheios de sangue, e polpa branca rica em linfócitos. O sangue entra no baço através de uma única artéria esplênica que perfura a cápsula no hilo e se divide em ramos progressivamente menores que permanecem rodeados pela trabécula fibrosa protetora e de suporte ([Fig. 2-15](#)). Algumas das ramificações arteriolares da artéria esplênica terminam em extensos sinusoides vasculares que são compostos de grande número de eritrócitos e recobertos por macrófagos e outras células. Os sinusoides terminam em vênulas que drenam para a veia esplênica, que carrega sangue para fora do baço e para dentro da circulação porta. Os macrófagos da polpa vermelha servem como um importante filtro para o sangue, removendo microrganismos, células danificadas, células recobertas de anticorpo (opsonizadas) e microrganismos. Indivíduos que não têm o baço são suscetíveis a infecções disseminadas com bactérias encapsuladas, tais como pneumococos e meningococos. Esta pode ser a razão de tais organismos serem normalmente limpos por opsonização e fagocitose e esta função ser defeituosa na ausência do baço.





**FIGURA 2-15** Morfologia do baço.

**A**, Diagrama esquemático do baço ilustrando as zonas de células T e células B, que formam a polpa branca. **B**, Fotomicrografia de uma seção do baço humano mostrando a artéria trabecular com faixas linfoides periarteriolar adjacentes e um folículo linfoide com centro germinativo. **C**, Demonstração imuno-histoquímica das zonas de células T e

células B no baço mostrando uma seção de região em torno de uma arteríola. As células T na faixa linfoide periarteriolar estão coradas em vermelho, e as células B no folículo estão coradas em verde. (Cortesia de Drs. Kathryn Pape e Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis.)

***A polpa branca contém as células que medeiam as respostas imunes adaptativas aos antígenos originados no sangue.*** Na polpa branca, estão situadas muitas populações de linfócitos densamente empacotados, que se parecem com nódulos brancos contra um fundo de polpa vermelha. A polpa branca é organizada em torno de artérias centrais, que são ramificações da artéria esplênica distintas das ramificações que formam os sinusoides vasculares. Várias ramificações menores de cada artéria central passam através de áreas ricas em linfócitos e drenam para o sino marginal. Uma região de células especializadas circundando o sino marginal, chamada de **zona marginal**, forma uma fronteira entre a polpa vermelha e a polpa branca. A arquitetura da polpa branca é análoga à organização dos linfonodos, com zonas de célula T e B segregadas. No baço de camundongo, as artérias centrais são rodeadas por bainhas de linfócitos, a maioria dos quais são células T. Em virtude da sua localização anatômica, os morfologistas chamam estas zonas de célula T de **bainhas linfoides periarteriulares**. Os folículos ricos em célula B ocupam o espaço entre o sino marginal e a bainha periarteriolar. Como nos linfonodos, as áreas de células T no baço contêm uma rede de complexos condúites composta de proteínas da matriz recobertas por células do tipo FRC. A zona marginal logo do lado de fora do sino marginal é uma região distinta e povoada por células B e macrófagos especializados. As células B da zona marginal são funcionalmente distintas das células B foliculares e apresentam um repertório limitado de especificidades de antígenos. A arquitetura da polpa branca é mais complexa em humanos do que em camundongos, com ambas as zonas interna e externa e uma zona perifolicular. Antígenos no sangue são distribuídos para o sino marginal pelas células dendríticas circulantes ou são amostrados pelos macrófagos na zona marginal.

O arranjo anatômico das APCs, células B e células T na polpa branca esplênica promove as interações necessárias para um desenvolvimento eficiente das respostas imunes humorais, como discutiremos no [Capítulo 12](#). A segregação dos linfócitos T nas bainhas linfoides periarteriulares e células B nos folículos e zonas marginais é um processo altamente regulado, dependente da produção de diferentes citocinas e quimiocinas pelas células estromais nestas diferentes áreas, análogos ao caso para os linfonodos. A quimiocina CXCL13 e seu receptor CXCR5 são necessários para a migração da célula B para os folículos, e a CCL19 e CCL21 e seu receptor CCR7 são requeridos para a migração da célula T imatura para a bainha periarteriolar. A

produção destas quimiocinas pelas células estromais não linfoides é estimulada pela citocina linfotóxica.

## Sistemas Imunes Regionais

***Todas as principais barreiras epiteliais do corpo, incluindo pele, mucosa gastrintestinal e mucosa brônquica, têm seus próprios sistemas de linfonodos, estruturas linfoides não encapsuladas e células imunes difusamente distribuídas, que trabalham de maneira coordenada para fornecer respostas imunes especializadas contra os patógenos que entram por aquelas barreiras.*** O sistema imune associado à pele evoluiu para responder a uma grande variedade de microrganismos ambientais. Os componentes dos sistemas imunes relacionados com as mucosas gastrintestinal e brônquica são denominados tecido linfóide associado à mucosa (MALT) e estão envolvidos nas respostas imunes aos antígenos e microrganismos ingeridos e inalados. A pele e o MALT contêm uma grande proporção de células dos sistemas imunes inato e adaptativo. Abordaremos as características especiais destes sistemas imunes regionais no [Capítulo 14](#).

## Resumo

A organização anatômica das células e tecidos do sistema imune é de crucial importância para a geração de respostas imunes inata e adaptativa efetivas. Esta organização permite a rápida distribuição das células imunes inatas, incluindo neutrófilos e monócitos, para os locais de infecção e possibilita que um pequeno número de linfócitos específicos para qualquer antígeno localize e responda efetivamente àquele antígeno a despeito do local do corpo no qual este é introduzido.

As células que realizam a maioria das funções efetoras da imunidade inata e adaptativa incluem fagócitos (incluindo neutrófilos e macrófagos), APCs (incluindo macrófagos e células dendríticas) e linfócitos.

Neutrófilos, o leucócito sanguíneo mais abundante com um núcleo segmentado multilobado distinto e abundantes grânulos lisossomais citoplasmáticos, são rapidamente recrutados para os locais de infecção e tecidos lesionados, onde eles realizam funções fagocíticas.

Os monócitos são os precursores circulantes dos macrófagos teciduais. Todos os tecidos contêm macrófagos residentes, que são células fagocíticas que ingerem e matam microrganismos e células mortas do hospedeiro e secretam citocinas e quimiocinas que promovem o recrutamento de leucócitos do sangue e iniciam o reparo dos tecidos danificados.

As APCs funcionam para apresentar os antígenos para o reconhecimento pelos

linfócitos e para promover a ativação dos linfócitos. Elas incluem células dendríticas, fagócitos mononucleares e FDCs.

Linfócitos B e T expressam receptores de antígenos altamente diversos e específicos e são as células responsáveis pela especificidade e memória das respostas imunes adaptativas. Muitas moléculas de superfície são diferencialmente expressas em diferentes subgrupos de linfócitos, assim como em outros leucócitos, e estes são denominados de acordo com a nomenclatura CD.

As células linfoides inatas são células efetoras do sistema imune inato, algumas das quais realizam funções similares às células T CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> efetoras. Estas células, que incluem as células NK, não expressam receptores de antígenos altamente diversos e clonalmente distribuídos.

Ambos os linfócitos B e T se originam de um precursor comum na medula óssea. O desenvolvimento da célula B prossegue na medula óssea, ao passo que os precursores da célula T migram e amadurecem no timo. Após a maturação, as células B e T deixam a medula óssea e o timo, entram na circulação e povoam os órgãos linfoides periféricos.

As células B e T imaturas são linfócitos maduros que não foram estimulados pelo antígeno. Quando encontram o antígeno, eles proliferam e se diferenciam em linfócitos efetores que desempenham funções nas respostas imunes protetoras. Os linfócitos B efetores são plasmócitos secretores de anticorpo. As células T efetoras incluem as células T CD4<sup>+</sup> secretoras de citocina e os linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup>.

Alguns da progênie de linfócitos B e T ativados por antígenos se diferenciam em células de memória que sobrevivem por longos períodos em um estado quiescente. Estas células de memória são responsáveis pelas respostas rápidas e aumentadas às exposições subsequentes aos antígenos.

Os órgãos do sistema imune podem ser divididos em órgãos linfoides geradores, ou primários (medula óssea e timo), onde os linfócitos amadurecem, e órgãos periféricos, ou secundários (linfonodos, baço e sistemas imunes mucosos e cutâneos), onde linfócitos imaturos são ativados pelos antígenos.

A medula óssea contém as células-tronco para todas as células sanguíneas, incluindo linfócitos, e é o local de amadurecimento de todos esses tipos celulares, exceto as células T, que amadurecem no timo.

O fluido extracelular (linfa) é constantemente drenado dos tecidos, através dos linfáticos, para os linfonodos e, eventualmente, para o sangue. Os antígenos microbianos são carregados em forma solúvel e dentro das células dendríticas na linfa para os linfonodos, onde eles são reconhecidos pelos linfócitos.

Os linfonodos são os órgãos linfoides secundários encapsulados, localizados por todo o corpo ao longo dos linfáticos, onde células B e T imaturas respondem aos antígenos que são coletados pela linfa oriundos dos tecidos periféricos. O baço é um órgão encapsulado na cavidade abdominal onde células sanguíneas senescentes ou opsonizadas são removidas da circulação, e no qual os linfócitos

respondem aos antígenos originados do sangue.

O linfonodo e a polpa branca do baço são organizados em zonas de célula B (os folículos) e zonas de célula T. As áreas de célula T também são locais de residência das células dendríticas maduras, que são APCs especializadas para a ativação das células T imaturas. As FDCs residem nas áreas de células B e servem para ativar as células B durante as respostas imunes humorais aos antígenos proteicos. O desenvolvimento dos tecidos linfóides secundários depende de citocinas e células indutoras de tecido linfóide.

## Leituras selecionadas

### Células do Sistema Imune

Chow, A., Brown, B. D., Merad, M. Studying the mononuclear phagocyte system in the molecular age. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:788–798.

Davies, L. C., Jenkins, S. J., Allen, J. E., Taylor, P. R. Tissue-resident macrophages. *Nature Immunology*. 2013; 14:986–995.

Farber, D. L., Yudanin, N. A., Restifo, N. P. Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nature Reviews Immunology*. 2014; 14:24–35.

Geissmann, F., Manz, M. G., Jung, S., Sieweke, M. H., Merad, M., Ley, K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science*. 2010; 327:656–661.

Surh, C. D., Sprent, J. Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity*. 2008; 29:848–862.

Wynn, T. A., Chawla, A., Pollard, J. W. Macrophage biology in development, homeostasis, and disease. *Nature*. 2013; 496:445–455.

### Tecidos do Sistema Imune

Bronte, V., Pittet, M. J. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity*. 2013; 39:806–818.

Lane, P., Kim, M.-Y., Withers, D., Gaspal, F., Bekiaris, V., Desanti, G., Khan, M., McConnell, F., Anderson, G. Lymphoid tissue inducer cells in adaptive CD4 T cell dependent responses. *Seminars in Immunology*. 2008; 20:159–163.

Mueller, S. N., Germain, R. N. Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:618–629.

Ruddle, N. H., Akirav, E. M. Secondary lymphoid organs: responding to genetic and environmental cues in ontogeny and the immune response. *Journal of Immunology*. 2009; 183:2205–2212.

## CAPÍTULO 3

# Circulação de Leucócitos e Migração para os Tecidos

### VISÃO GERAL DA MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS

### MOLÉCULAS DE ADESÃO NOS LEUCÓCITOS E CÉLULAS ENDOTELIAIS ENVOLVIDAS NO RECRUTAMENTO DE LEUCÓCITOS

Selectinas e Ligantes de Selectinas

Integrinas e Ligantes de Integrinas

### QUIMIOCINAS E RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

Estrutura, Produção e Receptores de Quimiocinas

Ações Biológicas das Quimiocinas

### INTERAÇÕES LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO E RECRUTAMENTO DE LEUCÓCITOS PARA OS TECIDOS

### MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E MONÓCITOS PARA LOCAIS DE INFECÇÃO OU LESÃO TECIDUAL

### MIGRAÇÃO E RECIRCULAÇÃO DE LINFÓCITOS T

Recirculação de Linfócitos *Naïve* entre o Sangue e Órgãos Linfoides Secundários

Recirculação de Células Através de outros Tecidos Linfoides

Migração dos Linfócitos T Efetores para Locais de Infecção

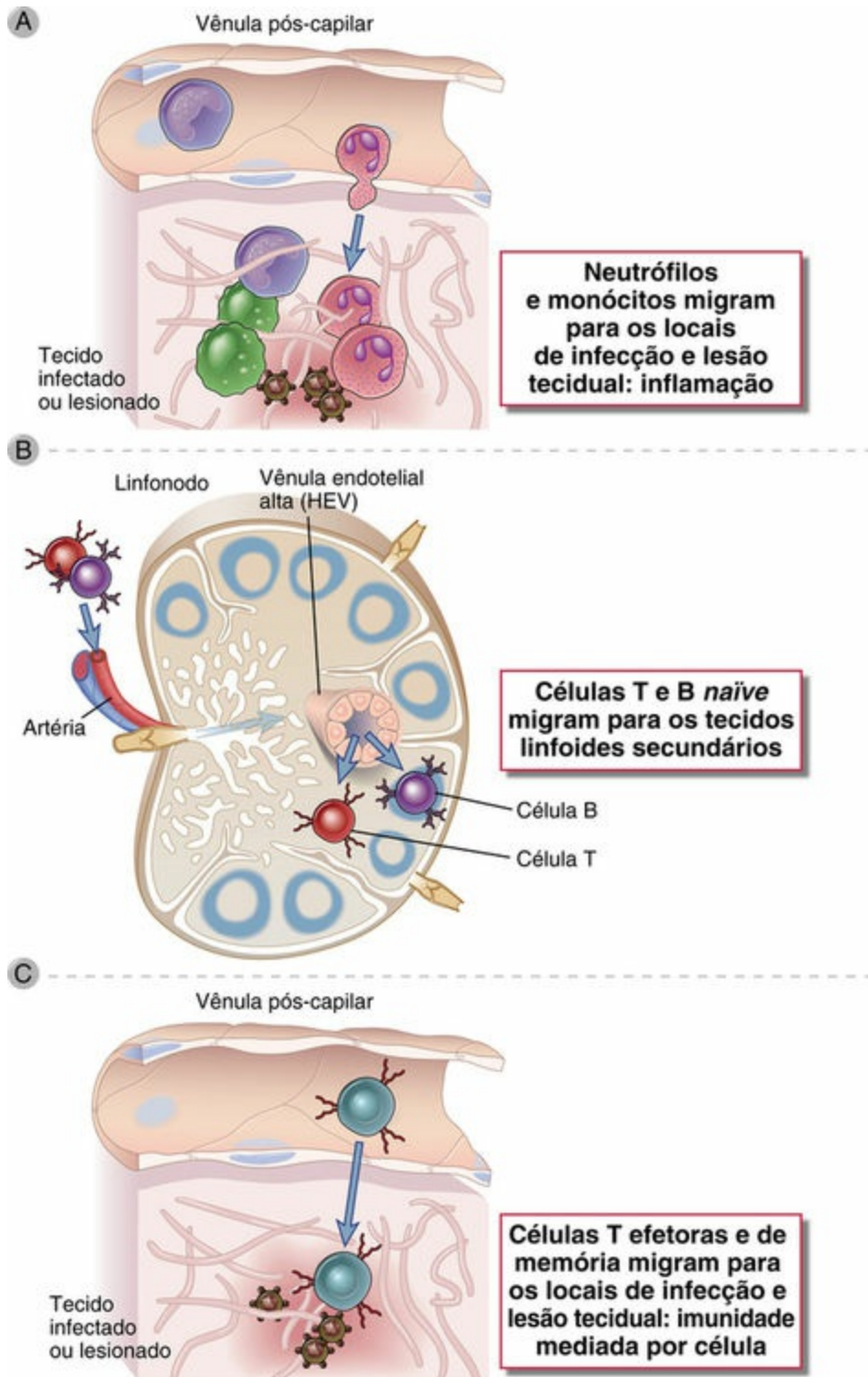
Migração de Células T de Memória

### MIGRAÇÃO DE LINFÓCITOS B

### RESUMO

A propriedade única do sistema imune que o distingue de todos os outros sistemas teciduais no corpo é o movimento constante e altamente regulado de seus principais componentes celulares através do sangue, para os tecidos e frequentemente de volta para o sangue. Este movimento tem três funções principais (Fig. 3-1):





**FIGURA 3-1** As principais funções servidas pela migração de leucócitos do sangue para os tecidos.

**A**, Neutrófilos e monócitos que chegam à medula óssea circulam no sangue e são recrutados para os locais teciduais de infecção ou lesão, onde eles eliminam os patógenos infecciosos, limpam os tecidos mortos e reparam o dano. **B**, Linfócitos *naïve* que surgem na medula óssea ou no timo



migram para órgãos linfoides secundários, tais como linfonodo (ou baço, não mostrado), onde se tornam ativados pelos antígenos e se diferenciam em linfócitos efetores. **C**, Linfócitos efetores que se desenvolvem nos órgãos linfoides secundários migram para os locais teciduais de infecção, onde participam da defesa microbiana.

- Distribuição de leucócitos de linhagem mieloide (principalmente neutrófilos e monócitos) da circulação para os tecidos e locais de infecção ou lesão, onde as células realizam suas funções protetoras de eliminar patógenos infecciosos, limpando tecidos mortos e reparando o dano.
- Distribuição de linfócitos dos seus locais de maturação (medula óssea ou timo) para órgãos linfoides secundários, onde eles reconhecem antígenos e se diferenciam em linfócitos efetores.
- Distribuição de linfócitos efetores dos órgãos linfoides secundários nos quais eles são produzidos para locais de infecção em qualquer tecido, onde eles realizam suas funções protetoras.

A migração de um leucócito para fora do sangue e em direção a um tecido em particular, ou para um local de uma infecção ou lesão, frequentemente é denominado **homing** do leucócito, e o processo geral do movimento do leucócito do sangue para os tecidos é chamado de **migração** ou **recrutamento**. A habilidade dos linfócitos em chegarem repetidamente aos órgãos linfoides secundários, lá ficarem transientemente e retornarem ao sangue é denominada **recirculação**. O recrutamento de leucócitos e proteínas plasmáticas do sangue para locais de infecção e lesão tecidual é a parte principal do processo chamado de **inflamação**. A inflamação é disparada pelo reconhecimento de microrganismos e tecidos mortos nas respostas imunes inatas, sendo refinada e prolongada durante as respostas imunes adaptativas. A resposta inflamatória distribui as células e moléculas de defesa do hospedeiro para os locais onde os agentes agressores necessitam ser combatidos. O mesmo processo é responsável por causar dano tecidual e a ele são atribuídas muitas doenças importantes. Retornaremos à inflamação no contexto da imunidade inata no [Capítulo 4](#) e na discussão de doenças inflamatórias no [Capítulo 19](#).

## Visão geral da migração de leucócitos

A adesão e o recrutamento de leucócitos a qualquer tecido são controlados por alguns princípios comuns.

- Linfócitos *naïve* migram de maneira contínua principalmente para os tecidos linfoides secundários, e não para outros tecidos tendo ou não infecção ou lesão, ao passo que os linfócitos que foram previamente ativados pelo antígeno (p. ex., linfócitos efetores), assim como os leucócitos mieloides, chegam preferencialmente aos

tecidos nos quais existe uma infecção ou lesão tecidual.

- A adesão e o recrutamento de leucócitos necessitam de adesão temporária do leucócito à cobertura endotelial dos vasos sanguíneos, um processo que envolve moléculas nas superfícies de ambos os leucócitos (receptores de adesão e receptores de quimiocinas) e células endoteliais (adessinas e quimiocinas).
- As células endoteliais nos locais de infecção e tecidos danificados são ativadas pelas citocinas secretadas pelos macrófagos e outras células teciduais nestes locais, resultando em expressão aumentada das moléculas de adesão e quimiocinas. A consequência é adesividade aumentada das células endoteliais para os leucócitos mieloides circulantes e linfócitos previamente ativados.

Pelo fato de a expressão de moléculas que medeiam a adesão leucócito-endotélio ser tipicamente dependente da ativação das células envolvidas, os leucócitos migram através do endotélio principalmente quando eles necessitam, encontrando com microrganismos e tecido necrótico. Estes são os estímulos mais comuns para ativação de leucócitos e células endoteliais.

***O recrutamento de leucócitos a partir do sangue para os tecidos necessita da adesão dos leucócitos para a cobertura endotelial das vênulas pós-capilares e, então, o movimento através do endotélio e parede do vaso para o tecido extravascular.*** Este é um processo com vários passos no qual cada etapa é orquestrada por diferentes tipos de moléculas, incluindo quimiocinas e moléculas de adesão. O mesmo processo básico ocorre em diferentes tipos de leucócitos (neutrófilos, monócitos e linfócitos *naïve* e efetores) que aderem aos distintos tipos de tecidos (órgãos linfoides secundários, tecidos infectados), embora as quimiocinas específicas e moléculas de adesão variem de tal forma que resulta em diferentes propriedades de migração para cada tipo celular. Antes de descrever o processo, abordaremos as propriedades e funções das moléculas de adesão e as quimiocinas que estão envolvidas no recrutamento de leucócitos.

## **Moléculas de adesão nos leucócitos e células endoteliais envolvidas no recrutamento de leucócitos**

A adesão de leucócitos circulantes às células endoteliais vasculares é mediada por duas classes de moléculas, denominadas **selectinas** e **integrinas**, e seus ligantes. A expressão destas moléculas varia dentre diferentes tipos de leucócitos e em vasos sanguíneos de diferentes localizações, e estas diferenças influenciam quais tipos celulares migram preferencialmente para qual tecido.

### **Selectinas e Ligantes de Selectinas**

***As selectinas são moléculas de adesão ligadas a carboidratos de membrana plasmática que medeiam um passo inicial de adesão de baixa afinidade dos***

**leucócitos circulantes nas células endoteliais que recobrem as vênulas pós-capilares** (Tabela 3-1). Os domínios extracelulares das selectinas são similares às lectinas do tipo C, assim chamadas por causa de sua ligação com estruturas de carboidratos (a definição de *lectina*) de maneira dependente de cálcio. As selectinas e seus ligantes são expressos nos leucócitos e células endoteliais.

**Tabela 3-1**

**Principais Moléculas de Adesão Leucócito-Endotélio**

Família	Molécula	Distribuição	Ligante (molécula, tipo celular)
Selectina	P-selectina (CD62P)	Endotélio ativado por histamina ou trombina	Sialil Lewis X nas PSGL-1 e outras glicoproteínas; neutrófilos, monócitos, células T (efetoras, de memória)
	E-selectina (CD62E)	Endotélio ativado por citocinas (TNF, IL-1)	Sialil Lewis X (p. ex., CLA-1) nas glicoproteínas; neutrófilos, monócitos, células T (efetoras, de memória)
	L-selectina (CD62L)	Neutrófilos, monócitos, células T ( <i>naïve</i> e de memória central), células B ( <i>naïve</i> )	Sialil Lewis X/PNAd nas GlyCAM-1, CD34, MadCAM-1, outros; endotélio (HEV)
Integrina	LFA-1 (CD11aCD18)	Neutrófilos, monócitos, células T ( <i>naïve</i> , efetora e de memória central), células B ( <i>naïve</i> )	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	Mac-1 (CD11bCD18)	Neutrófilos, monócitos, células dendríticas	ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	VLA-4 (CD49aCD29)	Monócitos, células T ( <i>naïve</i> , efetoras, de memória)	VCAM-1 (CD106); endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)
	$\alpha_4\beta_7$ (CD49dCD29)	Monócitos, células T (migrando para intestino, <i>naïve</i> , efetoras, de memória), células B (mirando para intestino)	VCAM-1 (CD106), MadCAM-1; endotélio (regulado positivamente quando ativado por citocina)

*CLA-1*, antígeno 1 de linfócito cutâneo; *GlyCAM-1*, molécula 1 de adesão de célula com glicano; *HEV*, vênula endotelial alta; *ICAM-1*, molécula 1 de adesão intracelular; *IL-1*, interleucina-1; *LFA-1*, antígeno 1 associado à função de leucócito; *MasCAM-1*, molécula 1 de adesão celular de adressina de mucosa; *PNAd*, adressina de nodo periférico; *PSGL-1*, ligante 1 da glicoproteína P-selectina; *TNF*, fator de necrose tumoral; *VCAM-1*, molécula 1 de adesão de célula vascular; *VLA-4*, antígeno 4 muito tardio.

As células endoteliais expressam dois tipos de selectinas, denominadas **P-selectina** (CD62P) e **E-selectina** (CD62E). A P-selectina, assim chamada porque foi a primeira a ser encontrada em plaquetas, é armazenada nos grânulos citoplasmáticos das células endoteliais, sendo rapidamente redistribuída para a superfície luminal em resposta à histamina dos mastócitos e da trombina gerada durante a coagulação sanguínea. A E-selectina é sintetizada e expressa na superfície da célula endotelial dentro de 1 a 2 horas em resposta às citocinas interleucina-1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF), que são produzidos pelos macrófagos teciduais em resposta à infecção. Produtos microbianos, tais como lipopolissacarídeo, (LPS) também estimulam a expressão da E-selectina nas células endoteliais. Descreveremos IL-1, TNF e LPS em nossa discussão sobre inflamação no [Capítulo 4](#).

Os ligantes nos leucócitos que se ligam a E-selectina e P-selectina das células endoteliais são complexos de grupos de carboidratos sializados e relacionados com Lewis X ou família Lewis A. Estas estruturas químicas estão presentes em várias glicoproteínas da superfície de granulócitos, monócitos e algumas células T efetoras

previamente ativadas e de memória. A melhor definição disto é o tetrassacarídeo sialil Lewis X (sLeX). Uma glicoproteína de membrana de leucócito denominada glicoproteína ligante 1 de P-selectina (PSGL-1) é modificada pós-translacionalmente para apresentar os carboidratos ligantes de P-selectina. Várias moléculas diferentes podem apresentar os carboidratos ligantes para E-selectina, incluindo as glicoproteínas PSGL-1 e o ligante-1 de E-selectina e alguns glicolipídios.

Uma terceira selectina, denominada **L-selectina** (CD62L), é expressa em leucócitos, e não em células endoteliais. Os ligantes para L-selectinas são sialomucinas nas células endoteliais, cuja expressão é aumentada pela ativação das células por citocinas. O principal determinante de reconhecimento que liga L-selectina a estas sialomucinas é o sialil 6-sulfo Lewis X. A L-selectina dos neutrófilos promove a adesão destas células às células endoteliais que são ativadas por IL-1, TNF e outras citocinas produzidas nos locais de inflamação. Na imunidade adaptativa, a L-selectina é importante para a adesão dos linfócitos T e B *naïve* aos linfonodos através de vasos sanguíneos especializados, chamados de **vênulas endoteliais altas**. Os ligantes sialomucinas nas vênulas endoteliais altas que se ligam à L-selectina nos linfócitos *naïve* são coletivamente denominados *addressina de nodo periférico* (PNA<sub>d</sub>). Os leucócitos expressam L-selectina ou o carboidrato ligante para P-selectina e E-selectina nas extremidades dos microvilos, facilitando as interações com as moléculas na superfície da célula endotelial.

## Integrinas e Ligantes de Integrinas

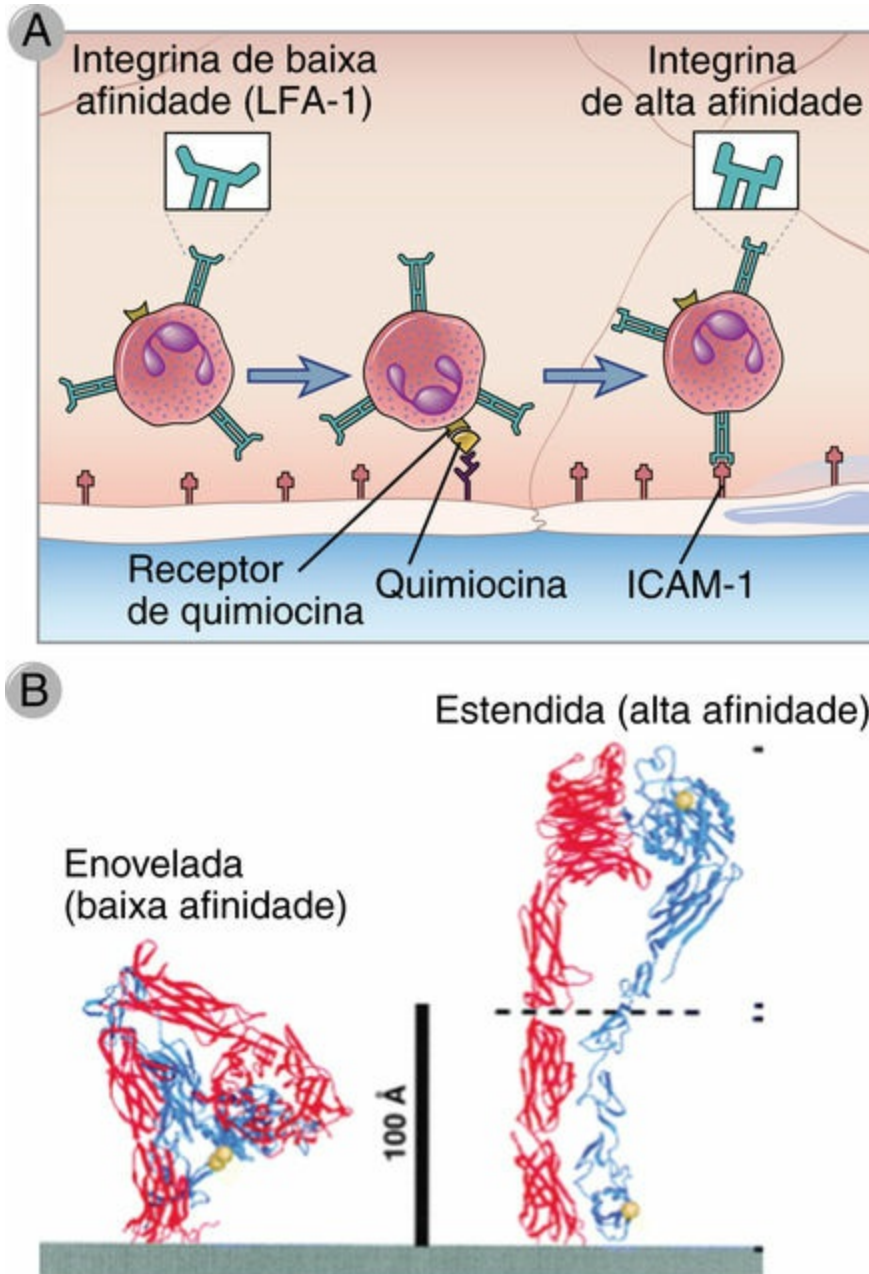
***As integrinas são proteínas heterodiméricas da superfície celular compostas de duas cadeias polipeptídicas ligadas não covalentemente que medeiam a adesão de células a outras células ou à matriz extracelular, por meio de interações específicas de ligação com vários ligantes.*** Existem mais de 30 integrinas diferentes, todas com a mesma estrutura básica, contendo um ou mais de 15 tipos de cadeias  $\alpha$  e um de sete tipos de cadeias  $\beta$ . As cabeças globulares extracelulares de ambas as cadeias contribuem para a ligação entrecadeias e a ligação divalente e dependente de cátion. Os domínios citoplasmáticos das integrinas interagem com componentes do citoesqueleto (incluindo vinculina, talina, actina,  $\alpha$ -actinina e tropomiosina). O nome *integrina* para esta família de proteínas deriva da ideia de que estas proteínas coordenam (i.e., integram) sinais disparados por ligantes extracelulares com motilidade dependente de citoesqueleto, mudança de forma e respostas fagocíticas.

No sistema imune, duas importantes integrinas expressas nos leucócitos são **LFA-1** (*leukocyte function-associated antigen 1*, mais precisamente chamada de  $\alpha_1\beta_2$  ou CD11aCD18) e **VLA-4** (*very late antigen-4*, ou  $\alpha_4\beta_1$  ou CD49dCD29) (Tabela 3-1). Um importante ligante para LFA-1 é a molécula de adesão intercelular 1 (**ICAM-1**, CD54), uma glicoproteína de membrana expressa nas células endoteliais ativadas

por citocinas e em uma variedade de outros tipos celulares, incluindo linfócitos, células dendríticas, macrófagos, fibroblastos e queratinócitos. A porção extracelular da ICAM-1 é composta de domínios globulares, denominados domínios de imunoglobulinas (Ig), que compartilham homologia de sequência e características funcionais com domínios encontrados nas moléculas de Ig. Muitas proteínas no sistema imune contêm domínios Ig e pertencem à superfamília Ig (Cap. 5). A ligação de LFA-1 à ICAM-1 é importante para as interações leucócito-endotélio (discutidas mais adiante) e interações da célula T com células apresentadoras de antígenos (Cap. 6). Duas outras superfamílias de ligantes Ig para LFA-1 são a ICAM-2, que é expressa nas células endoteliais, e a ICAM-3, que é expressa nos linfócitos. A VLA-4 se liga à molécula 1 de adesão celular vascular (**VCAM-1**, CD106), uma proteína da superfamília da Ig expressa nas células endoteliais ativadas por citocina, em algum tecido. Outras integrinas também têm papel nas respostas imunes inata e adaptativa. Por exemplo, Mac-1 ( $\alpha_M\beta_2$ , CD11bCD18) nos monócitos circulantes se liga à ICAM-1 e medeia a adesão ao endotélio. A Mac-1 também funciona como um receptor de complemento, ligando partículas opsonizadas com um produto da ativação do complemento chamado de fragmento C3b inativado (iC3b) (discutido nos Caps. 4 e 13), aumentando, assim, a fagocitose de microrganismos.

***Uma característica importante das integrinas é sua habilidade de responder a sinais intracelulares com aumento rápido em suas afinidades por seus ligantes (Fig. 3-2).*** Isso é referido como ativação de integrina e ocorre em todos os leucócitos em resposta à ligação da quimiocina ao receptor de quimiocina e em células T quando os antígenos se ligam aos receptores de antígeno. A quimiocina e o receptor de antígeno localizados nas células induzem sinais bioquímicos que envolvem proteínas ligantes de GTP (descritas em mais detalhes no Cap. 7), levando eventualmente à associação da família de moléculas RAP e proteínas de interação do citoesqueleto com as caudas citoplasmáticas das proteínas integrinas. Isso resulta em alterações conformacionais nos domínios extracelulares das integrinas que levam à afinidade aumentada. No estado de baixa afinidade, as hastes dos domínios extracelulares de cada subunidade de integrina se inclinam e as cabeças globulares de ligação do ligante estão próximas da membrana. Em resposta a alterações na cauda citoplasmática, as hastes se estendem, trazendo as cabeças globulares para fora da membrana para uma posição onde eles interagem mais efetivamente com seus ligantes (Fig. 3-2). O processo pelo qual os sinais intracelulares, gerados em resposta às quimiocinas ou antígeno, alteram as funções de ligação do domínio extracelular das integrinas é chamado de sinal de dentro para fora.





**FIGURA 3-2** Ativação da integrina.

**A**, As integrinas nos leucócitos sanguíneos normalmente encontram-se em um estado de baixa afinidade. Quando o leucócito se aproxima das células endoteliais, como quando ocorre o rolamento de leucócitos dependente de selectina, então as quimiocinas apresentadas na superfície endotelial podem se ligar aos receptores de quimiocinas no leucócito.

Ocorre, então, a sinalização do receptor de quimiocina, quando ativa as integrinas do leucócito, aumentando sua afinidade pelos ligantes nas células endoteliais. **B**, Diagramas de fitas são mostrados com as conformações enoveladas e estendidas da integrina de leucócito, correspondendo aos



estados de baixa e alta afinidade, respectivamente. (B, De Takagi J, Springer TA: Integrin activation and structural rearrangement, *Immunological Reviews* 186:141–163, 2002.)

As quimiocinas também induzem agrupamento das integrinas na membrana. Isso resulta em concentração local aumentada de integrinas na superfície celular, levando à aidez aumentada das interações da integrina com ligantes nas células endoteliais e, assim, ligação mais firme dos leucócitos ao endotélio.

## Quimiocinas e receptores de quimiocinas

***As quimiocinas são uma grande família de citocinas estruturalmente homólogas que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração dos leucócitos do sangue para os tecidos.*** O nome *quimiocina* é uma contração de citocina quimiotática. Nós nos referimos ao papel das quimiocinas na organização dos tecidos linfoides no [Capítulo 2](#) e agora descreveremos as propriedades gerais desta família de citocinas e suas múltiplas funções na imunidade inata e adaptativa. A [Tabela 3-2](#) resume as principais características de quimiocinas individuais e seus receptores.

---

### **Tabela 3-2**

#### **Quimiocinas e Receptores de Quimiocinas**

---

Quimiocina	Nome original	Receptor de Quimiocina	Principal Função
Quimiocinas CC			
CCL1	I309	CCR8	Recrutamento de monócitos e migração de célula endotelial
CCL2	MCP-1	CCR2	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL3	MIP-1 $\alpha$	CCR1, CCR5	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL4	MIP-1 $\beta$	CCR5	Célula T, célula dendrítica, monócito e recrutamento de NK; coreceptor de HIV
CCL5	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL7	MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL8	MCP-2	CCR3, CCR5	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL9	MIP-1 $\gamma$	CCR1	Recrutamento de DC, diferenciação de osteoclastos
CCL11	Eotaxina	CCR3	Eosinófilo, basófilo e recrutamento de T <sub>H</sub> 2
CCL12	MCP-5	CCR2	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL14	HHC-1	CCR1, CCR5	
CCL15	MIP-1 $\delta$	CCR1, CCR3	Recrutamento de leucócitos misturados
CCL16	HHC-4	CCR1, CCR2	Recrutamento de linfócitos e monócitos
CCL17	TARC	CCR4	Recrutamento de células T
CCL18	DC-CK1	CCR8	Migração de linfócitos e células dendríticas
CCL19	MIP-3 $\beta$ /ELC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para as zonas parafoliculares dos linfonodos
CCL20	MIP-3 $\alpha$	CCR6	Recrutamento de T <sub>H</sub> 17, posicionamento de DC nos tecidos
CCL21	SLC	CCR7	Migração de células T e células dendríticas para as zonas parafoliculares dos linfonodos
CCL22	MDC	CCR4	Célula NK, recrutamento de células T
CCL23	MIPF-1	CCR1	Monócito, neutrófilo, migração de células T
CCL24	Eotaxina-2	CCR3	Eosinófilo, basófilo e recrutamento de T <sub>H</sub> 2
CCL25	TECK	CCR9	Recrutamento de linfócitos para o intestino
CCL26	Eotaxina-3	CCR3	Eosinófilo, basófilo e recrutamento de T <sub>H</sub> 2
CCL27	CTACK	CCR10	Recrutamento de células T para a pele
CCL28	MEC	CCR10	Migração de células T e B para a mucosa
Quimiocinas CXC			
CXCL1	GRO $\alpha$	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL2	GRO $\beta$	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL3	GRO $\gamma$	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL4	PF4	CXCR3B	Agregação plaquetária
CXCL5	ENA-78	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL7	NAP-2	CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR2	Recrutamento de neutrófilos
CXCL9	Mig	CXCR3	Recrutamento de células T efetoras
CXCL10	IP-10	CXCR3, CXCR3B	Recrutamento de células T efetoras
CXCL11	I-TAC	CXCR3, CXCR7	Recrutamento de células T efetoras
CXCL12	SDF-1 $\alpha\beta$	CXCR4	Recrutamento de leucócitos misturados, coreceptor para HIV
CXCL13	BCA-1	CXCR5	Migração de células B para os folículos; migração da célula T auxiliar folicular para os folículos
CXCL14	BRAK		Migração de monócitos e células dendríticas
CXCL16	-	CXCR6	Receptor scavenger de macrófago
Quimiocinas C			
XCL1	Linfotactina	XCR1	Recrutamento de células T e células NK
XCL2	SCM-1 $\beta$	XCL1	
Quimiocinas CX <sub>3</sub> C			
CX3CL1	Fractalina	CX3CR1	Recrutamento de células T, células NK e monócitos; ativação de CTL e célula NK

## Estrutura, Produção e Receptores de Quimiocinas

Existem cerca de 50 quimiocinas humanas, todas as quais são polipeptídios de 8 a 10 kD que contêm duas alças dissulfeto internas. As quimiocinas estão classificadas em quatro famílias baseadas no número e localização de resíduos N-terminais de cisteína. As duas principais famílias são as quimiocinas CC (também chamadas de  $\beta$ ), onde os dois resíduos de cisteína são adjacentes, e a família CXC (ou  $\alpha$ ), onde estes resíduos são separados por um aminoácido. Essas diferenças se correlacionam com a organização das subfamílias em grupos de genes separados. Poucas quimiocinas adicionais têm uma única cisteína (família C) ou duas cisteínas separadas por três aminoácidos (CX<sub>3</sub>C). As quimiocinas foram originalmente denominadas com base em como elas foram identificadas e quais respostas eram disparadas, mas uma nomenclatura padrão foi adotada, levando em conta os receptores aos quais as quimiocinas se ligam ([Tabela 3-2](#)). Embora existam exceções, o recrutamento de neutrófilos é mediado principalmente pelas quimiocinas CXC, o recrutamento de monócitos é mais dependente das quimiocinas CC e o recrutamento de linfócitos é mediado por ambas as quimiocinas CXC e CC.

As quimiocinas das subfamílias CC e CXC são produzidas pelos leucócitos e por vários tipos de células teciduais, tais como células endoteliais, células epiteliais e fibroblastos. Em muitas destas células, a secreção das quimiocinas é induzida pelo reconhecimento dos microrganismos através de vários receptores celulares do sistema imune inato, conforme discutido no [Capítulo 4](#). Além disso, as citocinas inflamatórias, incluindo TNF, IL-1 e IL-17, induzem a produção de quimiocinas. Várias quimiocinas CC também são produzidas por células T ativadas, fornecendo uma ligação entre a imunidade adaptativa e o recrutamento de leucócitos inflamatórios.

**Os receptores para quimiocinas pertencem à superfamília de receptores de sete domínios transmembranares acoplados à proteína G e ligados ao trifosfato de guanosina (GTP) (GPCR).** Estes receptores iniciam respostas intracelulares através de proteínas G triméricas associadas. As proteínas G estimulam alterações no citoesqueleto e a polimerização de actina e filamento de miosina, resultando em motilidade celular aumentada. Como discutido previamente, estes sinais também alteram a conformação das integrinas da superfície das células e aumentam a afinidade das integrinas por seus ligantes. Os receptores das quimiocinas podem ser rapidamente regulados negativamente com a exposição à quimiocina, e este deve ser o provável mecanismo para o término das respostas.

**Diferentes combinações de receptores de quimiocinas são expressas em diferentes tipos de leucócitos, o que resulta em padrões distintos de migração dos leucócitos.** Existem 10 receptores distintos para as quimiocinas CC (chamados de CCR1 ao CCR10), seis para as quimiocinas CXC (chamados de CXCR1 ao CXCR6) e um para CX<sub>3</sub>CL1 (chamado de CX<sub>3</sub>CR1) ([Tabela 3-2](#)). Os receptores de quimiocinas são expressos em todos os leucócitos, com o maior

número e diversidade vistos nas células T. Os receptores exibem uma sobreposição de especificidade para quimiocinas dentro de cada família, e o padrão da expressão celular dos receptores determina quais tipos celulares respondem a quais quimiocinas. Certos receptores de quimiocinas, notavelmente CCR5 e CXCR4, agem como correceptores para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Cap. 21).

## Ações Biológicas das Quimiocinas

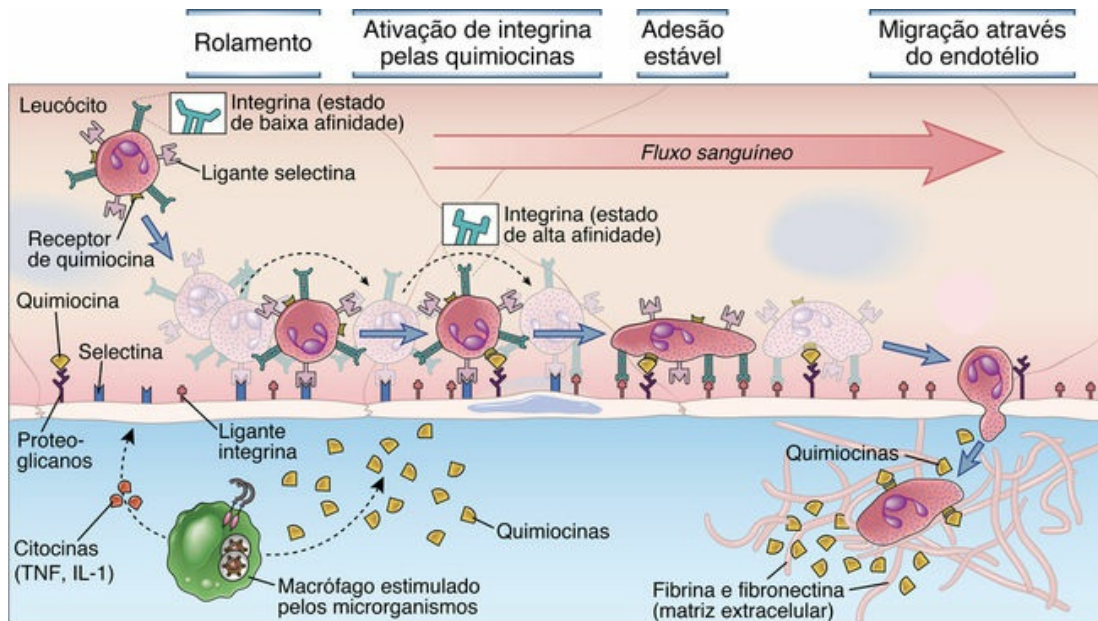
Algumas quimiocinas são produzidas por células em resposta a estímulos externos e estão envolvidas em reações inflamatórias, ao passo que outras quimiocinas são produzidas constitutivamente em tecidos e têm papel na organização tecidual. As principais ações das quimiocinas são adesão aumentada dos leucócitos circulantes ao endotélio através da ativação da integrina e estimulação direta do movimento dos leucócitos nos tecidos, pela quimioatração.

- **As quimiocinas são essenciais para o recrutamento de leucócitos circulantes dos vasos sanguíneos para os locais extravasculares.** O recrutamento de leucócitos do sangue para os tecidos é regulado pelas ações de várias quimiocinas. Diferentes quimiocinas agem em diferentes células e, em coordenação com os tipos de moléculas de adesão expressas, controlam a natureza do infiltrado inflamatório. As quimiocinas têm dois papéis na inflamação:
  - ^ **Adesão aumentada dos leucócitos ao endotélio.** As quimiocinas produzidas nos tecidos se ligam aos proteoglicanos heparan sulfato nas células endoteliais que revestem as vênulas pós-capilares. As quimiocinas ligadas são apresentadas aos leucócitos circulantes que estão ligados nas superfícies endoteliais por meio de interações com moléculas de adesão. A apresentação endotelial fornece uma alta concentração local de quimiocinas, permitindo que elas se liguem aos receptores de quimiocinas nos leucócitos. Os sinais dos receptores de quimiocinas levam à afinidade aumentada da integrina, o que resulta em forte adesão do leucócito, um passo fundamental para a migração dos leucócitos para fora dos vasos sanguíneos em direção ao tecido extravascular.
  - ^ **Migração dos leucócitos para locais de infecção ou tecido danificado.** As quimiocinas produzidas nos tecidos extravasculares agem nos leucócitos que saíram da circulação e estimulam o movimento dos leucócitos ao longo de um gradiente de concentração da proteína secretada em direção à sua fonte, um processo denominado quimiotaxise. Assim, os leucócitos migram em direção às células infectadas e danificadas nos tecidos.
- **As quimiocinas estão envolvidas no desenvolvimento dos órgãos linfoides e regulam o tráfego dos linfócitos e outros leucócitos através das diferentes regiões dos tecidos linfoides periféricos.** Abordaremos a função das quimiocinas na organização anatômica dos tecidos linfoides no [Capítulo 2](#).

- **As quimiocinas são necessárias para a migração das células dendríticas dos locais de infecção para a drenagem dos linfonodos.** As células dendríticas são ativadas pelos microrganismos nos tecidos periféricos e, então, migram para os linfonodos para informar os linfócitos T da presença de infecção (conforme discutido no [Cap. 6](#)). Esta migração depende da expressão de um receptor de quimiocina, CCR7, que é induzido quando a célula dendrítica encontra os microrganismos. O CCR7 se liga a quimiocina produzida pelas células endoteliais linfáticas nos tecidos, promovendo, então, o movimento da célula dendrítica para os vasos linfáticos que drenam para os linfonodos. Uma vez no linfonodo, as células dendríticas são atraídas pelas mesmas quimiocinas produzidas nas zonas interfoliculares, onde as células T *naïve* também migram em resposta a essas quimiocinas. Isso explica como as células dendríticas e as células T *naïve* se localizam o mesmo local nos linfonodos, permitindo que as células dendríticas apresentem o antígeno para as células T.

## Interações leucócito-endotélio e recrutamento de leucócitos para os tecidos

**Selectinas, integrinas e quimiocinas trabalham em conjunto para regular a migração dos leucócitos para os tecidos.** Estudos destas interações *in vitro*, sob condições que mimetizam o fluxo sanguíneo, e *in vivo*, usando técnicas de microscopia intravital, estabeleceram uma sequência de eventos comuns para a migração da maioria dos leucócitos na maioria dos tecidos ([Fig. 3-3](#)). Estes eventos incluem os seguintes:



**FIGURA 3-3** Múltiplos passos da interação leucócito-endotélio mediando o recrutamento de leucócitos para os tecidos.

Nos locais de infecção, os macrófagos que encontraram microrganismos produzem citocinas (como TNF e IL-1) que ativam as células endoteliais de vênulas próximas a produzirem selectinas, ligantes para integrinas e quimiocinas.

As selectinas medeiam a fraca ligação dos leucócitos sanguíneos ao endotélio, e a força de cisalhamento do fluxo sanguíneo faz os leucócitos rolares ao longo da superfície endotelial. As quimiocinas produzidas nos tecidos infectados vizinhos ou pelas células endoteliais são mostradas na superfície endotelial e se ligam a receptores nos leucócitos em rolamento, o que resulta em ativação das integrinas do leucócito a um estado de alta afinidade de ligação. As integrinas ativadas se ligam às suas superfamílias de ligantes nas células endoteliais, o que medeia a firme adesão dos leucócitos. Os leucócitos passam, então, pelas junções entre as células endoteliais e migram através da parede venular. Neutrófilos, monócitos e linfócitos T utilizam essencialmente os mesmos mecanismos para migrar para fora do sangue.

- **Rolamento de leucócitos no endotélio mediado por selectina.** As células endoteliais que revestem as vênulas pós-capilares são ativadas em resposta aos microrganismos, citocinas (incluindo TNF e IL-1) produzidas pelos macrófagos e outras células teciduais que encontram os microrganismos, e outros mediadores,



tais como histamina e trombina, que podem ser produzidos durante várias reações inflamatórias. As citocinas estimulam a expressão endotelial de E-selectina, e outros mediadores induzem a expressão na superfície de P-selectina. Nos locais de inflamação, os vasos sanguíneos se dilatam e o fluxo sanguíneo fica mais lento. Como resultado, os leucócitos, sendo maiores do que as hemácias, tendem a se mover para fora do eixo axial central do fluxo e mais próximos do revestimento do vaso, um processo conhecido como marginação. Isso permite que os ligantes de E- e P-selectinas expressos nos microvilos dos leucócitos se liguem às selectinas nas células endoteliais. Pelo fato de as interações selectina-ligante de selectina serem de baixa afinidade ( $K_D \sim 100 \mu\text{m}$ ) com uma taxa de desligamento alta, elas são facilmente rompidas pela força de cisalhamento do sangue circulante. Como resultado, os leucócitos repetitivamente desligam e se ligam novamente e, assim, rolam ao longo da superfície endotelial. Esta lentificação dos leucócitos no endotélio permite que o próximo passo do estímulo no processo de várias fases aja nos leucócitos.

- **Aumento na afinidade das integrinas mediada pela quimiocina.** As quimiocinas apresentadas nas células endoteliais das vênulas pós-capilares no local de uma infecção se ligam a seus receptores nos leucócitos em rolamento. Como discutido anteriormente, isso resulta em ligação mais forte das integrinas dos leucócitos a seus ligantes na superfície endotelial.
- **Adesão estável de leucócitos ao endotélio mediada pela integrina.** Em paralelo à ativação das integrinas, a expressão de seus ligantes nas células endoteliais é regulada positivamente pelas citocinas inflamatórias e produtos microbianos nos locais de infecção. Estes ligantes incluem VCAM-1, que se liga à integrina VCLA-4, e ICAM-1, que se liga às integrinas LFA-1 e Mac-1. Assim, os leucócitos se ligam firmemente ao endotélio, seu citoesqueleto é reorganizado e eles se espalham para fora da superfície endotelial.
- **Transmigração de leucócitos através do endotélio.** Mais frequentemente, os leucócitos transmigram entre as bordas das células endoteliais, um processo chamado de transmigração paracelular, para alcançar os tecidos extravasculares. A transmigração paracelular depende das integrinas nos leucócitos e seus ligantes nas células endoteliais, assim como outras proteínas, notavelmente a CD31, que é expressa nos leucócitos e células endoteliais. Este processo necessita de um rompimento transiente e reversível das proteínas das junções aderentes, primariamente o complexo VE-caderina, que mantém as células endoteliais juntas. O mecanismo responsável pelo rompimento do complexo VE-caderina envolve a ativação de quinases quando as integrinas do leucócito se ligam a ICAM-1 ou VCAM-1. As quinases fosforilam a cauda citoplasmática de VE-caderina e levam ao rompimento reversível dos complexos aderentes. Menos frequente, foi observado o movimento dos leucócitos através das células endoteliais em vez de entre elas, por um processo pouco compreendido e chamado de migração

transcelular.

Estes passos básicos são vistos na migração de todos os leucócitos através do endotélio. Entretanto, neutrófilos, monócitos e diferentes subgrupos de linfócitos diferem para quais tecidos eles migram e quando eles o fazem em reações inflamatórias e o estado de equilíbrio. Esta especificidade na migração do leucócito é baseada na expressão de combinações distintas de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas, como discutiremos em mais detalhes posteriormente.

Evidências do papel essencial das selectinas, integrinas e quimiocinas na migração de leucócitos surgiram de camundongos *knockout* para genes e raras doenças hereditárias humanas chamadas de *deficiências de adesão*. Por exemplo, camundongos sem fucosiltransferases, que são enzimas necessárias para sintetizar os carboidratos ligantes que se ligam às selectinas, apresentam marcantes defeitos na migração de leucócitos e nas respostas imunes. Humanos que não têm o transportador fucose no complexo de Golgi, necessário para expressar os carboidratos ligantes para E-selectina e P-selectina em neutrófilos, têm problemas similares, resultando em uma síndrome denominada deficiência da adesão de leucócito tipo 2 (LAD-2) (Cap. 21). Similarmente, uma deficiência recessiva herdada, no gene *CD18*, que codifica a subunidade  $\beta$  de LFA-1 e Mac-1, é a causa de uma doença imunodeficiente denominada deficiência de adesão de leucócito tipo 1 (LAD-1). Esses distúrbios são caracterizados por infecções recorrentes por bactérias e fungos, falta de acúmulo de neutrófilos nos locais de infecção e defeitos nas funções dos linfócitos dependentes de aderência. Raras mutações humanas nas vias de sinalização que ligam os receptores de quimiocinas à ativação da integrina também resultam em prejuízo na adesão do leucócito e recrutamento para os tecidos e, assim, defesa ineficiente dos leucócitos contra infecções, uma síndrome denominada deficiência de adesão de leucócito tipo 3 (LAD-3).

## Migração de neutrófilos e monócitos para locais de infecção ou lesão tecidual

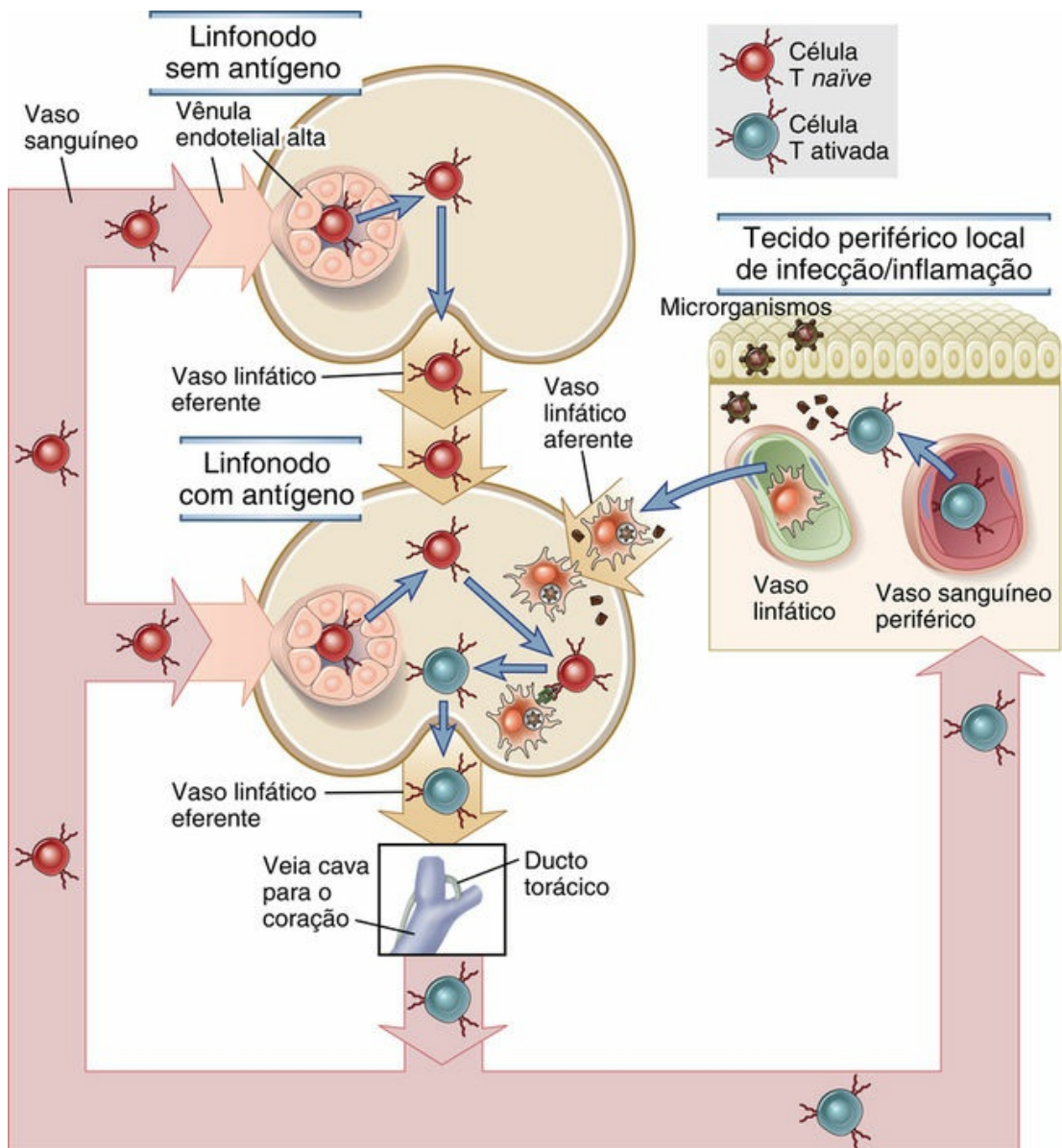
Após a maturação na medula óssea, neutrófilos e monócitos entram no sangue e circulam por todo o corpo. Embora estas células possam realizar algumas funções fagocíticas dentro do sangue, seus principais papéis, incluindo a fagocitose e destruição dos microrganismos e de células teciduais mortas, ocorrem em locais extravasculares de infecção em virtualmente qualquer local do corpo.

***Neutrófilos e monócitos sanguíneos são recrutados para os locais teciduais de infecção ou lesão por processos de múltiplos passos dependentes de selectina, integrina e quimiocina***, que seguem uma sequência básica comum para a migração de todos os leucócitos para os tecidos, como já discutido anteriormente. Conforme abordaremos em detalhes no [Capítulo 4](#), os neutrófilos são os primeiros tipos de leucócitos a serem recrutados do sangue para o

local de infecção ou lesão tecidual. O recrutamento de monócitos segue horas depois e continua, talvez por dias, após a parada no recrutamento dos neutrófilos. Além disso, em alguns locais inflamatórios, os neutrófilos não são recrutados, mas os monócitos o são. Estes diferentes comportamentos migratórios provavelmente refletem variações na expressão relativa de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas nos neutrófilos *versus* monócitos. Os neutrófilos expressam CXCR1 e CXCR2, que se ligam a múltiplas famílias GRO de quimiocinas, incluindo CXCL8 (IL-8), a principal quimiocina que suporta a migração dos neutrófilos para os tecidos (Tabela 3-2). O recrutamento precoce dos neutrófilos é uma consequência da produção precoce e abundante de CXCL8 pelos macrófagos residentes nos tecidos em resposta às infecções. Contrapondo-se aos neutrófilos, os monócitos clássicos, que são o principal tipo de monócito recrutado para os locais inflamatórios, expressam CCR2. Este receptor se liga a várias quimiocinas, a mais importante para o recrutamento do monócito sendo a CCL2 (MCP-1). Assim, o recrutamento do monócito ocorre quando as células teciduais residentes expressam CCL2 em resposta à infecção. Os monócitos não clássicos perdem o CCR2, mas expressam o CX3CR1. O ligante deste receptor, CX3CR1 (também chamado de fractalquina), é expresso em ambas as formas solúvel e como uma molécula ligada à membrana que pode suportar a adesão dos monócitos ao endotélio.

## Migração e recirculação de linfócitos T

**Os linfócitos estão continuamente se movendo através do sangue, vasos linfáticos, órgãos linfoides secundários e tecidos não linfoides periféricos, e populações distintas de linfócitos mostram diferentes padrões de tráfego através destes locais (Fig. 3-4).** Quando as células T *naïve* maduras emergem do timo e entram no sangue, elas chegam aos linfonodos, ao baço ou aos tecidos linfoides mucosos e migram para as zonas de células T destes tecidos linfoides secundários. Se a célula T não reconhecer o antígeno nestes locais, ela permanece *naïve* e deixa os nodos ou tecidos mucosos através dos linfáticos e, eventualmente, drena de volta para a corrente sanguínea. Uma vez de volta ao sangue, a célula T *naïve* repete seu ciclo de chegada nos tecidos linfoides secundários. Este padrão dos linfócitos *naïve*, chamado de **recirculação de linfócito**, maximiza as chances de que pequeno número de linfócitos *naïve* que são específicos para um antígeno estranho em particular irá encontrar aquele antígeno se ele for apresentado em qualquer local do corpo. Os linfócitos que reconheceram e se tornaram ativados pelo antígeno dentro dos tecidos linfoides secundários proliferam e se diferenciam para produzir milhares de células efetoras e de memória. Os linfócitos efetores e de memória podem se mover de volta para a corrente sanguínea e, então, migrar para locais de infecção ou inflamação nos tecidos periféricos (não linfóide).



**FIGURA 3-4** Vias de recirculação de linfócitos T.

As células T *naïve* preferencialmente deixam o sangue e entram nos linfonodos através das vênulas endoteliais. As células dendríticas com antígeno entram nos linfonodos através dos vasos linfáticos. Se as células T reconhecerem o antígeno, elas se tornam ativadas e retornam para a circulação através dos linfáticos eferentes e ducto torácico, que termina na veia cava superior, posteriormente no coração e, finalmente, na circulação arterial. As células T efetoras e de memória preferencialmente deixam o sangue e entram nos tecidos periféricos através das vênulas dos locais com inflamação. A recirculação através dos órgãos linfoides periféricos diferentes dos linfonodos não é mostrada.

Alguns subgrupos de linfócitos efetores chegam preferencialmente a um local em particular, tais como pele ou intestinos (Cap. 14). A existência de diferentes padrões de adesão garante que diferentes subgrupos de linfócitos serão distribuídos para os microambientes teciduais em que são necessários para combater diferentes tipos de microrganismos e não, desperdiçados, em locais onde não teriam nenhum propósito. Na seção a seguir, descreveremos os mecanismos e vias de recirculação e adesão de linfócitos. Nossa discussão enfatiza as células T porque sabe-se mais sobre seu movimento através dos tecidos do que é conhecido sobre a recirculação da célula B, porém muitos mecanismos parecem se aplicar a ambos os tipos celulares.

## Recirculação de Linfócitos *Naïve* entre o Sangue e Órgãos Linfoides Secundários

A recirculação do linfócito T depende de mecanismos que controlam a entrada das células T *naïve* do sangue para os linfonodos, assim como sinais moleculares que controlam quando as células T *naïve* sairão dos nodos. Discutiremos estes dois mecanismos separadamente.

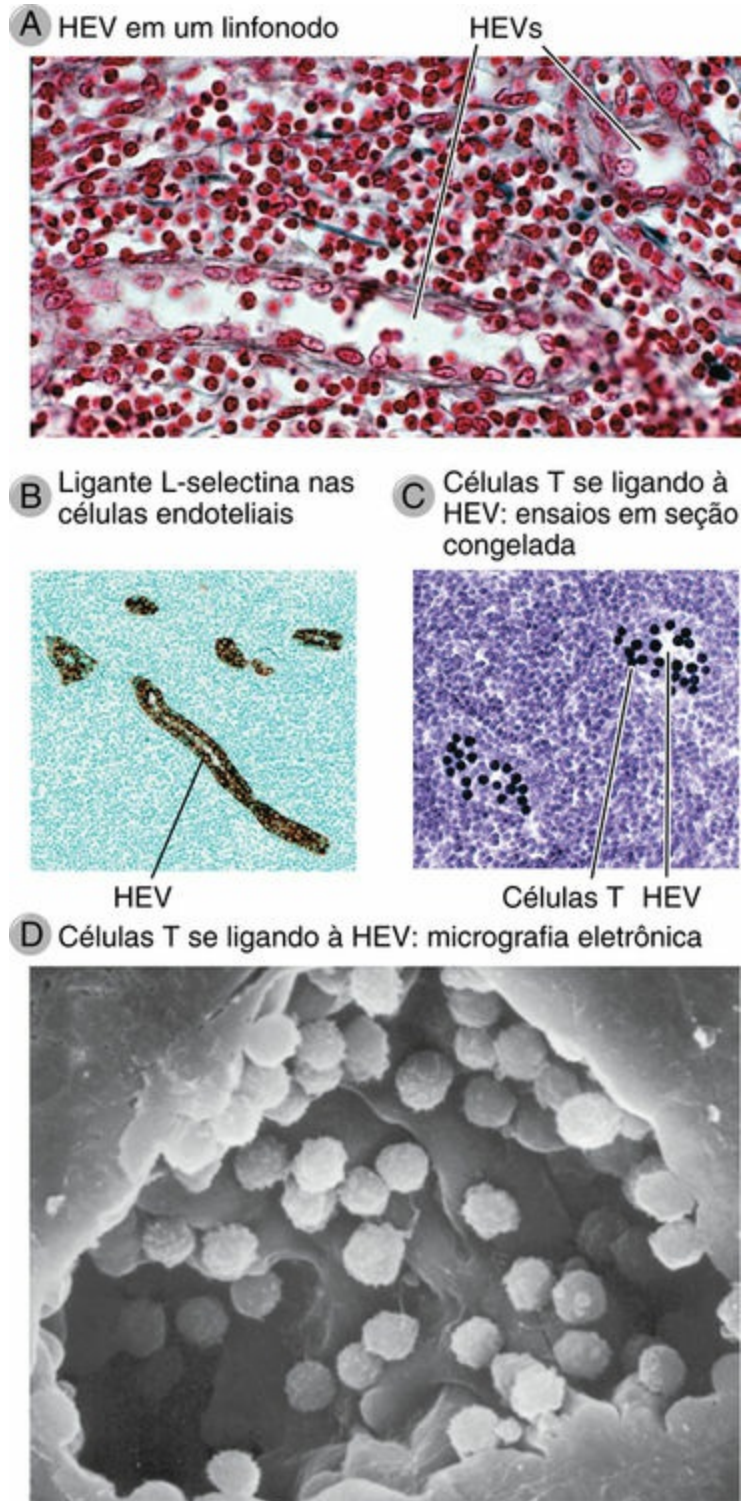
### Migração de Células T *Naïve* para os Linfonodos

Os mecanismos de adesão que levam as células T *naïve* para os linfonodos são muito eficientes, resultando em um fluxo de linfócitos através dos linfonodos de até  $25 \times 10^9$  células a cada dia. Em média, cada linfócito passa através de um nodo uma vez ao dia. A inflamação em tecido periférico, o que normalmente acompanha as infecções, causa um aumento significativo no fluxo sanguíneo para os linfonodos drenando o local da inflamação. Ao mesmo tempo, a saída das células T para os linfáticos eferentes é transientemente reduzida por mecanismos que discutiremos posteriormente, de tal forma que as células T permanecem nos linfonodos que drenam os locais de inflamação por tempo maior do que em outros linfonodos. Antígenos proteicos estão concentrados nos linfonodos e outros órgãos linfoides secundários, onde eles são apresentados às células T pelas células dendríticas, o tipo de célula apresentadora de antígeno que é mais capaz de iniciar as respostas das células T *naïve* (Cap. 6). Assim, o movimento e retenção transiente das células T *naïve* nos órgãos linfoides secundários, juntamente à captura e concentração de antígeno, maximizam as chances da ativação da célula T e início de uma resposta imune adaptativa.

***A adesão das células T *naïve* nos linfonodos e tecidos linfoides associados à mucosa ocorre através de vênulas pós-capilares especializadas chamadas de vênulas endoteliais altas (HEVs) localizadas nas zonas da célula T.*** Os linfócitos T *naïve* são distribuídos aos tecidos linfoides secundários através do fluxo sanguíneo arterial, e eles deixam a circulação e migram para o

estroma dos linfonodos através das HEVs. Estes vasos são revestidos com células endoteliais gordas, e não as células endoteliais achatadas que são típicas de outras vênulas (Fig. 3-5). As HEVs também estão presentes nos tecidos linfoides mucosos, tais como placas de Peyer no intestino, mas não no baço. As células endoteliais das HEVs são especializadas para apresentar certas moléculas de adesão e quimiocinas em suas superfícies, o que suporta a chegada seletiva de somente determinadas populações de linfócitos. Certas citocinas, tais como a linfotoxina, são necessárias para o desenvolvimento da HEV. De fato, as HEVs podem se desenvolver em locais extralinfoides de inflamação crônica onde essas citocinas são produzidas por períodos prolongados.



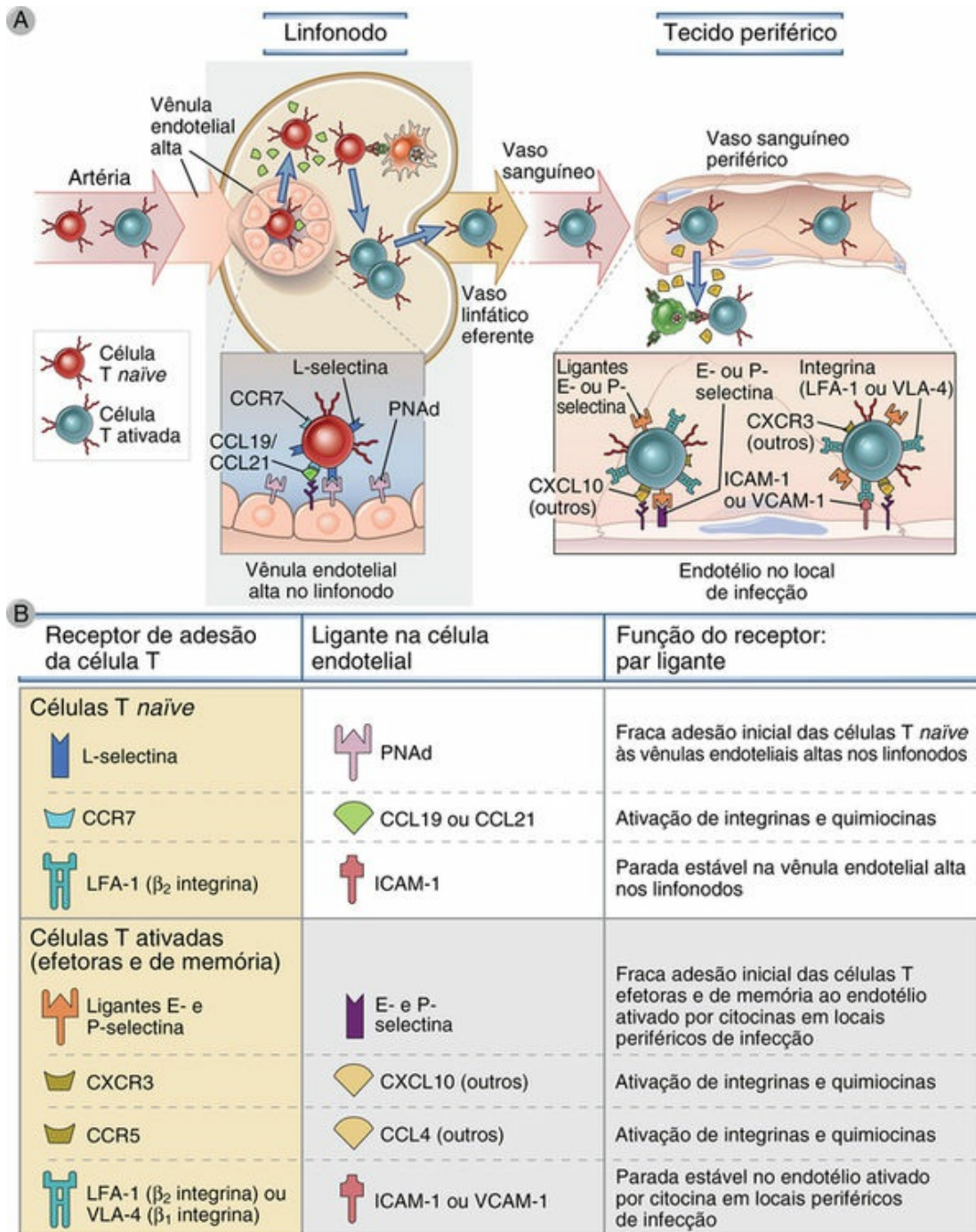


**FIGURA 3-5** Vênulas endoteliais altas.

**A**, Micrografia de luz de uma HEV em um linfonodo ilustrando as células endoteliais altas. (Cortesia de Dr. Steve Rosen, Department of Anatomy, University of California, San Francisco). **B**, Expressão de L-selectina ligante nas HEVs, corada com um anticorpo específico por técnica de imunoperoxidase. (A localização do anticorpo é revelada por

uma reação marrom, produto da peroxidase, que está acoplada ao anticorpo; ver Apêndice IV para detalhes.) As HEVs são abundantes na zona de células T do linfonodo. (Cortesia de Drs. Steve Rosen e Akio Kikuta, Department of Anatomy, University of California, San Francisco.) **C**, Um ensaio de ligação no qual linfócitos são incubados com seções congeladas de um linfonodo. Os linfócitos (corados em azul-escuro) se ligam seletivamente às HEVs. (Cortesia de Dr. Steve Rosen, Department of Anatomy, University of California, San Francisco). **D**, Micrografia eletrônica de varredura de uma HEV com linfócitos ligados à superfície luminal das células endoteliais. (Cortesia de J. Emerson e T. Yednock, University of California, San Francisco, School of Medicine. De Rosen SD, Stoolman LM: Potential role of cell surface lectin in lymphocyte recirculation. In Olden K, Parent J [Eds.]: Vertebrate lectins. New York, 1987, Van Nostrand Reinhold.)

***A migração da célula T naíve para fora do sangue através das HEVs para o parênquima dos linfonodos é um processo com vários passos, consistindo em rolamento das células mediado por selectina, ativação de integrina induzida por quimiocina, firme adesão mediada pela integrina e transmigração através da parede do vaso.*** Este processo inclui eventos sequenciais descritos mais cedo para migração de todos os leucócitos (Fig. 3-3), mas algumas destas moléculas envolvidas são relativamente específicas para a chegada das células T naíve aos linfonodos (Fig. 3-6).



**FIGURA 3-6** Moléculas envolvidas na migração de linfócitos T *naïve* e efetores.

**A**, Linfócitos T *naïve* chegam aos linfonodos como resultado da ligação da L-selectina nas adressinas dos linfonodos periféricos (PNAd) das vênulas endoteliais altas, que estão presentes somente nos órgãos linfoides secundários, e como resultado da ligação das quimiocinas (CCL19 e CCL21) dispostas na superfície da vênula endotelial alta. Linfócitos T ativados, incluindo as células efetoras, chegam aos locais de infecção nos tecidos periféricos, e esta migração é mediada

por E-selectina e P-selectina, integrinas e quimiocinas que são produzidas nos locais de infecção. Quimiocinas adicionais e receptores de quimiocinas, além dos mostrados, estão envolvidos na migração da célula T efetora/memória. **B**, Moléculas de adesão, quimiocinas e receptores de quimiocinas envolvidos na migração da célula T *naïve* e efetora/memória estão descritos.

- O rolamento das células T *naïve* nas HEVs nos órgãos linfoides periféricos é mediado pela L-selectina na ligação dos linfócitos ao seu ligante carboidrato, adressina do nodo periférico (PNAd), nas HEVs. Os grupos de carboidratos PNAd que se ligam à L-selectina podem fazer a ligação a diferentes sialomucinas nas HEVs em diferentes tecidos. Por exemplo, nas HEVs de linfonodos, o PNAd é mostrado como duas sialomucinas, chamadas de GlyCAM-1 (molécula 1 de adesão de célula com glicano) e CD34. Nas placas de Peyer na parede intestinal, o ligante de L-selectina é uma molécula chamada de MadCAM-1 (molécula 1 de adesão celular de adressina de mucosa).
- Assim como na migração do leucócito para outros locais, a subsequente e firme adesão das células T *naïve* para as HEVs é mediada pelas integrinas, principalmente a LFA-1.
- As quimiocinas que ativam as integrinas da célula T *naïve* a um estado de alta afinidade são a CCL19 e a CCL21, que estão envolvidas somente na chegada do leucócito às zonas da célula T dos tecidos linfoides (Cap. 2). A principal fonte de CCL19 e CCL21 são as células reticulares de fibroblastos dentro da zona da célula T, e a CCL19 também é constitutivamente produzida pelas HEVs. Estas quimiocinas são apresentadas na superfície da HEV e reconhecidas pelos linfócitos em rolamento. Ambas as quimiocinas se ligam ao receptor CCR7 de quimiocina, que é expresso em altos níveis nos linfócitos *naïve*. Esta interação das quimiocinas com o CCR7 garante que as células T aumentem a avidéz pela integrina e sejam capazes de aderir firmemente às HEVs. Lembre-se de que o CCR7 também controla a migração da célula dendrítica pelos linfáticos em direção aos linfonodos.

O importante papel para a L-selectina e quimiocinas na chegada da célula T *naïve* aos tecidos linfoides secundários é suportado por muitas observações experimentais diferentes. Linfócitos de camundongos *knockout* em L-selectina não se ligam às HEVs de linfonodo periférico, e os camundongos demonstram uma marcada redução no número de linfócitos nos linfonodos periféricos. Existem poucas células T *naïve* nos linfonodos de camundongos com deficiências genéticas em CCL19 e CCL21, ou CCR7.

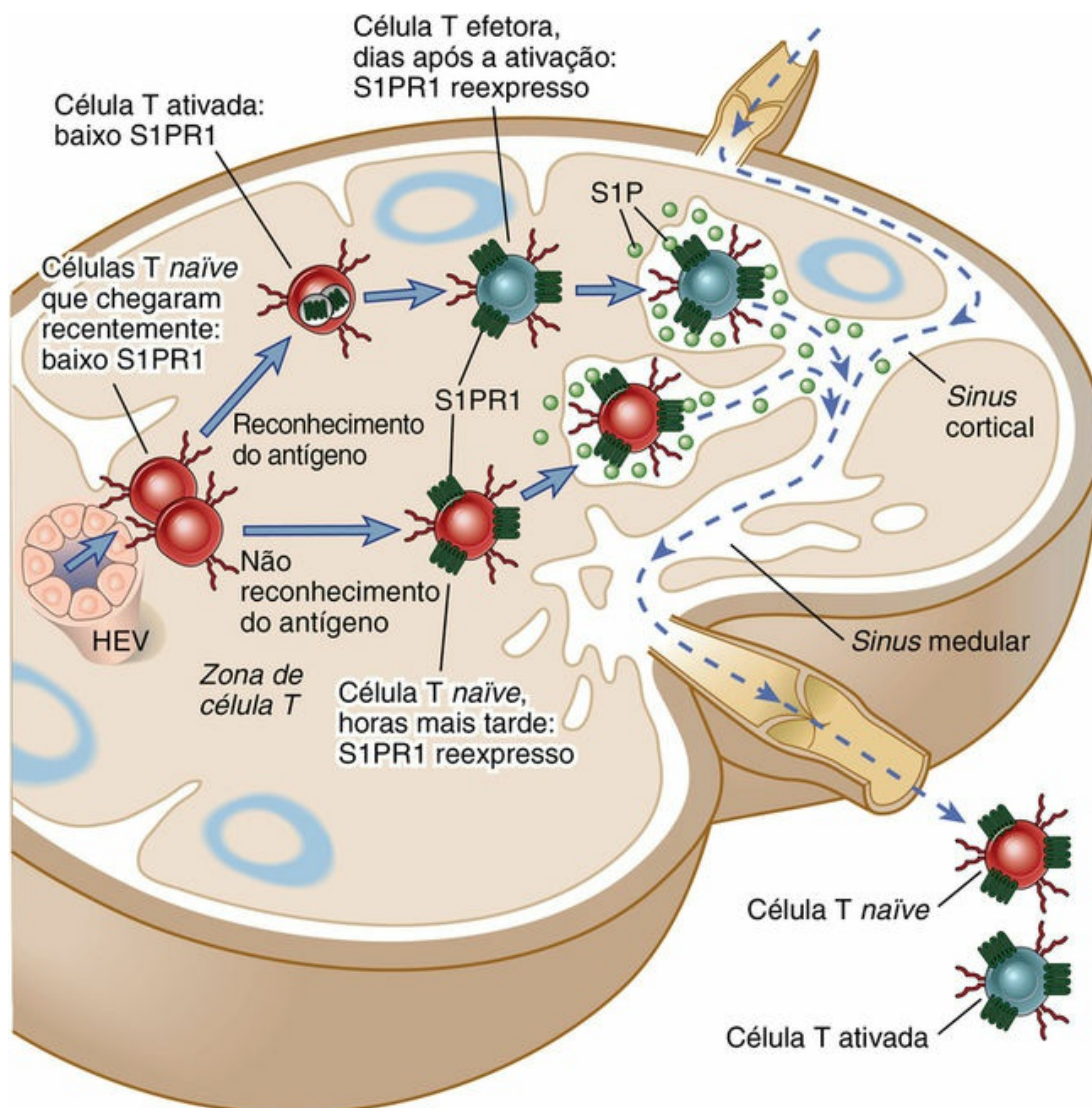
## Saída das Células T dos Linfonodos



***As células T naíve que chegaram aos linfonodos, mas falharam em reconhecer o antígeno e não estão ativadas retornarão à corrente sanguínea.***

Este retorno ao sangue completa uma alça de recirculação e fornece às células T naíve outra chance de entrar nos tecidos linfoides secundários e procurar pelos antígenos que elas podem reconhecer. A principal rota de entrada no sangue é através dos linfáticos eferentes, então através da vasculatura linfática para o ducto torácico ou linfático direito e, finalmente, para a veia cava superior ou veia subclávia direita.

***A saída das células T naíve dos linfonodos é dependente de um lipídio quimioatraente denominado esfingosina 1-fosfato (S1P), que se liga a um receptor de sinalização nas células T chamado de receptor 1 da esfingosina 1-fosfato (S1PR1), (Fig. 3-7).*** O S1P está presente em maiores concentrações no sangue e linfa do que nos tecidos. Este gradiente de concentração é mantido porque a enzima de degradação de S1P, a S1P liase, está presente na maioria dos tecidos; assim, o lipídio é mais catabolizado nos tecidos do que na linfa e no sangue. O S1PR1 é um receptor acoplado à proteína G. Sinais gerados pela ligação de S1P aos S1PR1 nas células T naíve estimulam o movimento direcionado das células em direção ao gradiente de concentração de S1P para fora do parênquima do linfonodo. As células T naíve circulantes têm muito pouco S1PR1 de superfície, porque a alta concentração sanguínea de S1P causa internalização do receptor. Após a célula T naíve entrar no linfonodo, em que as concentrações de S1P são baixas, o S1PR1 de superfície é reexpresso por um período de várias horas. Este tempo permite que a célula T naíve interaja com as células apresentadoras de antígeno. Uma vez que o receptor S1PR1 é expresso, a célula T deixa o linfonodo e é direcionado para o gradiente de concentração de S1P para dentro do linfático eferente.



**FIGURA 3-7** Mecanismo de saída de linfócitos dos órgãos linfoides.

As células T *naíve* circulantes apresentam baixos níveis de S1PR1 porque o receptor é internalizado após a ligação de S1P no sangue. Dessa maneira, as células T *naíve* que recentemente entraram no linfonodo não conseguem detectar o gradiente de concentração de S1P entre a zona da célula T do nodo e a linfa nos *sinus* medular e linfáticos eferentes, e estas células T não saem do nodo. Após a ativação de uma célula T *naíve* pelo antígeno, S1PR1 não é reexpresso por vários dias e as células ativadas também não deixarão o nodo. Após várias horas para as células T *naíve* ou dias para as células T ativadas e efetoras diferenciadas, S1PR1 é reexpresso e estas células podem detectar o gradiente de S1P e sair do nodo.



Se a célula T *naïve* é ativada pelo antígeno no linfonodo, a reexpressão do S1PR1 é suprimida por vários dias e, assim, a habilidade das células em deixar o tecido linfóide em resposta a um gradiente de S1P é retardada. Esta supressão de S1PR1 é controlada em parte por citocinas chamadas de interferons de tipo I que são expressos durante as respostas imunes inatas às infecções, como abordaremos no [Capítulo 4](#). Juntos, a estimulação antigênica e os interferons aumentam a expressão de uma proteína de membrana da célula T denominada CD69, que se liga ao S1PR1 e reduz sua expressão na superfície celular. Então, a célula T ativada se torna transientemente insensível ao gradiente de S1P. Isso permite que as células T ativadas por antígeno permaneçam no órgão linfóide e sofram expansão clonal e diferenciação em células T efetoras, um processo que pode perdurar por vários dias. Quando a diferenciação em células efetoras está completa, as células perdem o CD69, reexpressam o S1PR1 e se tornam responsivas ao gradiente de concentração de S1P, que medeia a saída das células do linfonodo.

O S1P e o S1PR1 também são necessários para que a célula T *naïve* madura saia do timo e migração das células B secretoras de anticorpo dos órgãos linfóides secundários.

Nossa compreensão sobre o papel do S1P e do S1PR1 no trânsito da célula T é baseada em grande parte em estudos com um fármaco denominado fingolimod (FTY720), que se liga ao S1PR1 e causa sua regulação negativa na superfície da célula. O fingolimod bloqueia a saída da célula T dos órgãos linfóides e, desse modo, age como um fármaco imunossupressor. Ele está aprovado para o tratamento da esclerose múltipla, uma doença autoimune do sistema nervoso central, e existe grande interesse no uso do fingolimod e outros fármacos com um mecanismo de ação similar para tratar várias doenças autoimunes e rejeição a transplantes. Evidências experimentais adicionais para o papel central do S1P no trânsito da célula T *naïve* provêm de estudos com camundongos com ablação genética do S1PR1. Nestes camundongos, existe uma falha das células T em saírem do timo e popularem os órgãos linfóides secundários. Se as células T *naïve* de camundongos *knockout* em S1PR1 são injetadas na circulação de outro camundongo, as células entram nos linfonodos, mas são incapazes de sair.

## Recirculação de Células Através de outros Tecidos Linfóides

A chegada da célula T *naïve* aos tecidos linfóides associados ao intestino, incluindo placas de Peyer e linfonodos mesentéricos, é fundamentalmente similar à chegada a outros linfonodos e invoca interações das células T com as HEVs. Como em outros tecidos, essas interações são mediadas por selectinas, integrinas e quimiocinas. Uma característica particular da chegada da célula T *naïve* aos linfonodos periféricos e às placas de Peyer é a contribuição da molécula MadCAM-1 da superfamília de Ig

(molécula 1 de adesão celular da adressina de mucosa), que é expressa nas HEVs nestes locais, mas não tipicamente em outros locais do corpo. As células T *naïve* expressam dois ligantes que se ligam ao MadCAM-1, a L-selectina e a integrina  $\alpha_4\beta_7$ , e ambos contribuem para o passo de rolamento na chegada da célula T *naïve* aos tecidos linfoides associados ao intestino.

A migração da célula T para o baço não é finamente regulada como o é a chegada aos linfonodos. O baço não contém HEVs e parece que as células T *naïve* são distribuídas na zona marginal e *sinus* da polpa vermelha por mecanismos que não envolvem selectinas, integrinas ou quimiocinas. Entretanto, as quimiocinas que se ligam a CCR7 participam no direcionamento das células T *naïve* para a polpa branca. Embora a chegada das células T ao baço pareça menos finamente regulada do que a chegada aos linfonodos, a taxa de linfócitos que passam através do baço é muito alta, cerca de metade da população circulante total de linfócitos a cada 24 horas.

## Migração dos Linfócitos T Efetores para Locais de Infecção

**As células T efectoras que foram geradas por ativação induzida por antígeno de células T *naïve* saem dos tecidos linfoides secundários através da drenagem linfática e retornam para o sangue circulante.** Muitas das funções antimicrobianas protetoras das células T efectoras têm que ser realizadas localmente nos locais de infecção; desse modo, essas células precisam ser capazes de deixar os tecidos linfoides. Durante a diferenciação das células T *naïve* em células efectoras, as células sofrem alterações na expressão de S1PR1, receptores de quimiocinas e moléculas de adesão, que promovem a saída dos linfonodos. A partir dos linfáticos, as células T efectoras drenarão para o sangue e, então, estarão disponíveis para circular por todo o corpo.

**As células T efectoras chegam preferencialmente aos locais de infecção no tecido periférico em vez de tecidos linfoides, por causa de uma alteração na molécula de adesão e na expressão do receptor de quimiocina.** O processo de chegada do linfócito efector aos tecidos infectados ocorre nas vênulas pós-capilares e é mediado pelo mesmo processo de vários passos dependente de selectina, integrina e quimiocina de outros leucócitos (Fig. 3-6). Assim como com neutrófilos e monócitos, as células T efectoras na circulação, mas não as células T *naïve*, expressam os ligantes para selectina, integrinas e receptores de quimiocinas, que se ligam aos tipos de selectinas, ligantes de integrinas e quimiocinas, respectivamente, que são expressas no endotélio ativado (Fig. 3-6). Em contrapartida, as duas moléculas necessárias para a entrada seletiva das células T *naïve* nos órgãos linfoides secundários através da HEV (CCR7 e L-selectina) são reduzidas nas células T efectoras; desse modo, essas células não reentram prontamente nos tecidos linfoides.

A ativação induzida por antígeno das células T efetoras em tecidos inflamados e a presença de quimiocinas mantêm as integrinas destas células em um estado de alta afinidade, o que favorece a retenção das células T efetoras nestes locais. A maioria das células efetoras que entram no local da infecção eventualmente morre nestes locais após realizarem suas funções efetoras.

**Existem diferentes subgrupos de células efetoras, cada qual com funções distintas, e estes subgrupos têm padrões diferentes, embora frequentemente com sobreposição dos padrões de migração.** As células T efetoras incluem as células T citotóxicas CD8<sup>+</sup> e as células T auxiliares CD4<sup>+</sup>. As células T auxiliares abrangem os subgrupos TH1, TH2 e TH17, cada qual expressando diferentes tipos de citocinas e protegendo contra diferentes tipos de microrganismos. As características e funções destes subgrupos serão discutidas em detalhes no [Capítulo 10](#). Por agora, é suficiente saber que a migração destes subgrupos mostra algumas diferenças. Isso porque a gama de receptores de quimiocinas e moléculas de adesão expressos por cada subgrupo difere de tal forma que resulta em recrutamento preferencial de cada subgrupo para locais inflamatórios elicitados por diferentes tipos de infecções.

**Algumas células efetoras têm uma propensão de migrar para tipos particulares de tecidos.** Esta capacidade de migração seletiva é adquirida durante a diferenciação das células T efetoras a partir dos precursores *naïve* nos tecidos linfoides secundários. Permitindo que grupos distintos de células T efetoras migrem para locais diferentes, o sistema imune adaptativo direciona as células com funções efetoras especializadas para os locais onde elas são mais adequadas para lidar com tipos particulares de infecções. Os exemplos mais claros das populações de células T efetoras que especificamente chegam a diferentes tecidos são as células T que migram para a pele e o intestino, cujos padrões de migração refletem a expressão de diferentes moléculas de adesão e receptores de quimiocinas em cada subgrupo. Marcadamente, esses fenótipos migratórios distintos das células T efetoras que migram para a pele e o intestino podem ser induzidos por sinais distribuídos às células T *naïve* no momento da apresentação do antígeno pelas células dendríticas ou nos linfonodos subcutâneos ou nos tecidos linfoides associados ao intestino, respectivamente. Discutiremos em detalhes a migração do linfócito específico para o tecido no [Capítulo 14](#).

## Migração de Células T de Memória

**As células T de memória são heterogêneas em seus padrões de expressão de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas e em sua propensão em migrar para diferentes tecidos.** Pelo fato de as maneiras de identificação das células T de memória ainda serem imperfeitas ([Caps. 2 e 9](#)), a distinção entre as células T efetoras e de memória em estudos experimentais e em humanos

frequentemente não é precisa. Dois subgrupos de células T de memória, chamados de células T de memória central e de memória efetora, foram inicialmente identificados com base nas diferenças na expressão de CCR7 e L-selectina. As células T de memória central foram definidas como células T sanguíneas CD45RO<sup>+</sup> que expressam altos níveis de CCR7 e L-selectina; as células T de memória efetora foram definidas como células T sanguíneas CD45RO<sup>+</sup> que expressam baixos níveis de CCR7 e L-selectina, mas expressam outros receptores de quimiocina que se ligam a quimiocinas inflamatórias. Estes fenótipos sugerem que as células T de memória central chegam aos órgãos linfoides secundários, ao passo que as células T de memória efetora chegam aos tecidos periféricos. Embora as populações de célula T de memória central e efetora também possam ser detectadas em camundongos, estudos experimentais indicaram que a expressão de CCR7 não é um marcador definitivo para distinguir essas subpopulações de célula T de memória. Todavia, está claro que algumas células T de memória permanecem nos órgãos linfoides secundários ou migram para eles, ao passo que outras migram para os tecidos periféricos, especialmente tecidos mucosos. Em geral, as células T de memória efetoras que migram para o tecido periférico respondem à estimulação antigênica com uma rápida produção de citocinas, ao passo que as células de memória central baseadas no tecido linfóide tendem a se proliferar mais, fornecendo um conjunto de células para respostas repetidas.

## Migração de linfócitos B

***As células B naíve utilizam os mesmos mecanismos básicos que as células T naíve para migrarem para os tecidos linfoides secundários de todo o corpo, o que garante sua probabilidade de responder aos antígenos microbianos em locais diferentes.*** As células B imaturas deixam a medula óssea através do sangue, entram na polpa vermelha do baço e migram para a periferia da polpa branca. Quando elas amadurecem, as células B expressam o receptor de quimiocina CDCCR5, que promove seus movimentos para a polpa branca em resposta a uma quimiocina denominada CXCL13. Uma vez que a maturação esteja completa dentro da polpa branca, as células B foliculares entram novamente na circulação e migram para os linfonodos e tecidos linfoides mucosos. A migração das células B *naíve* do sangue para os linfonodos envolve interações nas HEVs para o rolamento, ativação de integrinas pelas quimiocinas e controle estável, como descrito anteriormente para as células T *naíve*. Este processo necessita dos receptores de quimiocinas CXCR4 e CCR7 nas células B *naíve* e seus respectivos ligantes CXCL12 e CCL19/CCL21. Uma vez que as células B *naíve* tenham entrado no estroma dos órgãos linfoides secundários, elas migram para os folículos, onde elas podem encontrar o antígeno e se tornarem ativadas. Esta migração das células B *naíve* para os folículos é mediada pela CXCL13, que é produzida nos folículos pelas células estromais não

hematopoiéticas, chamadas de células dendríticas foliculares, e se liga aos receptores CXCR5 nas células B *naïve*. A CXCL13 é apresentada nos condúites de células reticulares fibroblásticas na zona de célula T e condúites de células dendríticas foliculares nos folículos, ambos os quais servem para guiar o movimento direcional das células B. A migração das células B *naïve* para as placas de Peyer envolve a CXCR5 e a integrina  $\alpha_4\beta_7$ , que se liga ao MadCAM-1. Durante o curso de respostas da célula B aos antígenos proteicos, as células B e as células T auxiliares têm que interagir diretamente, e isso é feito possivelmente por movimentos finamente regulados de ambos os tipos celulares dentro dos órgãos linfoides secundários. Estes eventos migratórios locais e as quimiocinas que os orquestram serão discutidos em detalhes no [Capítulo 12](#).

### ***A saída das células B dos órgãos linfoides secundários depende de S1P.***

Isso foi mostrado para plasmócitos diferenciados secretores de anticorpo nos linfonodos e no baço, que deixam estes órgãos linfoides secundários nos quais eles foram gerados a partir das células B *naïve* após ativação pelo antígeno e migração para medula óssea ou locais teciduais. As células B foliculares no baço migram para a zona marginal e, então, são carregadas pelo fluido, através da polpa vermelha e para a circulação. As células B foliculares deficientes de S1PR1 têm habilidade reduzida para deixar o baço. Presumivelmente, as células B foliculares *naïve* que entraram nos tecidos linfoides secundários, mas não se tornaram ativadas pelos antígenos entram novamente na circulação, como as células T fazem, mas não é claro como este processo é controlado. As células B da zona marginal esplênica são transportadas de volta e para frente entre a zona marginal e os folículos, mas não saem para a circulação em roedores. Em humanos, estas células circulam e também são encontradas em volta dos folículos nos linfonodos.

***Subgrupos de células B comprometidas com a produção de tipos particulares de anticorpos migram dos órgãos linfoides secundários para tecidos específicos.*** Como discutiremos em capítulos posteriores, populações diferentes de células B ativadas podem secretar diferentes tipos de anticorpos, chamados de isotipos, cada um realizando um conjunto distinto de funções efetoras. Muitos plasmócitos produtores de anticorpo migram para a medula óssea, onde eles secretam anticorpos por longos períodos. A maioria dos plasmócitos que migram para a medula óssea produz anticorpos IgG, que são então distribuídos por todo o corpo através da corrente sanguínea. As células B dentro dos tecidos linfoides associados à mucosa normalmente se tornam comprometidas com a expressão do isotipo IgA de anticorpo, e estas células comprometidas podem migrar especificamente para tecidos mucosos que recobrem o epitélio. Este padrão de migração, combinado com a diferenciação local dentro das células B da mucosa em plasmócitos secretores de IgA, serve para otimizar as respostas IgA às infecções da mucosa, bem como garantir a proteção basal da IgA nas barreiras mucosas. Conforme abordaremos em mais detalhes no [Capítulo 14](#), a IgA é secretada eficientemente no lúmen de tecidos

revestidos por epitélio mucoso, tais como intestino e trato respiratório.

Os mecanismos pelos quais as populações de células B migram para os diferentes tecidos são, sem surpresas, similares aos que descrevemos para a migração específica para tecido das células T efetoras e dependem da expressão de combinações distintas de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas em cada subgrupo de célula B. Por exemplo, os plasmócitos secretores de IgG que migram para a medula óssea expressam VLA-4 e CXCR4, que se ligam respectivamente a VCAM-1 e CXCL12, expressos nas células endoteliais sinusoidais da medula óssea. Em contrapartida, os plasmócitos secretores de IgA que migram para a mucosa expressam  $\alpha 4\beta 7$ , CCR9 e CCR10, que se ligam respectivamente a MadCAM-1, CCL25 e CCL28, expressos ou apresentados nas células endoteliais mucosas. As células B secretoras de IgG também são recrutadas para locais inflamatórios crônicos em vários tecidos, e este padrão de migração pode ser atribuído a CXCR3 e VLA-4 nestas células que se ligam a VCAM-1, CXCL9 e CXCL10, os quais frequentemente são encontrados na superfície endotelial em locais de inflamação crônica.

## Resumo

A migração de leucócitos do sangue para os tecidos ocorre através das vênulas pós-capilares e depende de moléculas de adesão expressas nos leucócitos e células endoteliais vasculares, bem como quimiocinas.

As selectinas são as moléculas de adesão de ligação de carboidrato que medeiam a interação de baixa afinidade dos leucócitos com as células endoteliais, o primeiro passo na migração de leucócitos do sangue para os tecidos. E-selectina e P-selectina são expressas nas células endoteliais ativadas por citocinas e se ligam aos ligantes de selectina nos leucócitos, e a L-selectina é expressa em leucócitos e se liga aos ligantes nas células endoteliais.

As integrinas constituem uma grande família de moléculas de adesão, algumas das quais medeiam a firme adesão dos leucócitos com endotélio ativado, um passo crucial na migração do leucócito do sangue para os tecidos. As integrinas importantes dos leucócitos incluem LFA-1 e VLA-4, que se ligam a ICAM-1 e VCAM-1, respectivamente, nas células endoteliais. As quimiocinas e outros sinais nos locais de infecção aumentam a afinidade das integrinas nos leucócitos, e várias citocinas (TNF, IL-1) aumentam a expressão dos ligantes de integrina no endotélio.

A migração de leucócitos do sangue para os tecidos envolve uma série de interações sequenciais com as células endoteliais, começando com a ligação de baixa afinidade do leucócito e rolamento deste ao longo da superfície da célula endotelial (mediada pelas selectinas e ligantes de selectinas). Em seguida, os leucócitos permanecem firmemente ligados ao endotélio através de interações das integrinas dos leucócitos se ligando aos ligantes da superfamília de Ig no endotélio.



A recirculação de linfócitos é um processo pelo qual os linfócitos *naïve* migram continuamente do sangue para os órgãos linfoides secundários através das HEVs, de volta ao sangue através dos linfáticos e para outros órgãos linfoides secundários. Este processo maximiza a chance da célula *naïve* se encontrar com o antígeno que ela reconhece e é crítico para o início das respostas imunes. As células B e T *naïve* migram preferencialmente para os linfonodos. Este processo é mediado pela ligação da L-selectina nos linfócitos à adressina de linfonodos periféricos, em HEVs em linfonodos e pela ligação do receptor CCR7 nos linfócitos às quimiocinas CCL19 e CCL21, que são produzidas nos linfonodos. Os linfócitos efetores e de memória que são gerados pela estimulação antigênica das células *naïve* saem do linfonodo por um processo dependente do receptor de esfingosina-1 fosfato nos linfócitos e um gradiente de esfingosina-1 fosfato. As células T efetoras têm expressão reduzida de L-selectina e CCR7, mas expressão aumentada de integrinas e ligantes de E-selectina e P-selectina, e estas moléculas medeiam a ligação ao endotélio nos locais inflamatórios periféricos. Os linfócitos efetores e de memória também expressam receptores para quimiocinas que são produzidos em tecidos periféricos infectados.

## Leituras selecionadas

### Moléculas de Adesão

Hogg, N., Patzak, I., Willenbrock, F. The insider's guide to leukocyte integrin signalling and function. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:416–426.

Kolaczkowska, E., Kubes, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:159–175.

Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, M. I., Nourshargh, S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Reviews Immunology*. 2007; 7:678–689.

Muller, W. A. Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. *Annual Review of Pathology*. 2011; 6:323–344.

### Quimiocinas

Griffith, J. W., Sokol, C. L., Luster, A. D. Chemokines and chemokine receptors: positioning cells for host defense and immunity. *Annual Review of Immunology*. 2014; 32:659–702.

Sallusto, F., Baggiolini, M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature Immunology*. 2008; 9:949–952.

Zlotnik, A., Yoshie, O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*. 2012; 36:705–716.

## **Migração de Linfócito através dos Tecidos Linfóides**

Bajénoff, M., Egen, J. G., Qi, H., Huang, A. Y., Castellino, F., Germain, R. N. Highways, byways and breadcrumbs: directing lymphocyte traffic in the lymph node. *Trends in Immunology*. 2007; 28:346–352.

Cyster, J. G., Schwab, S. R. Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:69–94.

Masopust, D., Schenkel, J. M. The integration of T cell migration, differentiation and function. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:309–320.

Sigmundsdóttir, H., Butcher, E. C. Environmental cues, dendritic cells and the programming of tissue-selective lymphocyte trafficking. *Nature Immunology*. 2008; 9:981–987.

Weninger, W., Biro, M., Jain, R. Leukocyte migration in the interstitial space of non-lymphoid organs. *Nature Reviews Immunology*. 14, 2014. [in press].

## CAPÍTULO 4

# Imunidade Inata

### VISÃO GERAL DE IMUNIDADE INATA

Funções e Reações das Respostas Imunes Inatas

Características Comparativas das Imunidades Inata e Adaptativa

Evolução da Imunidade Inata

### RECONHECIMENTO DE MICROORGANISMOS E OS PRÓPRIOS DANIFICADOS PELO SISTEMA IMUNE INATO

### RECEPTORES DE RECONHECIMENTO DE PADRÃO ASSOCIADOS À CÉLULA E SENSORES DA IMUNIDADE INATA

Receptores do Tipo Toll

Receptores Citosólicos para PAMPs e DAMPs

Outros Receptores de Reconhecimento de Padrão Associados à Célula

### COMPONENTES CELULARES DO SISTEMA IMUNE INATO

Barreiras Epiteliais

Fagócitos

Células Dendríticas

Células *Natural Killer* e outras Células Linfoides Inatas

Linfócitos T e B com Diversidade Limitada de Receptor de Antígeno

Mastócitos

### RECONHECIMENTO SOLÚVEL E MOLÉCULAS EFETORAS DA IMUNIDADE INATA

Sistema Complemento

Pentraxinas

Colectinas e Ficolinas

### RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Principais Citocinas Pró-Inflamatórias TNF, IL-1 e IL-6

Recrutamento de Leucócitos para os Locais de Infecção

Ingestão e Morte de Microrganismos por Fagócitos Ativados

Consequências Sistêmicas e Patológicas da Inflamação

### RESPOSTA ANTIVIRAL

## Visão geral de imunidade inata

O sistema imune inato, que foi brevemente introduzido no [Capítulo 1](#), consiste em muitos tipos celulares e moléculas solúveis nos tecidos e no sangue que constantemente previnem microrganismos de entrarem e estabelecerem infecções. Se os microrganismos se estabelecerem, as respostas imunes inatas fornecem a defesa inicial, antes que as respostas imunes adaptativas possam se desenvolver (Fig. 1-1). Neste capítulo, descreveremos em mais detalhes os componentes, a especificidade e os mecanismos antimicrobianos do sistema imune inato. Embora o foco da maior parte deste livro esteja no papel da resposta imune adaptativa na defesa do hospedeiro e na doença, ao longo dele abordaremos o impacto do sistema imune inato nas respostas imunes adaptativas e como o sistema imune inato contribui para a proteção contra infecções.

## Funções e Reações das Respostas Imunes Inatas

A imunidade inata desempenha três funções essenciais que nos protegem contra microrganismos e lesões teciduais.

- **A imunidade inata é a resposta inicial aos microrganismos que previne, controla ou elimina a infecção do hospedeiro por muitos patógenos.** A importância da imunidade inata na defesa do hospedeiro é ilustrada por observações clínicas e estudos experimentais que mostram que deficiências, inibição ou eliminação de quaisquer dos mecanismos da imunidade inata marcadamente aumentam a suscetibilidade a infecções, mesmo quando o sistema imune adaptativo está intacto ou funcional. Muitos microrganismos patogênicos desenvolveram estratégias para resistir à imunidade inata, as quais são cruciais para a virulência dos microrganismos. As respostas imunes inatas a esses microrganismos podem manter a infecção sob controle até que as respostas imunes adaptativas mais especializadas sejam ativadas. As respostas imunes adaptativas, com frequência mais potentes e especializadas, são capazes de eliminar os microrganismos que resistem aos mecanismos de defesa da imunidade inata.
- **Os mecanismos imunes inatos eliminam células danificadas e iniciam o processo de reparo tecidual.** Esses mecanismos reconhecem e respondem às moléculas do hospedeiro que são produzidas pelas, ou liberadas, ou acumuladas em células mortas do hospedeiro, estressadas e danificadas. A lesão que inicia

essas respostas inatas pode ocorrer no contexto de infecção e célula estéril e dano tecidual na ausência de infecção.

- **A imunidade inata estimula as respostas imunes adaptativas e pode influenciar a natureza das respostas adaptativas para torná-las otimamente efetivas contra diferentes tipos de microrganismos.** Assim, a imunidade inata não atua somente em funções defensivas logo após a infecção, mas também fornece sinais que alertam o sistema imune adaptativo para responder. Além disso, diferentes componentes da resposta imune inata frequentemente reagem de maneiras distintas a diversos microrganismos (p. ex., bactéria *versus* vírus) e, assim, influenciam o tipo de resposta imune adaptativa que se desenvolve. Retornaremos a esse conceito no final do capítulo.

**Os dois principais tipos de respostas do sistema imune inato que protegem contra microrganismos são a defesa inflamatória e a antiviral.** A inflamação é o processo pelo qual leucócitos circulantes e proteínas plasmáticas são trazidos para os locais de infecção nos tecidos e são ativados para destruir e eliminar os agentes agressores. A inflamação também é a principal reação às células danificadas ou mortas e aos acúmulos de substâncias anormais nas células e nos tecidos. A defesa antiviral consiste em alterações nas células que previnem a replicação viral e aumentam a suscetibilidade à morte pelos linfócitos, eliminando, assim, os reservatórios de infecção viral.

Em adição à inflamação ativa e resposta antiviral às infecções, o sistema imune inato inclui defesas físicas e químicas em barreiras epiteliais tais como a pele e cobertura dos tratos gastrointestinal e respiratório, que atuam todo o tempo para bloquear a entrada microbiana. Além disso, o sistema imune inato abrange várias células circulantes, como neutrófilos, e proteínas, como complemento, que podem eliminar os microrganismos do sangue.

## Características Comparativas das Imunidades Inata e Adaptativa

Para a compreensão de como as imunidades inata e adaptativa se complementam para proteção contra patógenos, é instrutivo ressaltar suas importantes diferenças:

- As respostas imunes inatas aos microrganismos são imediatas e não necessitam de uma primeira exposição ao microrganismo. Em outras palavras, as células e moléculas efetoras imunes inatas estão completamente funcionais mesmo antes da infecção ou são rapidamente ativadas pelos microrganismos para prevenir, controlar ou eliminar infecções. Em contrapartida, as respostas imunes adaptativas efetivas a um microrganismo recentemente introduzido se desenvolvem ao longo de vários dias como clones de linfócitos, se expandem e se diferenciam em células efetoras funcionais.
- Não há alteração considerável na qualidade ou magnitude da resposta imune inata

ao microrganismo após exposição repetida, ou seja, existe pouca ou nenhuma memória. Em contrapartida, a exposição repetida a um microrganismo aumenta a rapidez, magnitude e efetividade das respostas imunes adaptativas.

- A resposta imune inata é ativada pelo reconhecimento de um quadro relativamente limitado de estruturas moleculares que são produtos dos microrganismos ou são expressas por células do hospedeiro que estão mortas ou lesionadas. É estimado que o sistema imune inato reconheça somente cerca de 1.000 produtos de microrganismos ou células danificadas. Em contrapartida, o sistema imune adaptativo potencialmente pode reconhecer milhões de diferentes estruturas moleculares de microrganismos e, também, antígenos ambientais não microbianos, assim com os próprios antígenos que normalmente estão presentes em tecidos saudáveis. Os vários tipos de receptores que são responsáveis pelas diferentes especificidades dos sistemas imunes inato e adaptativo serão descritos mais adiante neste capítulo e em capítulos subsequentes.

## Evolução da Imunidade Inata

A imunidade inata, a primeira linha de defesa contra as infecções, é filogeneticamente a parte mais antiga do sistema inato. Ela coevoluiu com os microrganismos para proteger todos os organismos celulares contra infecções. Alguns componentes do sistema imune inato de mamíferos são marcadamente similares aos componentes de plantas e insetos, sugerindo que surgiram em ancestrais comuns muito tempo atrás na evolução. Por exemplo, peptídios que são tóxicos para bactérias e fungos, chamados de defensinas, são encontrados em plantas e mamíferos e têm essencialmente a mesma estrutura terciária em ambas as formas de vida. Uma família de receptores que apresentaremos em detalhes mais adiante neste capítulo, denominados receptores do tipo Toll, reconhece microrganismos patogênicos e ativa mecanismos de defesa antimicrobianos. Os receptores do tipo Toll são encontrados em todas as formas de vida na árvore revolucionária de insetos até mamíferos. A principal via de transdução do sinal que os receptores do tipo Toll disparam para ativar as células, chamada de via do NF- $\kappa$ B em mamíferos, também mostra marcada conservação evolucionária. De fato, a maioria dos mecanismos de defesa imune inata que abordaremos neste capítulo aparece claramente na evolução, quando os primeiros organismos multicelulares evoluíram, cerca de 750 milhões de anos atrás. Um sistema imune adaptativo, em contrapartida, é claramente reconhecido somente em vertebrados que surgiram cerca de 350 a 500 milhões de anos atrás.

Iniciaremos nossa discussão sobre a imunidade inata com a descrição da maneira pela qual o sistema imune inato reconhece microrganismos e células danificadas do hospedeiro. Prosseguiremos, então, para os componentes individuais da imunidade inata e suas funções na defesa do hospedeiro.

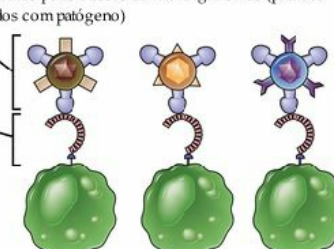
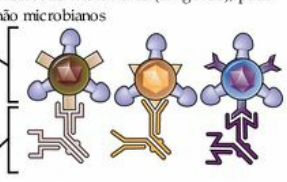
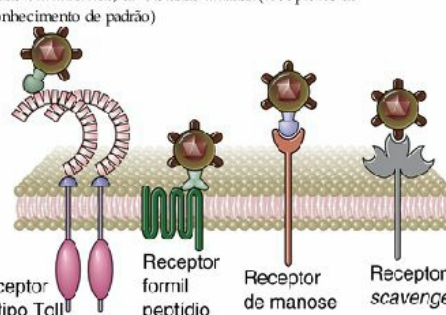
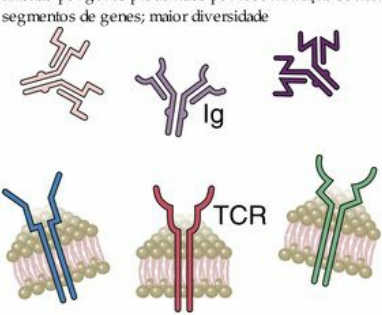


# Reconhecimento de microrganismos e os próprios danificados pelo sistema imune inato

A especificidade do reconhecimento imune inato evoluiu para combater microrganismos e é diferente da especificidade do sistema imune adaptativo em vários aspectos (Tabela 4-1).

**Tabela 4-1**

## Especificidade das Imunidades Inata e Adaptativa

	Imunidade Inata	Imunidade Adaptativa
Especificidade	<p>Para estruturas compartilhadas pelas classes de microrganismos (padrões moleculares associados com patógeno)</p> <p>Diferentes microrganismos</p> <p>Receptor do tipo Toll</p> 	<p>Para detalhe estrutural das moléculas microbianas (antígenos); pode reconhecer antígenos não microbianos</p> <p>Diferentes microrganismos</p> <p>Moléculas distintas de anticorpos</p> 
Receptores	<p>Codificado em linha mãe; diversidade limitada (receptores de reconhecimento de padrão)</p>  <p>Receptor do tipo Toll</p> <p>Receptor formil peptídeo</p> <p>Receptor de manose</p> <p>Receptor scavenger</p>	<p>Codificado por genes produzidos por recombinação somática de segmentos de genes; maior diversidade</p>  <p>Ig</p> <p>TCR</p>
Distribuição de receptores	Não clonal; receptores idênticos em todas as células da mesma linhagem	Clonal; clones de linfócitos com especificidades distintas expressam diferentes receptores
Discriminação do próprio e não próprio	Sim; células saudáveis do hospedeiro não são reconhecidas ou podem expressar molecular que previnem as reações imunes inatas	Sim; com base na eliminação ou inativação de linfócitos autorreativos; pode ser imperfeito (dando origem à autoimunidade)

**O sistema imune inato reconhece estruturas moleculares que são produzidas pelos patógenos microbianos.** As substâncias microbianas que estimulam a imunidade inata frequentemente são compartilhadas por classes de microrganismos e são chamadas de **padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs)**. Diferentes tipos de microrganismos (p. ex., vírus, bactérias Gram-negativas, bactérias Gram-positivas, fungos) expressam diferentes PAMPs. Essas estruturas incluem ácidos nucleicos que são exclusivos dos microrganismos, tais como RNA de fita dupla encontrado em vírus em replicação e sequências de DNA CpG não metiladas encontradas em bactérias; características de proteínas que são encontradas em microrganismos, tais como iniciação por N-formilmetionina, que é típica de proteínas bacterianas; e lipídios complexos e carboidratos que são sintetizados pelos microrganismos, **mas não por células de mamíferos**, tais como

lipopolissacarídios (LPS) em bactérias Gram-negativas, ácido lipoteicoico em bactérias Gram-positivas e oligossacarídios com resíduos de manose terminal encontrados em glicoproteínas de microrganismos, mas não em glicoproteínas de mamíferos (Tabela 4-2). Enquanto o sistema imune inato evoluiu para reconhecer somente um número limitado de moléculas que são únicas aos microrganismos, o sistema imune adaptativo é capaz de reconhecer muitas substâncias estranhas diferentes sendo ou não produtos dos microrganismos.

## Tabela 4-2

### Exemplos de PAMPs e DAMPs

Padrões Moleculares	Associados a Patógenos	Tipo de Microrganismo
Ácidos nucleicos	ssRNA	Vírus
	dsRNA	Vírus
	CpG	Vírus, bactéria
Proteínas	Pilina	Bactéria
	Flagelina	Bactéria
Lipídios da parede celular	LPS	Bactérias Gram-negativas
	Ácido lipoteicoico	Bactérias Gram-positivas
Carboidratos	Manam	Fungos, bactérias
	Glucanas	Fungos
Padrões Moleculares Associados ao Dano		
Proteínas induzidas por estresse	HSPs	
Cristais	Urato monossódico	
Proteínas nucleares	HMGB1	

*CpG*, oligonucleotídeo rico em citosina-guanina; *dsRNA*, RNA de fita dupla; *HMGB1*, box 1 de grupo de alta mobilidade; *HSP*, proteína de choque séptico; *LPS*, lipopolissacarídeo; *ssRNA*, RNA de fita simples.

**O sistema imune inato reconhece produtos microbianos que frequentemente são essenciais para a sobrevivência dos microrganismos.**

Essa característica do reconhecimento imune inato é importante porque garante que os alvos da imunidade inata não possam ser descartados pelos microrganismos em um esforço para evadir ao reconhecimento pelo hospedeiro. Um exemplo de alvo da imunidade inata que é indispensável para os microrganismos é o RNA viral de fita dupla, que é um intermediário essencial no ciclo de vida de muitos vírus.

Similarmente, LPS e ácido lipoteicoico são componentes estruturais das paredes das células bacterianas que são reconhecidas pelos receptores imunes inatos; ambos são necessários para a sobrevivência bacteriana. Em contrapartida, como veremos no Capítulo 16, os microrganismos podem sofrer mutação ou perder muitos dos

antígenos que são reconhecidos pelo sistema imune adaptativo, permitindo, assim, que os microrganismos escapem da defesa do hospedeiro sem comprometer sua própria sobrevivência.

**O sistema imune inato também reconhece moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas de células danificadas ou mortas.** Essas substâncias são chamadas de **padrões moleculares associados ao dano (DAMPs)** (Tabela 4-2). Os DAMPs podem ser produzidos como resultado de dano celular causado por infecções, mas eles também podem indicar lesão estéril às células causada por qualquer das inúmeras razões, tais como toxinas químicas, queimaduras, trauma ou redução no suprimento sanguíneo. Os DAMPs geralmente não são liberados de células que estão em processo de apoptose. Em alguns casos, células saudáveis do sistema imune são estimuladas a produzir e liberar certos DAMPs, algumas vezes chamados de alarminas, que aumentam a resposta imune inata às infecções.

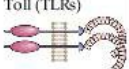
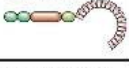
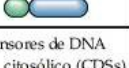
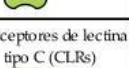

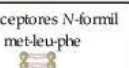


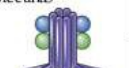


**O sistema imune inato usa vários tipos de receptores celulares, presentes em diferentes localizações nas células, e moléculas solúveis no sangue e secreções mucosas para reconhecer PAMPs e DAMPs** (Tabela 4-3). As moléculas de reconhecimento associadas à célula, do sistema imune inato, são expressas por fagócitos (primariamente macrófagos e neutrófilos), células dendríticas, células epiteliais que formam a interface da barreira entre o corpo e o meio ambiente externo e muitos outros tipos de células que ocupam tecidos e órgãos. Esses receptores celulares para patógenos e moléculas associadas a dano frequentemente são chamados de **receptores de reconhecimento de padrão**. Eles são expressos na superfície, em vesículas fagocíticas e no citosol de vários tipos celulares, todos sendo localizações onde os microrganismos podem estar presentes (Fig. 4-1). Quando esses receptores de reconhecimento de padrão associados a célula se ligam aos PAMPs e DAMPs, ativam vias de transdução de sinal que promovem as funções antimicrobianas e pró-inflamatórias das células nas quais eles são expressos. Além disso, existem muitas proteínas presentes no sangue e nos fluidos extracelulares que reconhecem PAMPs (Tabela 4-3). Essas moléculas solúveis são responsáveis por facilitar a saída dos microrganismos do sangue e fluidos extracelulares mediante aumento de captação pelos fagócitos ou por ativação de mecanismos extracelulares de morte.

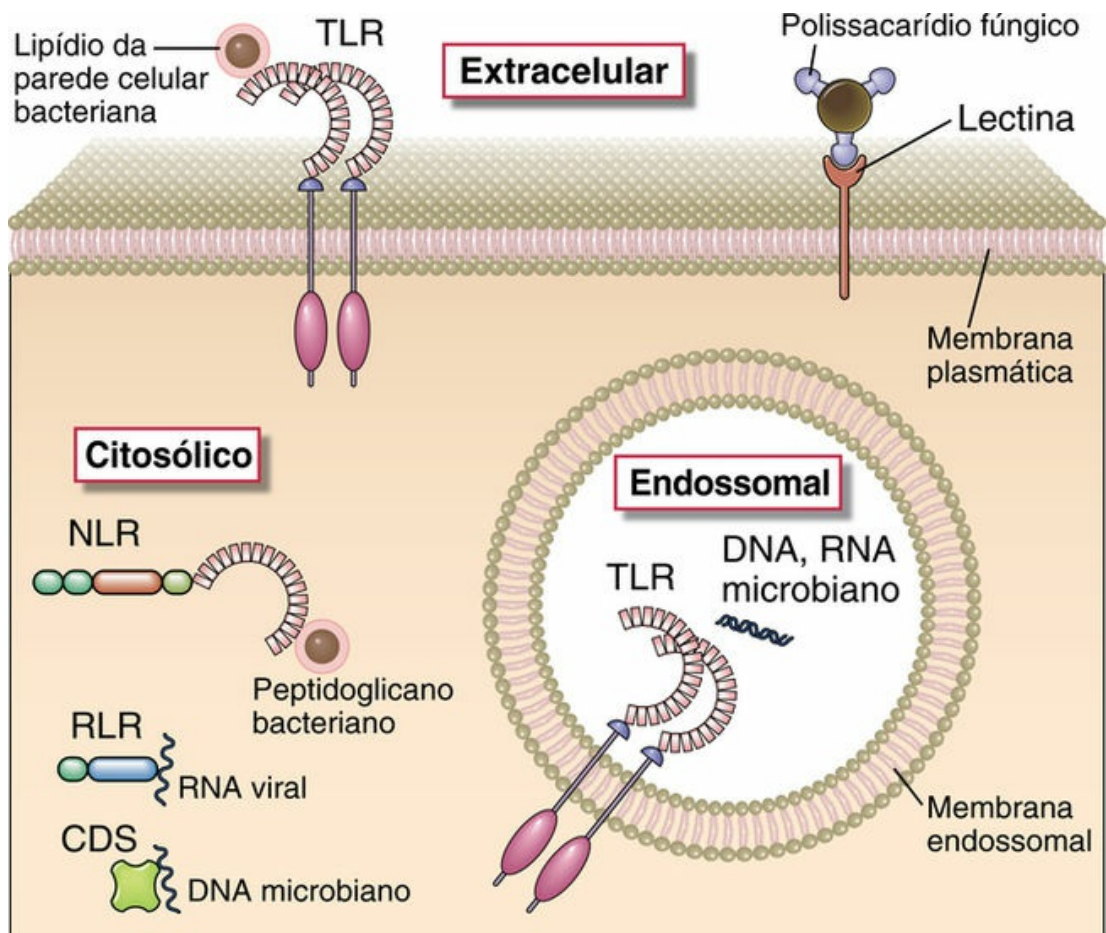
---

### **Tabela 4-3**

#### **Moléculas de Reconhecimento de Padrão do Sistema Imune Inato**

---

Receptores de Reconhecimento de Padrão	Localização	Exemplos Específicos	Ligantes PAMP/DAMP
Associado à Célula			
Receptores do tipo Toll (TLRs) 	Membrana plasmática e membranas endossomais das células dendríticas, fagócitos e células B, células endoteliais e muitos outros tipos celulares	TLRs 1-9	Várias moléculas microbianas, incluindo LPS bacteriano e peptidoglicanos, ácidos nucleicos virais
Receptores do tipo NOD (NLRs) 	Citosol de fagócitos, células epiteliais e outras células	NOD1/2 Familia NLRP (inflamassoma)	Peptidoglicanos da parede celular bacteriana Cristais intracelulares (urato, sílica); mudanças nas concentrações citosólicas de ATP e íon; dano lisossomal
Receptores do tipo RIG (RLRs) 	Citosol de fagócitos e outras células	RIG-1, MDA-5	RNA viral
Sensores de DNA citosólico (CDSs) 	Citosol de muitos tipos celulares	AIM2; CD5s associados a STING	DNA bacteriano e viral
Receptores de lectina tipo C (CLRs) 	Membrana plasmática de fagócitos	Receptor de manose Dectina	Carboidratos da superfície microbiana com terminal de manose e frutose Glucanas presentes nas paredes celulares fúngicas
Receptores scavenger 	Membrana plasmática de fagócitos	CD36	Diacylglicerídeos microbianos
Receptores N-formil met-leu-phe 	Membrana plasmática de fagócitos	FPR e FPRL1	Peptídeos contendo resíduos de N-formilmetionil
Solúvel			
Pentraxinas 	Plasma	Proteína C-reativa	Fosforilcolina e fosfatidilserina microbianas
Colectinas 	Plasma	Lectina ligante de manose	Carboidrato com manose e frutose terminais
	Alvéolos	Proteínas surfactantes SP-A e SP-D	Várias estruturas microbianas
Ficolinas 	Plasma	Ficolina	N-acetilglucosamina e ácido lipoteicoico componentes das paredes celulares das bactérias Gram-positivas
Complemento 	Plasma	Várias proteínas do complemento	Superfícies microbianas



**FIGURA 4-1** Localizações celulares dos receptores de reconhecimento de padrão do sistema imune inato. Algumas moléculas de reconhecimento de padrão, incluindo os membros da família de TLR (Fig. 4-2) e receptores de lectina, são expressas na superfície celular, onde eles podem se ligar a padrões moleculares associados ao patógeno. Outros TLRs são expressos nas membranas endossomais e reconhecem ácidos nucleicos dos microrganismos que foram fagocitados pelas células. As células também contêm sensores citosólicos da infecção microbiana, incluindo a família dos receptores do tipo NOD (NLR), receptores do tipo RIG (RLRs) e sensores citosólicos de DNA (CDS). Somente exemplos selecionados de PAMPs microbianos reconhecidos por esses receptores são mostrados. Os receptores citosólicos que reconhecem produtos de células danificadas (DAMPs), bem como alguns microrganismos são mostrados na Fig. 4-4.

**Os receptores do sistema imune inato são codificados por genes herdados, enquanto os genes que codificam receptores da imunidade adaptativa são**



**gerados por recombinação somática de segmentos de genes em precursores de linfócitos maduros.** Como resultado, a diversidade dos receptores do sistema imune inato e a variação de suas especificidades são pequenas quando comparadas àquelas das células B e T do sistema imune adaptativo. Além disso, enquanto o sistema imune adaptativo pode distinguir entre antígenos de diferentes microrganismos de mesma classe e mesmo diferentes antígenos de um microrganismo, a imunidade inata pode distinguir somente classes de microrganismos, ou somente células danificadas de células saudáveis, mas não espécies particulares de microrganismos ou tipos celulares.

**O sistema imune inato não reage contra células e tecidos normais, saudáveis.** Essa característica é, claro, essencial para a saúde do organismo. A falha em reconhecer o próprio como saudável é atribuída a três mecanismos principais – células normais não produzem ligantes para receptores imunes inatos; esses receptores estão localizados em compartimentos celulares onde não encontram moléculas do hospedeiro que eles poderiam reconhecer; e proteínas regulatórias expressas pelas células normais previnem a ativação de vários componentes da imunidade inata. Mostraremos exemplos dessa regulação mais adiante neste capítulo.

Com esta introdução, podemos proceder a uma discussão da grande variedade de moléculas no corpo que são capazes de reconhecer PAMPs e DAMPs, focando em suas especificidades, localizações e funções. Começaremos com as moléculas associadas às células expressas nas membranas ou no citosol das células. O reconhecimento solúvel e as moléculas efetoras da imunidade inata, encontrados no sangue e fluidos extracelulares, serão descritos posteriormente.

## Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula e sensores da imunidade inata

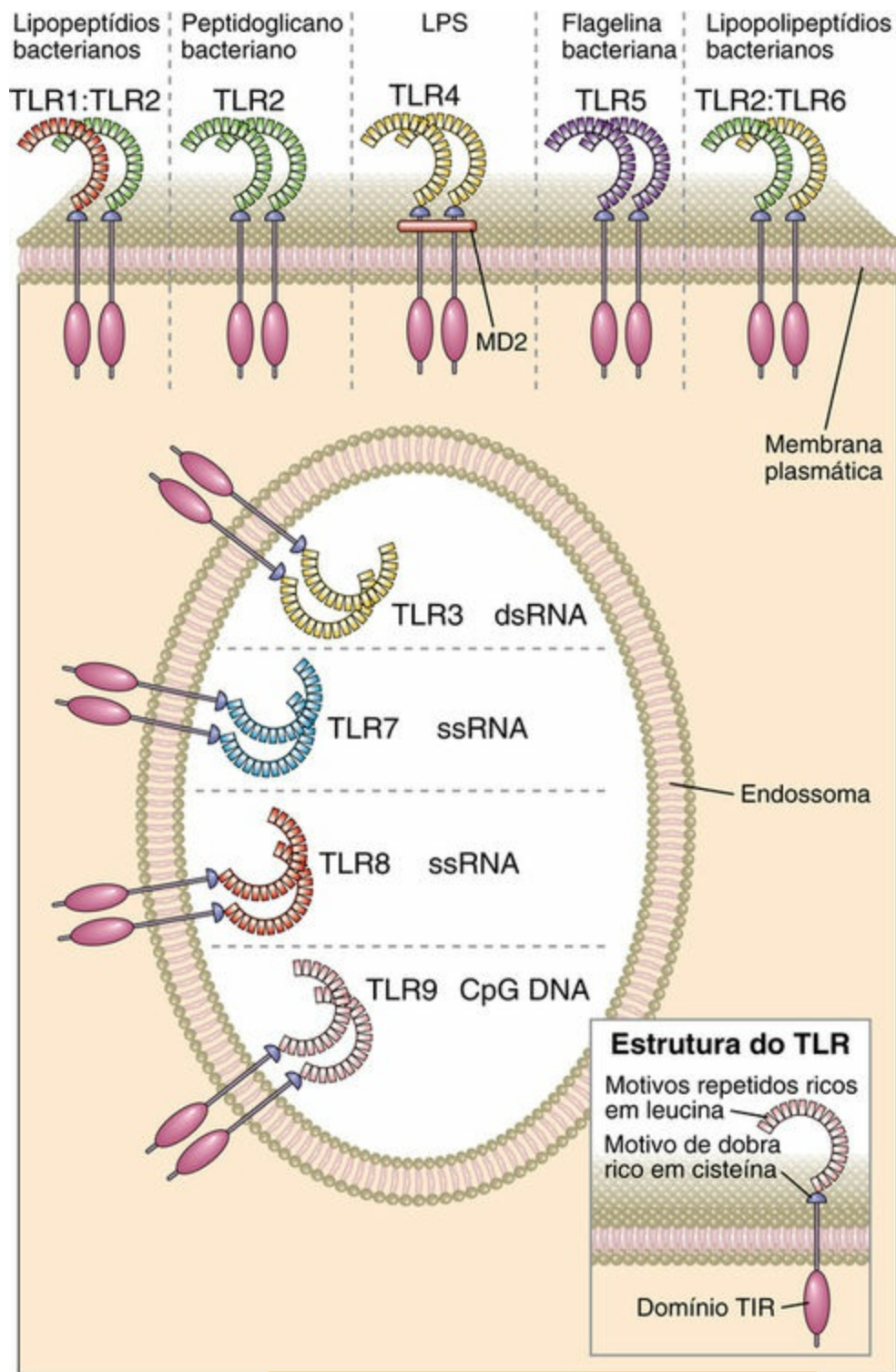
A maioria das células expressa receptores de reconhecimento de padrão, sendo, assim, capaz de atuar nas respostas imunes inatas. Fagócitos, incluindo neutrófilos e macrófagos, e células dendríticas expressam a maior variedade e maior número destes receptores. Isso está em conformidade com o papel fundamental dos fagócitos na detecção de microrganismos e células danificadas e sua ingestão para destruição e o papel das células dendríticas na reação aos microrganismos, de maneira que elicitam inflamação e subsequente imunidade adaptativa. Os receptores de reconhecimento de padrão são ligados às vias de transdução intracelular de sinal que ativam várias respostas celulares, incluindo a produção de moléculas que promovem inflamação e destruição dos microrganismos.

Organizaremos nossa discussão em torno de diversas classes de receptores de reconhecimento de padrão que diferem em suas estruturas e especificidades para vários tipos de microrganismos.



## Receptores do Tipo Toll

**Os receptores do tipo Toll (TLRs) são uma família conservada evolutivamente de receptores de reconhecimento de padrão em muitos tipos celulares que reconhecem produtos de uma grande variedade de microrganismos, assim como moléculas expressas ou liberadas por células estressadas ou em processo de morte.** Toll foi originalmente identificado como um gene da *Drosophila* envolvido no estabelecimento do eixo dorsal-ventral durante a embriogênese da mosca da fruta, mas subsequentemente foi descoberto que a proteína Toll também medeia respostas antimicrobianas nestes organismos. Além disso, o domínio citoplasmático do Toll foi mostrado ser similar à região citoplasmática do receptor para a citocina imune inata interleucina-1 (IL-1). Essas descobertas levaram à identificação dos homólogos mamíferos do Toll, que foram nomeados como *receptores do tipo Toll*. Existem nove diferentes TLRs funcionais em humanos, denominados TLR1 até TLR9 (Fig. 4-2).



**FIGURA 4-2** Estrutura, localização e especificidades dos TLRs de mamíferos.

Observe que alguns TLRs são expressos na superfície celular e outros nos endossomas. Os TLRs podem formar homodímeros e heterodímeros.

Os TLRs são um tipo de glicoproteínas integrais, de tipo I, de membrana que

contêm repetições ricas em leucina flanqueadas por locais ricos em cisteína em suas regiões extracelulares, que estão envolvidas na ligação ao ligante, e um domínio de homologia do receptor Toll/IL-1 (TIR) em suas caudas citoplasmáticas, que é essencial para a sinalização. Os domínios TIR também são encontrados nas caudas citoplasmáticas dos receptores para as citocinas IL-1 e IL-18, e vias de sinalização similares são disparadas pelos TLRs, IL-1 e IL-18.

**Os TLRs de mamíferos estão envolvidos em respostas a uma grande variedade de moléculas que são expressas pelos microrganismos, mas não por células saudáveis de mamíferos.**

Os ligantes que os diferentes TLRs reconhecem são estruturalmente diversos e incluem produtos de todas as classes de microrganismos (Fig. 4-2). Exemplos de produtos bacterianos que se ligam aos TLRs incluem LPS e ácido lipoteicoico, que são constituintes das paredes celulares de bactérias Gram-negativas e bactérias Gram-positivas, respectivamente, e flagelina, o componente da subunidade proteica do flagelo de bactéria móvel. Exemplos de ácidos nucleicos que são ligantes do TLR incluem RNAs de fita dupla, que formam os genomas de alguns vírus e são gerados durante o ciclo de vida da maioria dos RNA dos vírus, mas não são produzidos pelas células eucarióticas; RNAs de fita simples, que são distintos dos RNAs de fita simples dos citoplasmas celulares transcritos por suas localizações dentro dos endossomas e pelos seus grandes conteúdos de guanosina e uridina; e dinucleotídeos CpG não metilados, que são comuns nos procariontos, mas raros nos genomas de vertebrados.

**Os TLRs também estão envolvidos na resposta a moléculas endógenas cuja expressão ou localização indicam dano celular.**

Exemplos de moléculas do hospedeiro que se ligam aos TLRs incluem proteínas de choque térmico (HSPs), que são chaperonas induzidas em resposta a vários agentes estressantes celulares, e o quadro 1 do grupo de alta mobilidade (HMGB1, do inglês *high-mobility group box 1*), uma abundante proteína de ligação ao DNA envolvida na transcrição e reparo do DNA. Ambas HSPs e HMGB1 normalmente são intracelulares, mas podem se tornar extracelulares quando liberadas por células danificadas ou em processo de morte. De sua localização extracelular, ativam a sinalização de TLR2 e TLR4 em células dendríticas, macrófagos e outros tipos celulares.

**As bases estruturais das especificidades dos TLRs residem nos múltiplos módulos extracelulares ricos em leucina destes receptores, que se ligam diretamente aos PAMPs ou a moléculas adaptadoras que se ligam aos PAMPs.**

Existem entre 16 e 28 repetições ricas em leucina nos TLRs, e cada um destes módulos é composto de 20 a 30 aminoácidos que incluem motivos conservados LxxLxLxxN (onde L é leucina, x é qualquer aminoácido e N é a asparagina) e resíduos de aminoácidos que variam entre diferentes TLRs. Os resíduos variáveis de ligação ao ligante dos módulos são a superfície convexa formada pelas  $\alpha$ -hélices e alças  $\beta$ . Essas repetições contribuem para a habilidade de alguns TLRs de se ligar a moléculas hidrofóbicas, tais como LPS bacteriano. A ligação do ligante aos domínios

ricos em leucina causa interações físicas entre as moléculas do TLR e a formação de dímeros de TLR. O repertório de especificidades do sistema TLR é estendido pela habilidade dos TLRs de heterodimerizar um com o outro. Por exemplo, dímeros de TLR2 e TLR6 são necessários para respostas ao peptidoglicano.

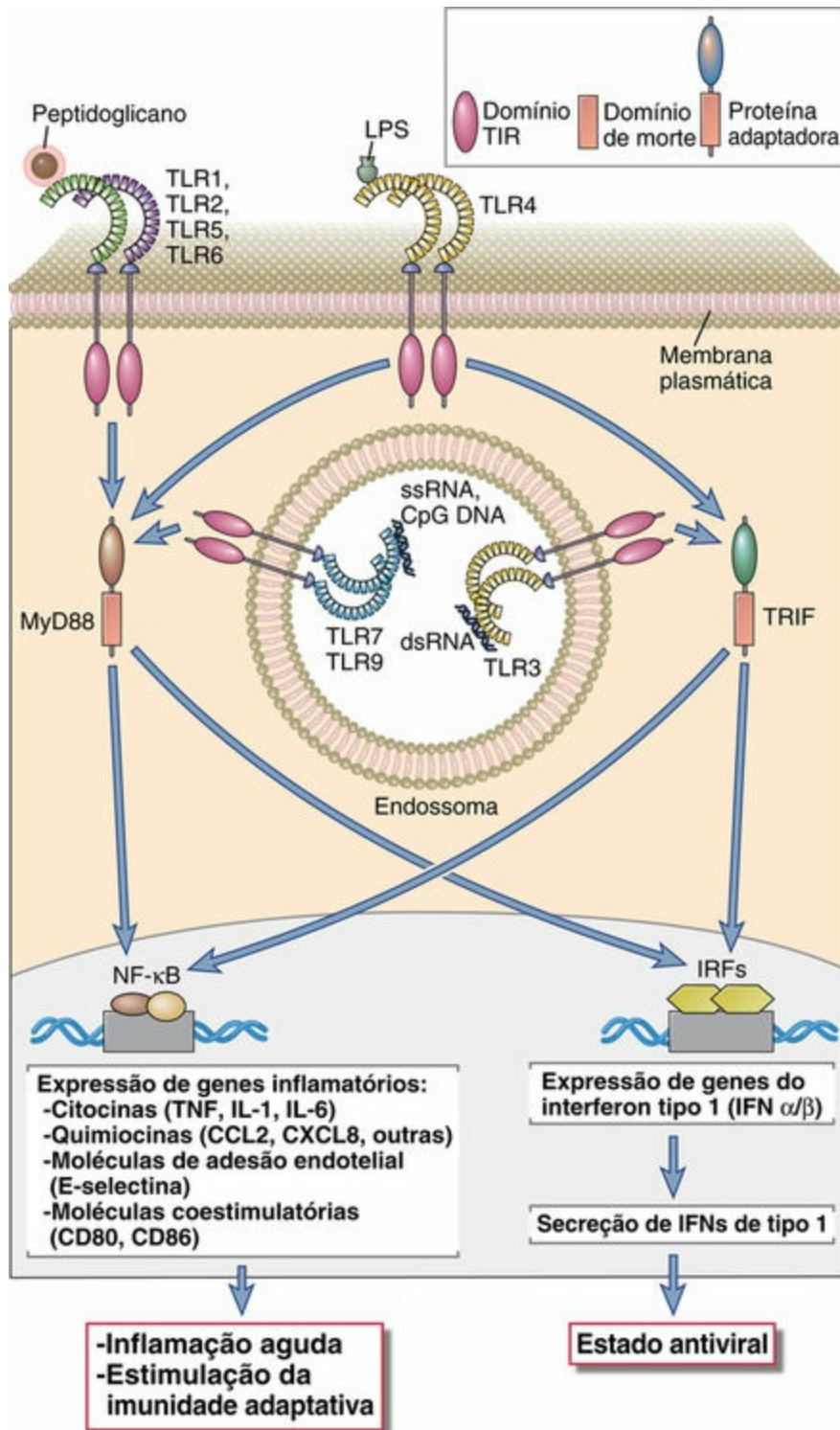
Especificidades dos TLRs também são influenciadas por várias moléculas não TLR acessórias. Isso é mais bem definido para a resposta do TLR4 ao LPS. O LPS primeiro se liga à proteína solúvel de ligação do LPS no sangue ou fluido extracelular, e este complexo serve para facilitar a distribuição do LPS para a superfície da célula respondedora. Uma proteína extracelular denominada MD2 (do inglês *myeloid differentiation protein 2*) se liga ao componente lipídio A do LPS, formando um complexo que, então, interage com o TLR4 e inicia a sinalização. Outra proteína denominada CD14 também é necessária para uma sinalização eficiente induzida pelo LPS. O CD14 é expresso pela maioria das células (exceto células endoteliais) como uma proteína solúvel ou uma proteína de membrana ligada ao glicofosfatidilinositol. Ambos CD14 e MD2 também podem se associar a outros TLRs. Assim, combinações diferentes de moléculas acessórias nos complexos TLR podem servir para ampliar a quantidade de produtos microbianos que podem induzir respostas imunes inatas.

**Os TLRs são encontrados na superfície celular e nas membranas intracelulares e são, então, capazes de reconhecer microrganismos em diferentes localizações celulares (Fig. 4-2).** Os TLRs 1, 2, 4, 5 e 6 são expressos na membrana plasmática, onde eles reconhecem vários PAMPs no meio ambiente extracelular. Alguns dos estímulos microbianos mais potentes para as respostas imunes inatas se ligam a esses TLRs da membrana plasmática, tais como LPS bacteriano e ácido lipoteicoico, que são reconhecidos pelos TLRs 4 e 2, respectivamente. Em contrapartida, os TLRs 3, 7, 8 e 9 são expressos principalmente dentro das células no retículo endoplasmático e nas membranas endossomais, onde eles detectam vários ligantes ácidos nucleicos diferentes que são típicos dos microrganismos, mas não mamíferos, como discutido anteriormente (Fig. 4-2). Estes incluem RNA de dupla fita, que se liga ao TLR3, e motivos de CpG não metilados, que se ligam ao TLR9. TLR7 e TLR8 reconhecem RNA de fita simples, e TLR9 reconhece DNA de fita simples ou fita dupla; esses ácidos nucleicos ligantes não são únicos aos microrganismos, mas suas localizações nos endossomas provavelmente refletem a origem dos microrganismos. Isso ocorre porque o RNA e o DNA da célula do hospedeiro normalmente não estão presentes nos endossomas, mas RNA e DNA microbianos podem terminar em endossomas de neutrófilos, macrófagos ou células dendríticas quando os microrganismos são fagocitados por essas células. Então, os TLRs endossomais podem distinguir ácidos nucleicos de células normais dos ácidos nucleicos microbianos com base na localização celular destas moléculas. Uma proteína no retículo endoplasmático chamada de UNC-93B é necessária para a localização endossomal e o funcionamento apropriado dos TLRs 3, 7, 8 e 9. Uma

deficiência genética na UNC-93B leva à suscetibilidade a certas infecções virais, especialmente encefalite pelo vírus do herpes simples, demonstrando a importância da localização endossomal dos TLRs para a defesa inata contra os vírus.

***O reconhecimento dos ligantes microbianos pelo TLR resulta na ativação de várias vias de sinalização e, por fim, nos fatores de transcrição, que induzem a expressão de genes cujos produtos são importantes para respostas inflamatórias e antivirais (Fig. 4-3).*** As vias de sinalização são iniciadas pela ligação do ligante ao TLR na superfície celular ou no retículo endoplasmático ou endossomas, levando à dimerização das proteínas do TLR. A dimerização do TLR induzida pelo ligante aproxima os domínios TIR das caudas citoplasmáticas de cada proteína para próximo uma das outras. Isso é seguido pelo recrutamento do domínio TIR contendo as proteínas adaptadoras, o que facilita o recrutamento e ativação de várias proteoquinases, levando à ativação de diferentes fatores de transcrição. Os principais fatores de transcrição que são ativados pelas vias de sinalização do TLR incluem fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), ativação da proteína 1 (AP-1), fator 3 de resposta do interferon (IRF3) e IRF7. NF- $\kappa$ B e AP-1 estimulam a expressão de genes que codificam muitas moléculas necessárias para as respostas inflamatórias, incluindo citocinas inflamatórias (p. ex., TNF e IL-1), quimiocinas (p. ex., CCL2 e CXCL8) e moléculas de adesão endotelial (p. ex., E-selectina) (discutidas mais adiante). IRF3 e IRF7 promovem a produção de interferons tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ), que são importantes para as respostas imunes inatas antivirais.





**FIGURA 4-3** Vias de sinalização e funções dos TLRs. Os TLRs 1, 2, 5 e 6 utilizam a proteína adaptadora MyD88 e ativam os fatores de transcrição NF-κB e AP-1. O TLR3 utiliza a proteína adaptadora TRIF e ativa os fatores de transcrição IRF3 e IRF7. O TLR4 pode ativar ambas as vias. Os TLRs 7 e 9 no endossoma utilizam MyD88 e ativam ambos NF-κB e IRF7.



Diversas combinações de adaptadores e intermediários da sinalização são usadas por diferentes TLRs, sendo responsáveis pelos efeitos comuns e únicos dos TLRs. Por exemplo, os TLRs da superfície celular que se ligam ao adaptador MyD88 levam à ativação do NF- $\kappa$ B e a sinalização de TLR que usa o adaptador células chamado de TRIF (domínio TIR contendo adaptador indutor de IFN- $\beta$ ) leva à ativação de IRF3. Todos os TLRs, exceto o TLR3, sinalizam através do MyD88 e são, portanto, capazes de ativar o NF- $\kappa$ B e induzir uma resposta inflamatória. TLR3 sinaliza através do TRIF e portanto, ativa IRF3 e induz a expressão do interferon tipo I. TLR4 sinaliza através de ambos MyD88 e TRIF e é capaz de induzir ambos os tipos de respostas. Os TLRs endossomais 7 e 9, que são os mais expressos nas células dendríticas plasmocitoides (Cap. 6), sinalizam através das vias dependente de MyD88 e independente de TRIF que ativam ambos NF- $\kappa$ B e IRFs. Dessa maneira, TLR7 e TLR9, assim como TLR4, induzem ambas as respostas inflamatória e antiviral. Abordaremos os detalhes da ativação do NF- $\kappa$ B no [Capítulo 7](#).

## Receptores Citosólicos para PAMPs e DAMPs

Em adição aos TLRs ligados na membrana, que sentem os patógenos fora das células ou nos endossomas, o sistema imune inato evoluiu para equipar as células com receptores de padrão de reconhecimento que detectam infecção ou célula danificada no citosol (Fig. 4-1 e Tabela 4-3). Três classes principais destes receptores citosólicos são receptores do tipo NOD, receptores do tipo RIG e sensores citosólicos de DNA. Esses receptores citosólicos, similares aos TLRs, são ligados às vias de transdução de sinal que promovem inflamação ou produção de interferon tipo I. A habilidade do sistema imune inato em detectar infecção no citosol é importante porque partes dos ciclos de vida normais de alguns microrganismos, tais como translação de gene viral e montagem de partícula viral, ocorrem no citosol. Algumas bactérias e parasitas têm mecanismos que permitem que eles escapem de vesículas fagocíticas no citosol. Microrganismos podem produzir toxinas que criam poros nas membranas plasmáticas da célula do hospedeiro, incluindo membranas endossomais, através das quais as moléculas microbianas podem entrar no citosol. Esses poros também podem resultar em alterações na concentração de moléculas endógenas, tais como íons, no citoplasma, que são sinais confiáveis de infecção e dano e são detectados pelos receptores citosólicos.

### Receptores do Tipo NOD

***Os receptores do tipo NOD (NLRs) são uma família de mais de 20 proteínas citosólicas diferentes, algumas das quais reconhecem PAMPs e DAMPs e recrutam outras proteínas para formar complexos de sinalização que promovem inflamação.*** Esta família de proteínas é chamada de NOD (domínio de oligomerização de nucleotídeo contendo proteína). Proteínas típicas de NLR contêm

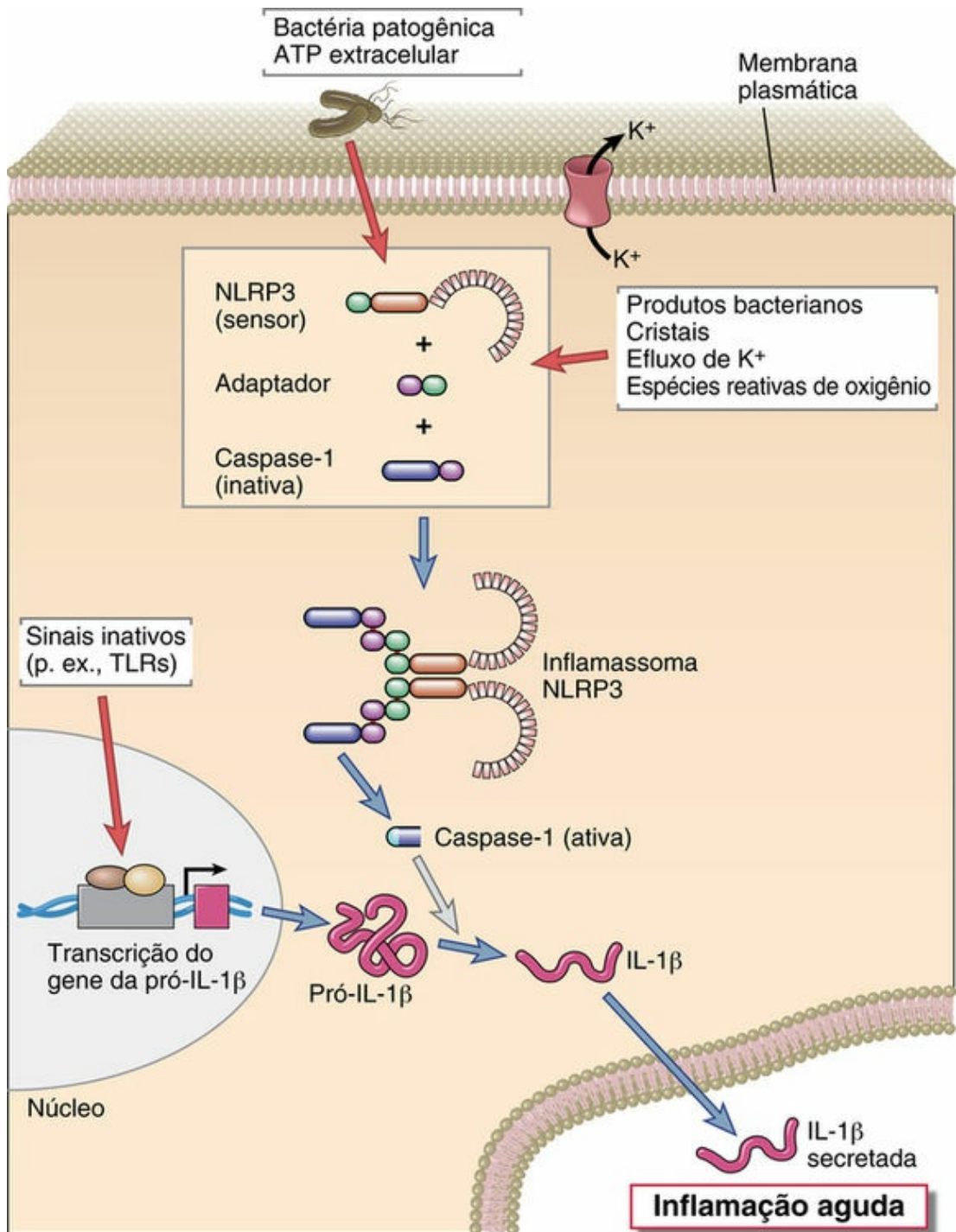
pelo menos três diferentes domínios com estruturas e funções distintas. Estes incluem um domínio repetido rico em leucina que “sente” a presença do ligante, similar às repetições ricas em leucina dos TLRs; um domínio NACHT (proteína inibitória da apoptose neuronal [NAIP], CIITA, HET-E e TP1), que permite que NLRs se liguem um ao outro e formem oligômeros; e um domínio efetor, que recruta outras proteínas para formar complexos de sinalização. Existem três subfamílias de NLR, cujos membros usam diferentes domínios efetores para iniciar a sinalização. Os três domínios efetores são chamados de CARD (domínio caspase de recrutamento), domínio Pyrin e domínio BIR. Os NLRs são encontrados em uma grande variedade de tipos celulares, embora alguns NLRs tenham distribuição tecidual restrita. Alguns dos NLRs mais bem estudados são encontrados em células imunes e inflamatórias e em barreiras de células epiteliais.

NOD1 e NOD2, membros da subfamília NOD contendo domínios CARD dos NLRs, são expressos no citosol de vários tipos celulares, incluindo células epiteliais de mucosa e fagócitos, e eles respondem aos peptidoglicanos da parede celular bacteriana. NOD2 é altamente expresso nas células intestinais de Paneth no intestino, onde estimula a expressão de substâncias antimicrobianas denominadas defensinas em resposta aos patógenos. NOD1 reconhece o ácido diaminopimérico (DAP) derivado principalmente do peptidoglicano de bactérias Gram-negativas, ao passo que NOD2 reconhece uma molécula distinta denominada dipeptídeo muramyl derivada de ambos peptidoglicanos Gram-negativos e Gram-positivos. Esses peptídeos são liberados de bactérias intra ou extracelulares; no último caso, sua presença no citosol necessita de mecanismos bacterianos especializados para distribuição de peptídeos para as células do hospedeiro. Esses mecanismos incluem sistemas de secreção dos tipos III e IV, que evoluíram em bactéria patogênica como meios de distribuição de toxinas para as células do hospedeiro. Quando os oligômeros dos NODs reconhecem seus ligantes peptídicos, incluindo toxinas bacterianas, uma mudança conformacional ocorre e permite que os domínios do efetor CARD das proteínas NOD recrutem múltiplas cópias da quinase RPI2, formando um complexo de sinalização que foi chamado de sinalosoma NOD. As quinases RIP2 destes complexos ativam o NK- $\kappa$ B, o que promove a expressão de genes inflamatórios, similares aos TLRs que sinalizam através de MyD88, discutidos anteriormente. Ambos NOD1 e NOD2 parecem ser importantes nas respostas imunes inatas aos patógenos bacterianos no trato gastrointestinal, como *Helicobacter pylori* e *Listeria monocytogenes*.

Existe um grande interesse no achado de que certos polimorfismos no gene *NOD2* aumentam a suscetibilidade a uma doença inflamatória do intestino denominada doença de Crohn. Uma possível explicação para essa associação é que a doença relacionada com as variantes *NOD2* é defeituosa em sua habilidade de identificar produtos microbianos, resultando em respostas inatas defeituosas contra organismos comensais e patogênicos no intestino. Se esses organismos tiverem acesso à parede intestinal, eles podem disparar inflamação crônica. Além disso, mutações de ganho

de função no NOD2 que podem aumentar a sinalização do NOD levam à doença inflamatória crônica denominada síndrome de Blau.

***A subfamília de NLRP dos receptores do tipo NOD respondem aos PAMPs e DAMPS citosólicos com formação de complexos de sinalização chamados de inflamassomas, que geram formas ativas das citocinas inflamatórias IL-1 e IL-18 (Fig. 4-4).*** Existem 14 NLRPs (família NLR, proteínas contendo domínio pirina), a maioria dos quais compartilha um domínio efetor de pirina, denominado assim em razão da raiz grega *piro*, que significa “calor”, porque foi primeiro identificado em um gene mutado que está associado a uma doença febril herdada. Os inflamassomas que contêm três desses NLRPs – IPAF/NLRC4, NLRP3 (também chamado de criopirina) e NLRP1 – têm sido bem estudados. Quando esses NLRPs são ativados pela presença de produtos microbianos ou mudanças na quantidade de moléculas endógenas ou íons no citosol, eles se ligam a outras proteínas por meio de interações homotípicas entre os domínios estruturais compartilhados, formando, assim, o complexo do inflamassoma. Por exemplo, após a ligação de um ligante, múltiplas proteínas NLRP3 idênticas interagem para formar um oligômero e cada proteína NLRP3 no oligômero se liga a uma proteína adaptadora chamada de ASC. Os adaptadores se ligam, então, a uma forma precursora inativa da enzima caspase-1 por meio de interações dos domínios de recrutamento da caspase em ambas as proteínas. As caspases são proteases com resíduos de cisteína em seus locais ativos que clivam substratos proteicos nos resíduos de aspartato. A caspase-1 se torna ativa somente após o recrutamento para o complexo inflamassoma. Embora várias outras caspases participem em uma forma de morte células chamada apoptose (Cap. 15), a principal função da caspase-1 é a clivagem para formar precursoras citoplasmáticas inativas de duas citocinas homólogas chamadas de IL-1 $\beta$  e IL-18. A clivagem da caspase-1 gera formas ativas dessas citocinas, que, então, deixam a célula e realizam várias funções pró-inflamatórias. Descreveremos a ação destas citocinas e a resposta inflamatória em detalhes mais adiante neste capítulo. Basta afirmar aqui que a inflamação induzida pela IL-1 serve como uma função protetora contra os microrganismos que incitam a formação do inflamassoma.



**FIGURA 4-4** Inflamassoma.

A ativação do inflamassoma NLRP3, que processa a pró-IL-1 para a IL-1 ativa, é mostrada. Os inflamassomas com outras proteínas NLRP atuam de maneira similar. Vários PAMPs ou DAMPs induzem a expressão de pró-IL-1β através de sinalização do receptor de reconhecimento de padrão.

***As respostas NLRP-inflamassoma são induzidas por uma grande variedade de estímulos citoplasmáticos que frequentemente são associados a***

***infecções e estresse celular, incluindo produtos microbianos, cristais ambientalmente e endogenamente derivados e redução nas concentrações***

***citossólica de íon potássio ( $K^+$ )*** (Fig. 4-4). Os produtos microbianos que ativam NLRP-inflamassoma incluem moléculas bacterianas, tais como flagelina, muramíl dipeptídeo, LPS e toxinas formadoras de poro, bem como RNA bacteriano e viral. Substâncias cristalinas também são potentes ativadores dos inflamassomas, e esses cristais podem ser derivados do meio ambiente, como asbestos e sílica, ou podem ser endogenamente derivados, como urato monossódico, pirofosfato de cálcio di-hidrato e colesterol. Outros estímulos endógenos da ativação do inflamassoma incluem o ATP extracelular, talvez liberado de células mortas e transportado para o citoplasma da célula respondedora.

A diversidade estrutural dos agentes que ativam o inflamassoma sugere que eles não se ligam diretamente às proteínas NLRP, mas podem agir induzindo um conjunto de alterações nas condições citoplasmáticas endógenas que ativam os NLRPs. As concentrações citoplasmáticas reduzidas de íon potássio podem ser o mecanismo comum porque as reduções no  $K^+$  celular induzidas por algumas toxinas bacterianas formadoras de poros podem ativar os inflamassomas e muitos outros ativadores conhecidos de inflamassoma podem aumentar o efluxo de  $K^+$  das células. Outro mecanismo comum envolvido na ativação do inflamassoma é a geração de espécies reativas de oxigênio, que são radicais livres tóxicos de oxigênio frequentemente produzidos durante a lesão celular.

A ativação da caspase-1 pelo inflamassoma também pode causar uma forma de morte celular programada chamada de **piroptose**, caracterizada por inchaço das células, perda da integridade da membrana plasmática e liberação de mediadores inflamatórios. A piroptose resulta em morte de certos microrganismos que têm acesso ao citosol e aumenta a liberação de IL-1 $\beta$  gerada pelo inflamassoma, que perde a sequência líder hidrofóbica necessária para a secreção convencional de proteínas pelas células. Em adição à piroptose dependente de caspase-1, a via da piroptose dependente de caspase-11 é necessária para a proteção contra certas bactérias que prontamente ganham acesso ao citosol das células do hospedeiro, mas os estímulos inatos que ativam esta via ainda são desconhecidos.

A descoberta de que algumas substâncias cristalinas são potentes ativadores do inflamassoma mudou nossa compreensão sobre algumas doenças inflamatórias. A gota é uma condição inflamatória dolorosa de articulações que há muito se sabe ser causada por deposição de cristais de urato monossódico nas articulações. Com base na compreensão de que os cristais de urato ativam o inflamassoma, os antagonistas de IL-1 têm sido utilizados para tratar efetivamente casos de gota grave que são resistentes aos fármacos anti-inflamatórios convencionais. Similarmente, a pseudogota é causada pela deposição de cristais de pirofosfato de cálcio e ativação do inflamassoma. A inalação ocupacional de sílica e amianto pode causar doença

inflamatória crônica e doença fibrótica dos pulmões; também existe interesse no potencial de bloqueio do inflamassoma ou da IL-1 para tratar essas doenças.

A ativação desregulada do inflamassoma decorrente de mutações autossômicas de ganho de função em um ou outro componente proteico leva a disparo inapropriado e excesso de produção de IL-1. O resultado são ataques recorrentes de febre e inflamação localizada, mais comumente nas articulações e nos intestinos. Esses distúrbios são chamados de síndromes periódicas associadas à criopirina (CAPS, do inglês *cryopyrin associated periodic syndromes*) e consistem em um subgrupo de um grande grupo de síndromes febris periódicas com sintomas similares causados pela produção excessiva ou resposta às citocinas inflamatórias. Esses distúrbios também são chamados de **síndromes autoinflamatórias**, pois são caracterizadas por inflamação espontânea sem um agente disparador. Tais doenças são distintas das *dos distúrbios*, que são distúrbios da imunidade adaptativa causados por anticorpos e/ou células T reativas aos próprios antígenos. Os pacientes com CAPS podem ser tratados de maneira bem-sucedida com antagonistas para IL-1.

Um grande interesse nos inflamassomas foi gerado por achados de que ele pode ser ativado por quantidades excessivas de substâncias endógenas depositadas nos tecidos. Essas substâncias incluem cristais de colesterol na aterosclerose, ácidos graxos livres e lipídios na síndrome metabólica associada à obesidade e na doença de Alzheimer  $\beta$ -amiloide. Em todas essas situações, a ativação do inflamassoma leva à produção de IL-1 e inflamação, o que pode contribuir para a patogênese da doença. Esses achados estimularam estudos clínicos para aliviar algumas destas doenças (doença cardíaca aterosclerótica, diabetes tipo 2 associado à obesidade) com antagonistas de IL-1.

## Receptores do Tipo RIG

**Os receptores do tipo RIG (RLRs) são sensores citosólicos do RNA viral que respondem aos ácidos nucleicos virais induzindo a produção de interferons tipo I antivirais.** Os RLRs podem reconhecer RNA de dupla fita e heteroduplos RNA-DNA, que incluem os genomas de RNA de vírus e o RNA transcrito de RNA e DNA de vírus. Os dois RLRs mais bem caracterizados são o RIG-I (gene I induzido por ácido retinoico) e o MDA5 (gene 5 associado à diferenciação de melanoma). Ambas proteínas contêm domínios de recrutamento de duas caspases N-terminais que interagem com outras proteínas de sinalização, um domínio RNA-helicase e um domínio C-terminal, estas duas últimas estando envolvidas no reconhecimento do RNA. RIG-I e MDA5 reconhecem diferentes grupos de RNAs virais que são característicos de vírus diversos, parcialmente baseados no comprimento do ligante do RNA. Os RLRs também podem distinguir RNA viral de fita simples de transcritos de RNA de fita simples de células normais. Por exemplo, RIG-I somente reconhecerá RNA com um ambiente 5' trifosfato, que não está presente no RNA citosólico de células



de hospedeiro de mamíferos por causa da adição de uma 7-metilguanossina ou remoção de um 5'trifosfato. Os RLRs são expressos em uma grande variedade de tipos celulares, incluindo leucócitos derivados da medula óssea e várias células teciduais. Portanto, esses receptores permitem que muitos tipos celulares suscetíveis à infecção pelo RNA de vírus atuem nas respostas imunes inatas a esses vírus.

Na ligação do RNA viral, os RLRs iniciam os eventos de sinalização que levam à fosforilação e ativação de IRF3 e IRF7, bem como NF-κB, e esses fatores de transcrição induzem a produção de interferon tipo I.

## **Sensores Citosólicos de DNA e a Via STING**

***Os sensores citosólicos de DNA (CDSs) são moléculas que detectam o DNA citosólico e ativam vias de sinalização que iniciam as respostas antimicrobianas, incluindo produção de interferon tipo I e autofagia.*** O DNA pode ser liberado dentro do citosol por vários microrganismos intracelulares mediante diversos mecanismos. Diferentes moléculas e vias sensoras de DNA foram caracterizadas, incluindo as seguintes:

- ***A via STING (estimuladora dos genes IFN) é o principal mecanismo de ativação induzida por DNA das respostas de interferon tipo I.*** STING é uma proteína transmembranar localizada no retículo endoplasmático, que é indiretamente ativada pelo DNA microbiano no citosol. O DNA citosólico se liga a uma enzima chamada de GMP-AMP cíclico sintase (cGAS), que sintetiza um dinucleotídeo cíclico denominado GMP-AMP (cGAMP) após ele encontrar o DNA. O cGAMP interage com e estimula a translocação da STING para as membranas derivadas do Golgi, onde ela serve como uma molécula de ancoragem que promove a fosforilação de IRF3. O IRF3 fosforilado transloca para o núcleo e induz a expressão do gene de interferon tipo I. A STING também estimula a autofagia, um mecanismo pelo qual as células degradam suas próprias organelas, tais como a mitocôndria, sequestrando-as dentro de vesículas ligadas à membrana e fundindo as vesículas com os lisossomas. Na imunidade inata, a autofagia é um mecanismo de distribuição de microrganismos citosólicos para o lisossoma, onde eles são mortos pelas enzimas proteolíticas.
- O ativador dependente de DNA dos fatores regulatórios de IFN (DAI) se liga ao DNA de várias fontes microbianas e ativa IRF3, levando a uma resposta do tipo IFN I. O DAI também ativa a via do NF-κB.
- A RNA polimerase se liga ao DNA microbiano, transcreve-o em RNA e o RNA ativa a via RIG levando à expressão de interferon tipo I, como descrito anteriormente.
- AIM2 (ausente no melanoma-2) é outro CDS que reconhece dsDNA citosólico. Ele forma um inflamassoma contendo caspase-1 que processa pró-IL-1β e pró-IL-18.

## **Outros Receptores de Reconhecimento de Padrão**

## Associados à Célula

Vários outros tipos de receptores de membrana plasmática e citoplasmáticos transmitem sinais de ativação similares aos TLRs que promovem respostas inflamatórias e aumentam a morte de microrganismos ou participam principalmente na captação dos microrganismos para os fagócitos (Tabela 4-3).

### Receptores para Carboidratos

**Receptores que reconhecem carboidratos na superfície dos microrganismos facilitam a fagocitose dos microrganismos e a secreção de citocinas que promovem subsequentes respostas imunes adaptativas.** Esses receptores

pertencem à família de lectinas do tipo C, assim denominada porque eles se ligam aos carboidratos (por isso, lectinas) de maneira  $Ca^{++}$  dependente (por isso, tipo C) e foram chamados de CLR (receptores de lectina do tipo C) para fazer um paralelo com a nomenclatura de TLRs e outros receptores. Algumas das lectinas são proteínas solúveis encontradas no sangue e nos fluidos extracelulares (discutidos anteriormente); outras são proteínas integrais de membrana situadas nas superfícies de macrófagos, células dendríticas e algumas células teciduais. Todas essas moléculas contêm um domínio de reconhecimento conservado de carboidrato. Existem vários tipos de lectinas do tipo C na membrana plasmática com especificidades para diferentes carboidratos, incluindo manose, fucose, *N*-acetilglucosamina e  $\beta$ -glicanos. Em geral, essas lectinas da superfície celular reconhecem estruturas de carboidratos encontradas nas paredes celulares de microrganismos, mas não em células de mamíferos. Alguns receptores lectina de tipo C atuam na fagocitose de microrganismos, ao passo que outros têm funções de sinalização que induzem respostas protetoras das células do hospedeiro aos microrganismos.

- **Receptores de manose.** Uma das lectinas de membrana do tipo C mais estudadas é o **receptor de manose** (CD206), que está envolvido na fagocitose de microrganismos. Esse receptor reconhece certos açúcares terminais nos carboidratos da superfície microbiana, incluindo D-manose, L-fucose e *N*-acetil-D-glucosamina. Esses açúcares terminais estão frequentemente presentes na superfície dos microrganismos, ao passo que os carboidratos da célula eucariótica são mais comumente terminados por galactose e ácido siálico. Assim, os açúcares terminais nos microrganismos podem ser considerados PAMPs. Os receptores de manose não têm nenhuma função conhecida de sinalização e acredita-se que se liguem aos microrganismos como o primeiro passo em sua ingestão por macrófagos e células dendríticas. Entretanto, a importância global da eliminação fagocítica mediada pelo receptor de manose de microrganismos permanece desconhecida.
- **Dectinas.** A dectina-1 (lectina-1 de tipo C associada à célula dendrítica) e a dectina-

2 são receptores de célula dendrítica que servem como receptores de reconhecimento de padrão para dois estágios do ciclo de vida de organismos fúngicos. A dectina-1 se liga ao  $\beta$ -glicano, que é o principal componente da parede celular da levedura de *Candida albicans*, um fungo ambíguo mas potencialmente patogênico. A dectina-2 reconhece oligossacarídeos de alta manose na forma de hifa da *Candida*. Os ligantes carboidratos das dectinas também são expressos em algumas bactérias e outros microrganismos. Em resposta à ligação aos seus ligantes, ambas as dectinas induzem eventos de sinalização nas células dendríticas que estimulam a produção de citocinas e outras proteínas que promovem inflamação e aumentam as respostas imunes adaptativas. A estimulação da dectina das células dendríticas induz a produção de algumas citocinas que promovem a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas a um tipo de célula T chamada de TH17, que é particularmente efetiva na defesa contra infecções fúngicas e algumas bacterianas.

- Outros receptores de carboidrato de célula dendrítica incluem a langerina (CD207), expressa principalmente pelas células de Langerhans epidermais, e a DC-SIGN (CD209), expressa na maioria das células dendríticas. A DC-SIGN pode ter um papel patogênico na promoção da infecção por HIV-1 de células T. A glicoproteína do envelope gp120 do HIV-1 se liga à DC-SIGN nas células dendríticas em tecidos mucosos, as células dendríticas carregam os vírus através dos linfáticos para os linfonodos e os vírus são, então, transferidos e infectam as células T CD4<sup>+</sup>.

## Receptores Scavenger

Os **receptores scavenger** compreendem uma coleção de proteínas da superfície celular estrutural e funcionalmente diversas que foram originalmente agrupadas com base na característica comum de mediar a captação de lipoproteínas oxidadas para as células. Alguns desses receptores *scavenger*, incluindo SR-A e CD36, são expressos nos macrófagos que medeiam a fagocitose de microrganismos. Em adição, o CD36 atua como um correceptor no reconhecimento de TLR2/6 e na resposta ao ácido lipoteitoico e lipopeptídeos diacilados derivados de bactérias. Existe um grande grupo de estruturas moleculares que se ligam a cada um dos receptores *scavenger*, incluindo LPS, ácido lipoteitoico, ácidos nucleicos,  $\beta$ -glicano e proteínas. O significado dos receptores *scavenger* na imunidade inata é destacado pela suscetibilidade aumentada às infecções nos genes para esses receptores em camundongos *knockout* e pela observação de que vários patógenos microbianos expressam fatores de virulência que bloqueiam o reconhecimento e fagocitose mediados pelo receptor *scavenger*.

## Receptores Formil-Peptídeo

O **receptor-1 formil peptídeo** (FPR1), expresso em leucócitos, reconhece peptídeos

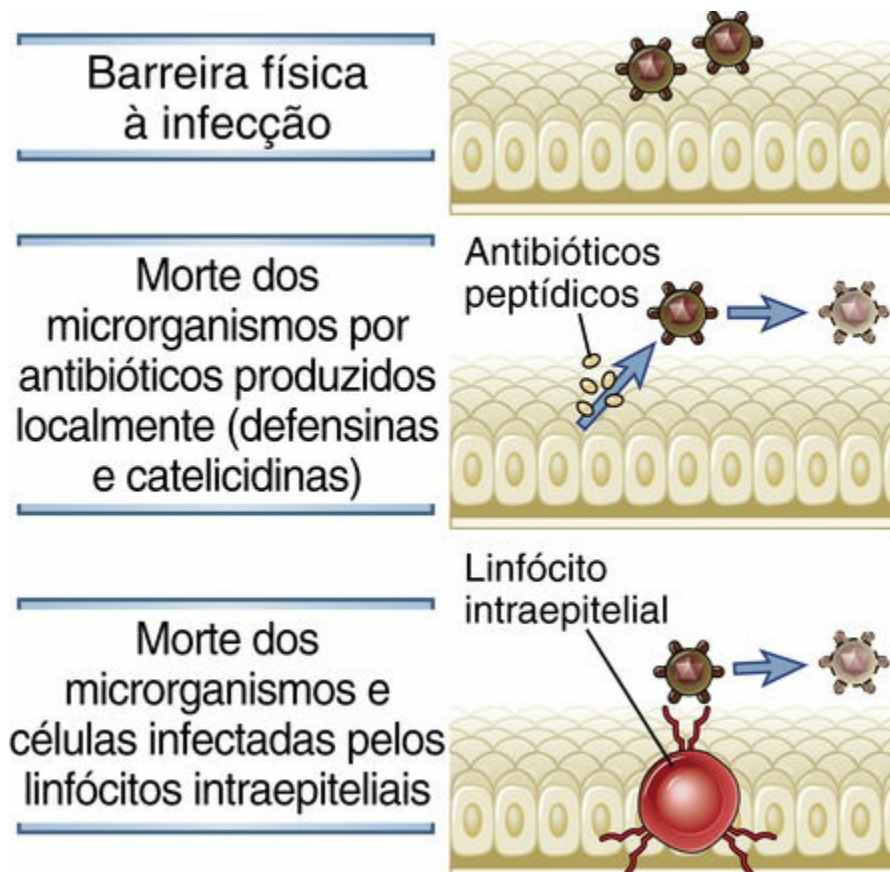
bacterianos contendo resíduos de *N*-formilmetionil e estimula o movimento das células. Pelo fato de todas as proteínas bacterianas e poucas proteínas de mamíferos (somente aquelas sintetizadas dentro da mitocôndria) serem iniciadas por *N*-formilmetionina, o FPR1 permite que os fagócitos detectem e respondam preferencialmente às proteínas bacterianas. Os ligantes peptídicos bacterianos que se ligam a esse receptor são alguns quimioatraentes para leucócitos mais potentes. Os quimioatraentes incluem vários tipos de moléculas difusíveis, frequentemente produzidas nos locais de infecção, que se ligam a receptores específicos nas células e direcionam seu movimento para a fonte do quimioatraente. Outros quimioatraentes, tais como as citocinas discutidas no [Capítulo 3](#), são produzidas pelas células do hospedeiro. O FPR1 e todos os receptores de quimioatraentes pertencem à superfamília de receptores acoplados a sete proteínas transmembranares ligadas a trifosfato de guanosina (GTP). Esses receptores iniciam as respostas intracelulares através de proteínas G triméricas associadas ([Cap. 7](#)). As proteínas G estimulam muitos tipos de respostas celulares, incluindo alterações no citoesqueleto que são responsáveis pela motilidade celular aumentada.

## Componentes celulares do sistema imune inato

As células do sistema imune inato servem como sentinelas para detectar microrganismos e células danificadas nos tecidos e realizar várias funções essenciais para a defesa contra os microrganismos. Algumas células formam barreiras físicas que impedem as infecções. Diversos tipos celulares expressam os vários receptores de padrão de reconhecimento que acabamos de discutir e, após o reconhecimento de PAMPs e DAMPs, as células respondem com a produção de citocinas inflamatórias e proteínas antivirais e com a morte de microrganismos ou células infectadas. Além disso, algumas destas células da imunidade inata são críticas para a estimulação de subseqüentes respostas imunes adaptativas.

## Barreiras Epiteliais

***As superfícies das barreiras epiteliais formam barreiras físicas entre os microrganismos no meio ambiente externo e o tecido do hospedeiro, e as células epiteliais produzem agentes químicos antimicrobianos que impedem a entrada dos microrganismos (Fig. 4-5).*** As principais interfaces entre o meio ambiente e o hospedeiro mamífero são a pele e as superfícies mucosas dos tratos gastrointestinal, respiratório e geniturinário. Essas interfaces são recobertas por camadas contínuas de células epiteliais especializadas que atendem a muitas funções fisiológicas, incluindo a prevenção da entrada de microrganismos. A perda da integridade destas camadas epiteliais pelo trauma ou outras razões predispõe um indivíduo às infecções.



**FIGURA 4-5** Barreiras epiteliais.

O epitélio das portas de entrada dos microrganismos fornece barreiras físicas, produz substâncias antimicrobianas e abriga linfócitos intraepiteliais que se acredita matar microrganismos e células infectadas.

A função protetora da barreira epitelial é em grande parte física. As células epiteliais formam junções próximas umas às outras, bloqueando a passagem dos microrganismos entre as células. A camada externa de queratina, que se acumula à medida que os queratinócitos da superfície da pele morrem, serve para bloquear a penetração microbiana em camadas mais profundas da epiderme. O muco, uma secreção viscosa contendo glicoproteínas chamadas de mucinas, é produzido pelas células respiratórias, gastrintestinais e urogenitais e prejudica fisicamente a invasão microbiana. A função dessas barreiras é o aumento da ação ciliar na árvore brônquica e a peristalse no intestino, o que facilita a eliminação dos microrganismos. Embora essas propriedades físicas sozinhas sejam muito importantes na defesa do hospedeiro, outros mecanismos de defesa epiteliais evoluíram para complementar as barreiras mecânicas.

**As células epiteliais, bem como alguns leucócitos produzem peptídios que têm propriedades antimicrobianas.** Duas famílias estruturalmente distintas de peptídios antimicrobianos são as defensinas e as catelicidinas.

- **Defensinas** são pequenos peptídios catiônicos, com 29 a 34 aminoácidos de

comprimento, que contêm ambas as regiões catiônica e hidrofóbica e três pontes dissulfeto intracadeias. Duas famílias de defensas humanas, denominadas  $\alpha$  e  $\beta$ , são diferenciadas pela localização destas pontes. As defensas são produzidas pelas células epiteliais das superfícies mucosas e pelos leucócitos contendo grânulos, incluindo neutrófilos, células *natural killer* e linfócitos T citotóxicos. O grupo de moléculas defensas produzidas difere entre os diferentes tipos celulares. Células de Paneth dentro das criptas do intestino delgado são as principais produtoras das  $\alpha$ -defensas. As defensas das células de Paneth algumas vezes são chamadas de cripticidinas; sua função é limitar a quantidade de microrganismos na luz. As defensas também são produzidas em qualquer local do intestino, nas células da mucosa respiratória e na pele. Algumas defensas são constitutivamente produzidas por alguns tipos celulares, mas suas secreções podem ser aumentadas por citocinas ou produtos microbianos. Em outras células, as defensas são produzidas somente em resposta às citocinas e produtos microbianos. As ações protetoras das defensas abrangem a toxicidade direcionada aos microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus em envelope, e a ativação de células envolvidas na resposta inflamatória aos microrganismos. As defensas matam os microrganismos por uma variedade de mecanismos, muitos dos quais dependem de suas habilidades em se inserir e romper funções das membranas microbianas.

- **Catelicidina** é produzida pelos neutrófilos e pelas células da barreira epitelial da pele, trato gastrointestinal e trato respiratório. A catelicidina é sintetizada como um precursor proteico de 18 kD com dois domínios, sendo proteoliticamente clivada em dois peptídios, cada um com funções protetoras. Ambas a síntese e clivagem proteolítica do precursor podem ser estimuladas por citocinas inflamatórias e produtos microbianos. As catelicidinas ativas protegem contra infecções por múltiplos mecanismos, incluindo toxicidade direta a uma grande variedade de microrganismos e ativação de várias respostas em leucócitos e outros tipos celulares que promovem a erradicação dos microrganismos. O fragmento C-terminal, chamado de LL-37, pode se ligar e neutralizar o LPS, um componente tóxico da parede externa de bactérias Gram-negativas que foi mencionado anteriormente. O LL-37 também tem papel anti-inflamatório com ligação ao DNA e bloqueio da ativação do inflamassoma AIM2.

***A barreira epitelial contém certos tipos de linfócitos, incluindo linfócitos T intraepiteliais, que reconhecem e respondem aos microrganismos***

***comumente encontrados.*** Os linfócitos T intraepiteliais estão presentes na epiderme da pele e no epitélio mucoso. Vários subgrupos de linfócitos intraepiteliais estão presentes em diferentes proporções, dependendo das espécies e da localização tecidual. Esses subgrupos são distinguidos principalmente pelo tipo de receptor de antígeno da célula T (TCRs) que eles expressam. Alguns linfócitos T intraepiteliais expressam a forma convencional  $\alpha\beta$  de TCR, que está presente na maioria das



células T em tecidos linfoides e circulantes. Outras células T nos epitélios expressam uma forma de receptor de antígenos chamado  $\gamma\delta$  de TCR, que pode reconhecer antígenos peptídicos e não peptídicos. Uma característica comum destas células T é a diversidade limitada de seus receptores de antígenos quando comparados à maioria das células T no sistema imune adaptativo. Acredita-se que os linfócitos T intraepiteliais reconheçam um pequeno número de estruturas microbianas comumente encontradas. Os linfócitos intraepiteliais podem atuar na defesa do hospedeiro secretando citocinas, ativando fagócitos e matando células infectadas.

## Fagócitos

***Células que têm funções fagocíticas especializadas, principalmente macrófagos e neutrófilos, são a primeira linha de defesa contra microrganismos que rompem as barreiras epiteliais.*** Apresentamos esses dois tipos celulares no [Capítulo 2](#) e discutiremos muitos outros detalhes de suas funções no contexto da resposta inflamatória mais adiante neste capítulo. O papel essencial que os fagócitos desempenham na defesa imune inata contra microrganismos é demonstrado pela elevada taxa de bactérias letais e infecções fúngicas em pacientes com baixas contagens de neutrófilos sanguíneos atribuídas a câncer na medula óssea ou quimioterapia e naqueles com deficiências herdadas em funções dos fagócitos.

## Células Dendríticas

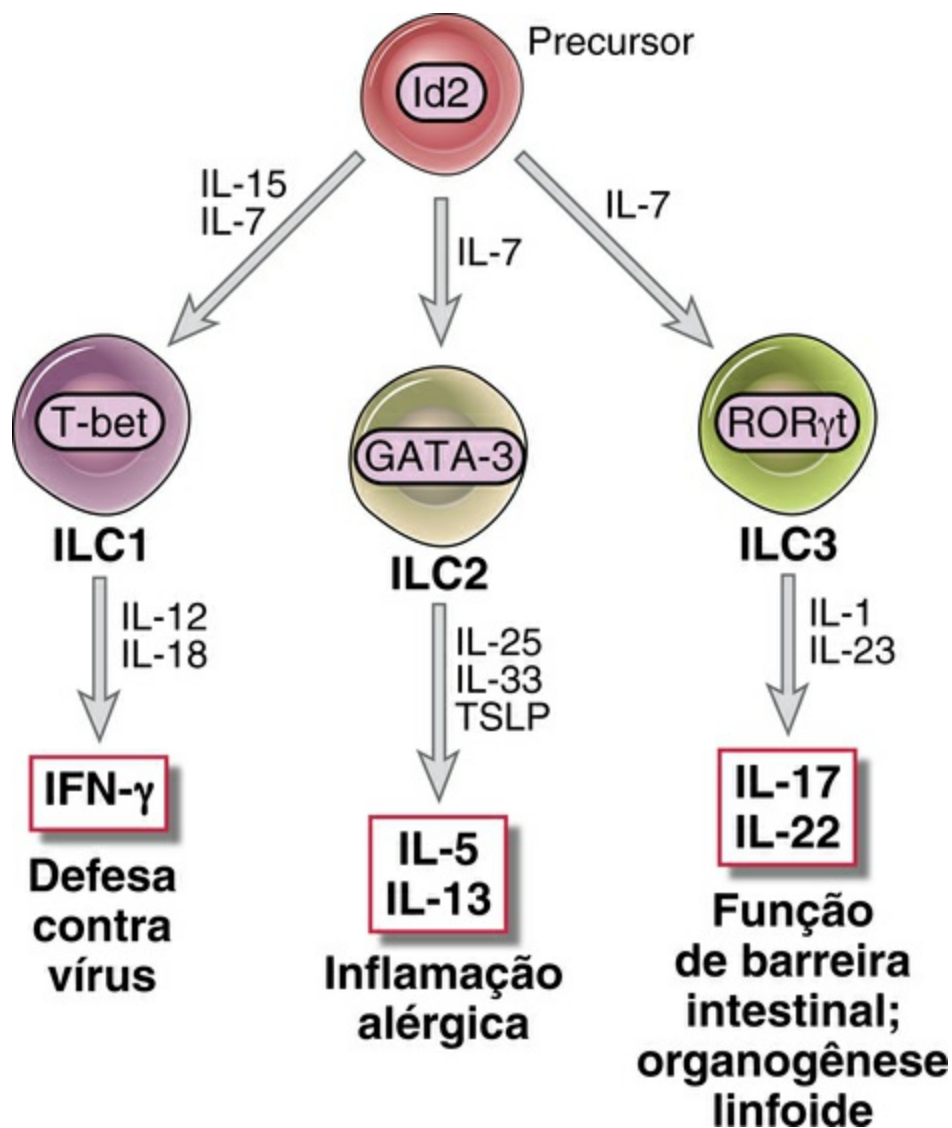
***As células dendríticas realizam o reconhecimento essencial e papéis efetores na imunidade inata.*** As células dendríticas também foram apresentadas no [Capítulo 2](#) e discutiremos seus papéis na apresentação de antígeno às células T no [Capítulo 6](#). Relembre que as células dendríticas, uma família heterogênea de células com longos processos citoplasmáticos do tipo dendritos, estão constitutivamente presentes no epitélio e na maioria dos tecidos do corpo. Em razão da sua localização e morfologia, essas células são preparadas para detectar microrganismos invasores. Além disso, as células dendríticas expressam mais tipos diferentes de TLRs e receptores de padrão de reconhecimento do que qualquer outro tipo celular, tornando-as os mais versáteis sensores de PAMPs e DAMPs dentre todos os tipos celulares no corpo. Um grupo em particular de células dendríticas, chamado de células dendríticas plasmacitoides por causa de sua morfologia similar aos plasmócitos secretores de anticorpo, é a principal fonte de citocinas antivirais, interferons tipo I, produzidos na resposta viral a infecções. Essa característica das células dendríticas plasmacitoides é atribuída em parte ao fato de que elas expressam quantidades abundantes de TLRs endossomais (TLRs 3, 7, 8, 9), que reconhecem ácidos nucleicos de vírus internalizados pelas células. Abordaremos as ações

antivirais dos interferons tipo I em mais detalhes posteriormente neste capítulo.

***As células dendríticas são as únicas capazes de disparar e direcionar as respostas imunes adaptativas mediadas por célula T, e isso depende de suas respostas imunes inatas aos microrganismos.*** Essa capacidade reflete a habilidade das células dendríticas em captar os antígenos proteicos microbianos, transportá-los para os linfonodos onde as células T imaturas se localizam e apresentar os antígenos proteicos em uma forma na qual as células T possam reconhecer (Cap. 6). É importante ressaltar que a resposta imune inata das células dendríticas aos PAMPs, particularmente a sinalização de TLR, aumenta a habilidade das células dendríticas em processar e apresentar os antígenos estranhos. Além disso, a sinalização do TLR induz a expressão de moléculas pelas células dendríticas, incluindo coestimuladores e citocinas, que são necessários, em adição ao antígeno, para a ativação das células T imaturas e sua diferenciação em células T efetoras. Dependendo da natureza do microrganismo que induz a resposta inata, a célula dendrítica irá direcionar a diferenciação da célula T imatura em tipos distintos de células efetoras, tais como células T<sub>H</sub>1 produtoras de IFN- $\gamma$  ou células T<sub>H</sub>17 produtoras de IL-17. Abordaremos a influência das células dendríticas na ativação e diferenciação da célula T no [Capítulo 9](#).

## **Células *Natural Killer* e outras Células Linfoides Inatas**

As células linfoides inatas (ILCs), que foram introduzidas no [Capítulo 2](#), são células derivadas da medula óssea com morfologia linfocítica e que atendem a diversas funções antimicrobianas. Essas células surgem de um precursor comum na medula óssea identificável pela expressão do fator de transcrição Id2; elas dependem de IL-7 ou, em um caso, de IL-15 para o desenvolvimento, e, ao contrário dos linfócitos do sistema imune adaptativo, emergem completamente capazes de realizar funções efetoras sem a necessidade de expansão clonal ou diferenciação. As ILCs usam mecanismos efetores compartilhados pelas células T, particularmente a habilidade em produzir várias citocinas, mas elas não reorganizam os genes do receptor de antígeno e não expressam TCRs. Existem três subgrupos principais de células linfoides inatas, diferenciados pelas citocinas que produzem ([Fig. 4-6](#)). Cada tipo pode ainda ser dividido em subgrupos adicionais com base nas moléculas da superfície celular e nos mecanismos efetores que eles utilizam para realizar suas funções protetoras (discutido brevemente).



**FIGURA 4-6** Células linfoides inatas.

Os três principais subgrupos das células linfoides inatas (ILCs) se desenvolvem a partir de um precursor comum na medula óssea identificado pelo fator de transcrição Id2. Cada subgrupo diferenciado é identificado pela expressão de diferentes fatores de transcrição e pelas citocinas produzidas quando ativados, como indicado. As citocinas que direcionam a diferenciação nos subgrupos ILC1, 2 ou 3, bem como as citocinas que ativam as ILCs para produzir seus próprios subgrupos de citocinas são mostradas. As principais funções conhecidas das ILCs também são indicadas.

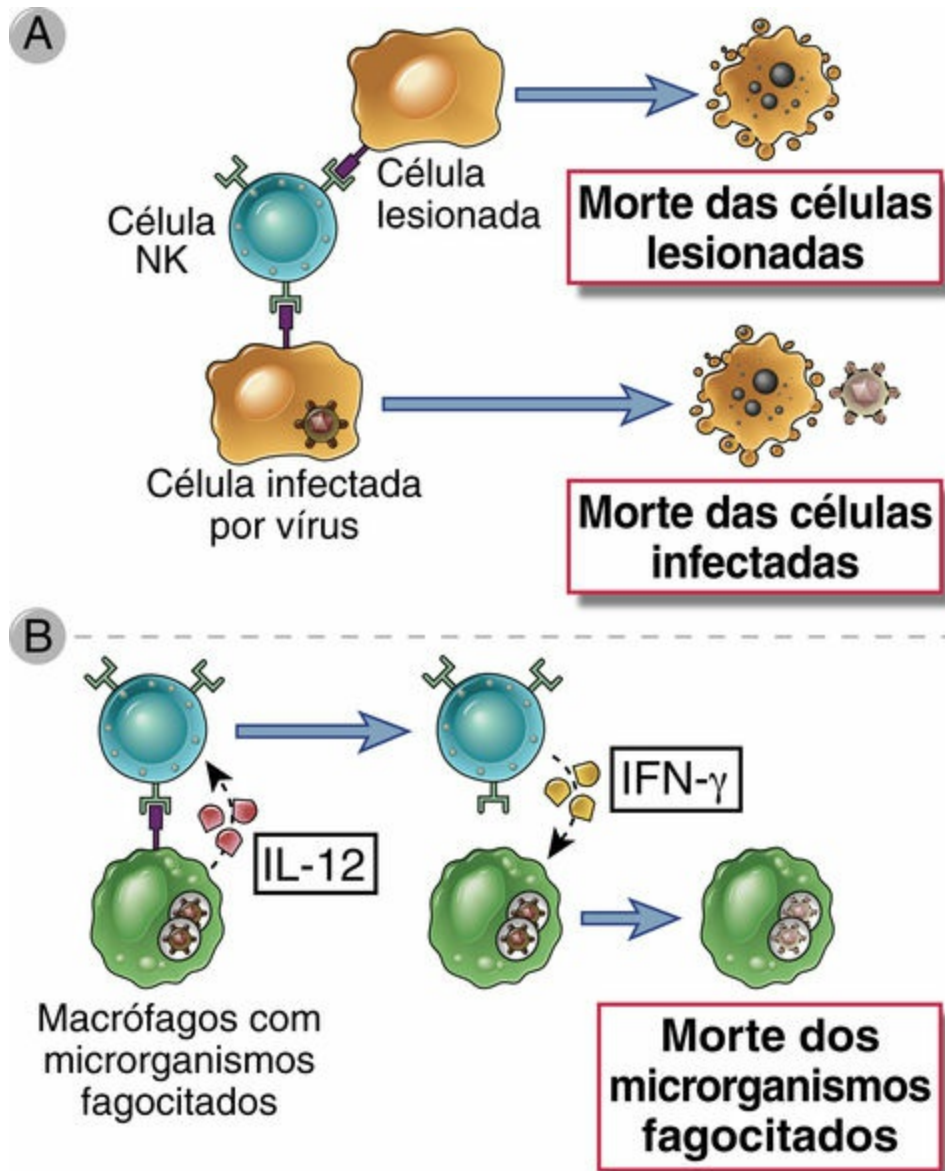
### Células Natural Killer

*As células natural killer (NK), as primeiras e mais bem descritas células linfoides inatas, são um subgrupo de ILCs tipo I, que desempenham*

**importantes papéis nas respostas imunes inatas principalmente contra vírus intracelulares e bactérias.** O termo *natural killer* deriva do fato de que sua principal função é a morte das células infectadas, similar às células *killer* do sistema imune adaptativo, os linfócitos T citotóxicos (CTLs), e elas estão prontas para o fazer uma vez que tenham se desenvolvido, sem nova diferenciação (por isso, *natural*). As células NK constituem 5% a 15% das células mononucleares no sangue e no baço. Elas são raras em outros órgãos linfóides, porém são mais abundantes em órgãos como fígado e útero gravídico. As células NK no sangue surgem como grandes linfócitos com numerosos grânulos citoplasmáticos. Assim como com todas as ILCs, as células NK não expressam diversos receptores de antígenos clonalmente distribuídos e típicos das células B e T. Em vez disso, elas utilizam receptores que codificam DNA (discutidos mais adiante) para distinguir células infectadas com patógeno das células saudáveis. Elas podem ser identificadas no sangue pela expressão de CD56 e ausência do marcador CD3 de célula T. A maioria das células NK sanguíneas humanas também expressa CD16, que está envolvido no reconhecimento das células recobertas por anticorpo.

## Funções das Células NK

**As funções efetoras das células NK são matar as células infectadas e produzir IFN- $\gamma$ , que ativa macrófagos para destruir microrganismos fagocitados** (Fig. 4-7). O mecanismo de citotoxicidade mediado pela célula NK é essencialmente o mesmo das CTLs CD8<sup>+</sup>, que descreveremos em detalhes no [Capítulo 11](#). As células NK, assim como as CTLs, apresentam grânulos contendo proteínas que medeiam a morte das células-alvo. Quando as células NK são ativadas, a exocitose dos grânulos libera essas proteínas adjacentes às células-alvo. Uma proteína do grânulo da célula NK, chamada de **perforina**, facilita a entrada de outras proteínas granulares, denominadas **granzimas**, para o citosol das células-alvo. As granzimas são enzimas que iniciam uma sequência de eventos de sinalização que causam a morte das células-alvo por apoptose. Com a morte das células infectadas com vírus e bactérias intracelulares, as células NK eliminam os reservatórios de infecção. No início do curso de uma infecção viral, as células NK se expandem e são ativadas por IL-12 e IL-15, matando as células infectadas antes que os CTLs específicos para antígenos se tornem completamente ativados. As células NK também podem ser importantes mais adiante no curso da infecção viral com a morte das células infectadas que escaparam do ataque imune mediado pelo CTL por meio de redução na expressão de moléculas de MHC de classe I. Alguns tumores, especialmente aqueles de origem hematopoética, são alvos das células NK, talvez porque as células tumorais não expressem níveis normais ou tipos de moléculas de MHC de classe I.



**FIGURA 4-7** Funções das células NK.

**A**, As células NK reconhecem ligantes nas células infectadas ou células submetidas a outros tipos de estresse e matam as células do hospedeiro. Dessa maneira, as células NK eliminam os reservatórios de infecção, bem como células disfuncionais. **B**, As células NK respondem à IL-12 produzida pelos macrófagos e secretam IFN- $\gamma$ , que ativa os macrófagos para matarem os microrganismos fagocitados.

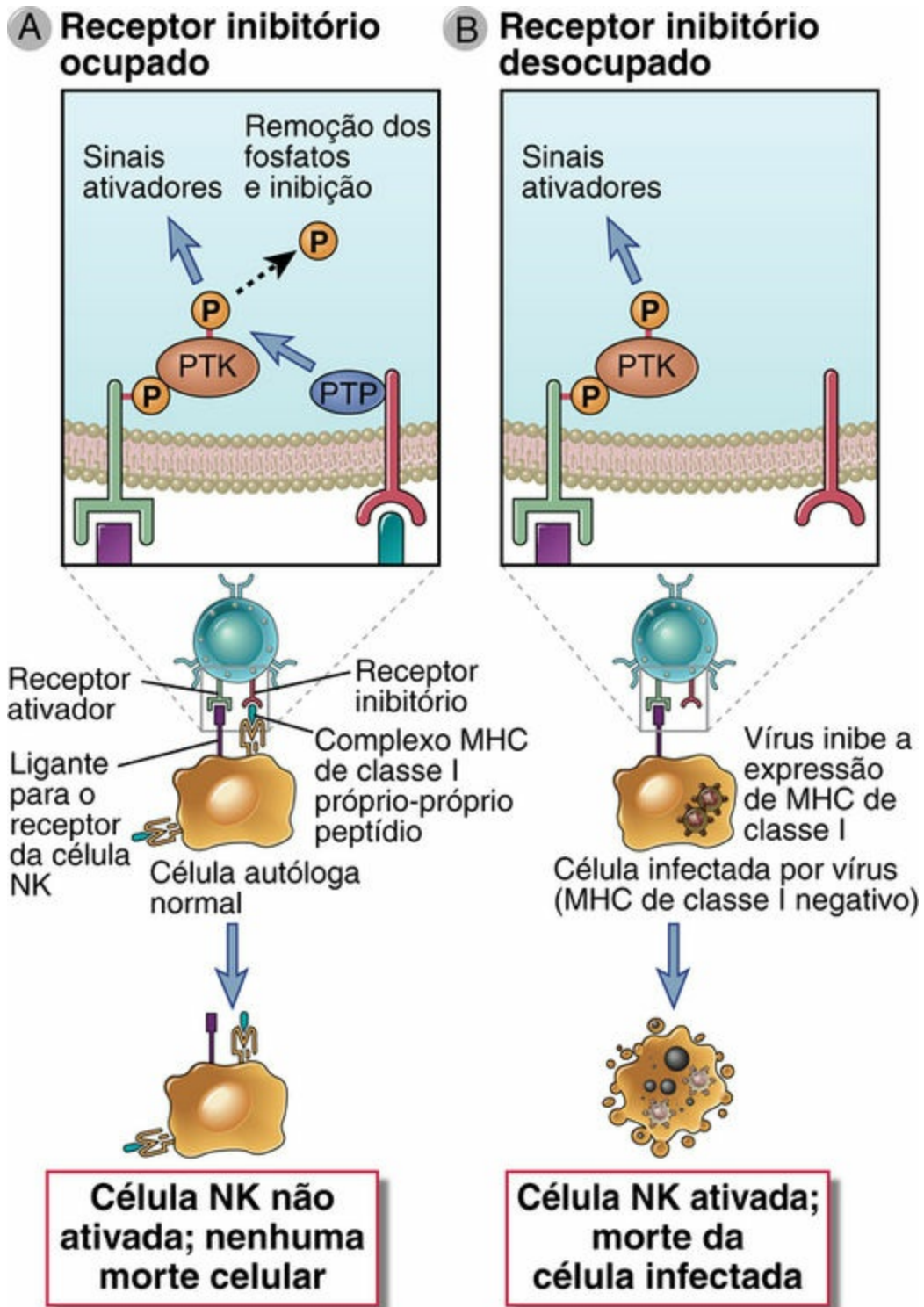
O IFN- $\gamma$  derivado da célula NK aumenta a capacidade dos macrófagos para matarem as bactérias fagocitadas, semelhante ao IFN- $\gamma$  produzido pelas células T (Cap. 10). Essa interação célula NK dependente de IFN- $\gamma$ -macrófago pode controlar uma infecção com bactéria intracelular (p. ex., *Listeria monocytogenes*) por vários dias ou semanas e, então, fornece tempo para que a imunidade mediada por célula T

se desenvolva e erradique a infecção. O IFN- $\gamma$  produzido pelas células NK nos linfonodos também pode direcionar a diferenciação das células T imaturas em células T<sub>H</sub>1 (Cap. 10). Algumas células NK humanas não expressam CD16 nem são citotóxicas, mas produzem abundante IFN- $\gamma$ . Previsivelmente, a depleção das células NK induz a suscetibilidade aumentada à infecção por alguns vírus e bactérias intracelulares. Em camundongos sem células T, a resposta das células NK pode ser adequada para manter a infecção com esses microrganismos sob controle durante algum tempo, mas os animais eventualmente sucumbem na ausência de imunidade mediada por célula T.

## Receptores Ativadores e Inibidores de Células NK

***As células NK distinguem as células infectadas e saudáveis, e a função da célula NK é regulada pelo balanço entre sinais que são gerados a partir de receptores ativadores e receptores inibidores.*** Esses receptores reconhecem moléculas na superfície de outras células e geram sinais ativadores e inibidores que promovem ou inibem respostas NK. Os receptores ativadores estimulam proteinoquinas que fosforilam substratos nas vias de sinalização, ao passo que os receptores inibidores estimulam fosfatases que contrabalançam as quinases. Discutiremos os detalhes da sinalização do receptor NK mais adiante neste capítulo. Em geral, os receptores ativadores reconhecem ligantes nas células infectadas ou danificadas, que precisam ser eliminados, e os receptores inibitórios reconhecem células normais saudáveis, que necessitam ser preservadas (Fig. 4-8). Quando uma célula NK interage com outra célula, o resultado é determinado pela integração dos sinais gerados por uma gama de receptores inibitórios e ativadores que são expressos pela célula NK e que interagem com ligantes na outra célula. A ligação aos receptores ativadores estimula a atividade de morte das células NK, resultando em destruição das células estressadas ou infectadas. Em contrapartida, a ligação dos receptores inibitórios desliga a função NK e previne a destruição das células saudáveis. Em virtude da natureza estocástica de sua expressão, existe uma significativa diversidade nos receptores ativadores e inibitórios que diferentes células NK expressam em qualquer indivíduo. O resultado disso é que células NK individuais, mesmo na mesma pessoa, podem responder a diferentes tipos de microrganismos ou células infectadas. Além disso, os genes que codificam muitos desses receptores são polimórficos, significando que existem muitas variações de genes na população, de tal forma que uma pessoa expressará uma forma ligeiramente diferente de receptores de outra pessoa.



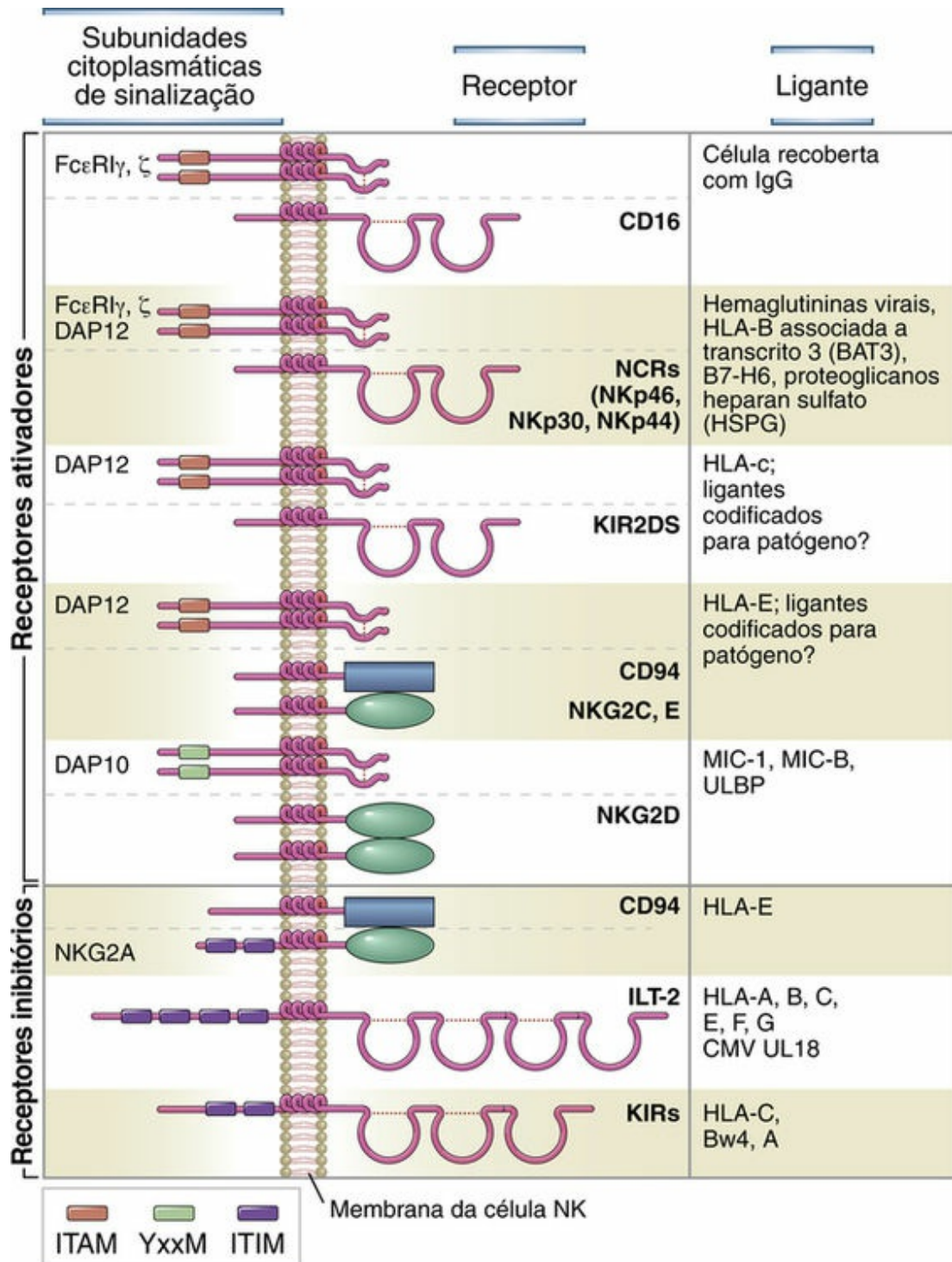


**FIGURA 4-8** Funções dos receptores ativadores e inibidores das células NK.

A, Os receptores ativadores das células NK reconhecem ligantes nas células-alvo e ativam as proteínas tirosinoquinases (PTKs), cujas atividades são inibidas pelos receptores inibitórios que reconhecem as moléculas de MHC de classe I e ativam as proteínas tirosinofosfases (PTP). As

células NK não matam eficientemente as células saudáveis que expressam MHC de classe I. **B**, Se uma infecção por vírus ou outro estresse inibe a expressão do MHC de classe I nas células infectadas e induz a expressão de ligantes ativadores adicionais, o receptor inibidor da célula NK não é ocupado e o receptor ativador age sem oposição para desencadear respostas das células NK, tais como morte das células-alvo e secreção de citocinas. Além disso, as células estressadas pela infecção ou transformação neoplásica podem expressar quantidades aumentadas de ligantes ativadores, que se ligam nos receptores ativadores da célula NK e induzem mais fosforilação de tirosina do que pode ser removido pelas fosfatases associadas ao receptor inibitório, resultando na morte das células estressadas (não mostrado). Detalhes estruturais e ligantes dos receptores inibitórios e ativadores da célula NK são mostrados na [Figura 4-9](#).

***Os receptores ativadores nas células NK reconhecem um grupo heterogêneo de ligantes, alguns dos quais podem ser expressos em células normais e outros são expressos principalmente nas células que estão sob estresse, infectadas com microrganismos ou transformadas (Fig. 4-9).*** Muitos dos receptores ativadores de célula NK são chamados de **receptores do tipo imunoglobulina (Ig) de célula killer (KIRs)**, porque eles contêm um domínio estrutural denominado dobra de Ig, primeiramente identificado em moléculas de anticorpos (também conhecidas como Ig), discutidas no [Capítulo 5](#). Todas as proteínas com dobras Ig são membros da superfamília Ig. Um segundo importante grupo de receptores ativadores NK pertence à família de lectinas do tipo C, que são proteínas com propriedades de ligação a carboidrato. Alguns dos receptores ativadores parecem se ligar às moléculas de MHC de classe I, o que consiste em uma importante propriedade dos receptores inibitórios, como abordaremos posteriormente. O significado do reconhecimento do MHC de classe I pelos receptores ativadores é desconhecido. Outros receptores ativadores reconhecem ligantes diferentes das moléculas de MHC clássicas. Um receptor ativador de célula NK bem estudado na família das lectinas de tipo C é o NKG2D, que se liga às proteínas do tipo MHC de tipo I, incluindo MIC-A e MIC-B, encontradas em células viralmente infectadas e células tumorais, mas não em células normais. O receptor NKG2D se associa à subunidade de sinalização chamada de DAP10, cujas funções de sinalização aumentam a citotoxicidade da célula NK contra as células-alvo.



**FIGURA 4-9** Estrutura e ligantes dos receptores ativadores e inibidores das células NK.

Os receptores ativadores e inibidores estão indicados em negrito. CD16 e os receptores citotóxicos naturais (NCRs) associados aos homodímeros de cadeia ζ, homodímeros FcεR1γ ou heterodímeros ζ-FcεR1γ. Existem múltiplos KIRs diferentes, com distintas especificidades dos ligantes.

Outro importante receptor ativador nas células NK é o CD16 (FcγRIIIA), que é um receptor de baixa afinidade para anticorpos IgG. As moléculas de anticorpo têm terminações de ligação ao antígeno altamente variáveis e, na terminação oposta, apresentam uma porção invariável, chamada de região Fc, que interage com várias outras moléculas no sistema imune. Descreveremos a estrutura dos anticorpos em detalhes no [Capítulo 5](#), mas agora é suficiente saber que o CD16 se liga às regiões Fc de certos tipos de anticorpos chamados de IgG1 e IgG3. O CD16 se associa a uma de três proteínas de sinalização (p. ex., FcεR1γ, ζ e proteínas DAP12). Durante uma infecção, o sistema imune adaptativo produz anticorpos IgG1 e IgG3, que se ligam aos antígenos microbianos expressos na superfície das células infectadas, e o CD16 nas células NK pode se ligar às regiões Fc destes anticorpos. Como resultado, o CD16 gera sinais de ativação, através de seus parceiros de sinalização associados, e as células NK podem matar as células infectadas que foram recobertas com moléculas de anticorpo. Esse processo é chamado de **citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo**; esta é uma função efetora da imunidade adaptativa que será mostrada no [Capítulo 13](#) quando considerarmos a imunidade humoral.

***A maioria das células NK expressa receptores inibitórios que reconhecem moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe I, que são proteínas de superfície células normalmente expressas em todas as células nucleadas saudáveis do corpo (Fig. 4-9).*** A principal função das moléculas de MHC de classe I, distinta do seu papel na regulação da ativação da célula NK, é a apresentação de peptídeos derivados de proteínas citoplasmáticas, incluindo proteínas microbianas, na superfície celular para o reconhecimento pelos linfócitos CD8<sup>+</sup>. Discutiremos a estrutura e função das moléculas de MHC em relação ao reconhecimento do antígeno pela célula T no [Capítulo 6](#). Neste momento, é importante compreender que as células NK utilizam tipos de receptores fundamentalmente diferentes dos das células T para reconhecer as moléculas de MHC de classe I. Diferentemente das células T, muitos dos receptores NK para MHC de classe I respondem com inibição da ativação da NK. Isso é útil porque as células normais expressam moléculas de MHC de classe I e muitos vírus e outras causas de estresse celular levam a uma perda da expressão na superfície celular do MHC de classe I. Assim, as células NK interpretam a presença das moléculas de MHC de classe I como marcadores de normais, saudáveis, e sua ausência é uma indicação de infecção ou dano. Dessa maneira, as células NK serão inibidas pelas células saudáveis, mas não receberão sinais inibitórios das células infectadas ou estressadas. Ao mesmo tempo, as células NK são suscetíveis de receber sinais de ativação das mesmas células infectadas através de receptores ativadores. O resultado será ativação da célula NK para secretar citocinas e para matar a célula infectada ou estressada. Esta habilidade das células NK em se tornarem ativadas pelas células do hospedeiro que não têm o MHC de classe I foi denominada



reconhecimento da falta do próprio.

O maior grupo de receptores inibitórios NK são os KIRs, que se ligam a uma variedade de moléculas de MHC de classe I. Outros receptores inibitórios são as lectinas, tais como o heterodímero CD94/NKG2A, que reconhece a molécula de MHC de classe I chamada de HLA-E. Interessantemente, o HLA-E exibe peptídeos derivados de outras moléculas de MHC de classe I; assim, em essência, o CD94/NKG2A é um receptor de vigilância para várias diferentes moléculas de MHC de classe I. Uma terceira família de receptores inibitórios NK, chamada de receptores do tipo Ig de leucócito (LIRs), também consiste em membros da superfamília Ig que se ligam às moléculas de MHC de classe I, embora com menor afinidade do que os KIRs, e mais altamente expressos nas células B do que nas células NK.

**Receptores ativadores e inibitórios NK contêm motivos estruturais em suas caudas citoplasmáticas, que ativam vias de sinalização que respectivamente promovem ou inibem a morte da célula-alvo e a secreção de citocina (Figs. 4-8 e 4-9).** Os receptores ativadores têm **motivos de ativação baseados em imunorreceptores de tirosina (ITAMs)**, os quais possuem resíduos de tirosina que se tornam fosforilados pelas quinases citoplasmáticas após a ligação dos receptores. Outras preteinoquinases são recrutadas para os ITAMs modificados e se tornam ativadas, e estas quinases contribuem para a sinalização através da fosforilação de proteínas adicionais, eventualmente levando a atividade citotóxica e secreção de citocina. As ITAMs também são encontradas nas caudas citoplasmáticas de outros receptores de sinalização com multicadeias do sistema imune, incluindo os receptores de antígeno nas células T e B, e abordaremos suas estruturas e funções de sinalização em mais detalhes no [Capítulo 7](#). Em alguns receptores de ativação, uma única cadeia polipeptídica contém o ITAM, bem como a porção de ligação extracelular ao ligante. Em outros receptores, as ITAMs estão em cadeias polipeptídicas separadas, tais como Fc $\epsilon$ R1 $\gamma$ ,  $\zeta$  e DAP12, que não se ligam ao ligante, mas estão não covalentemente associados à cadeia de ligação ao ligante.

Os receptores inibitórios das células NK têm **motivos de inibição baseados em imunorreceptores de tirosina (ITIMs)**, que se ligam a moléculas que bloqueiam as vias de sinalização dos receptores de ativação ([Figs. 4-8 e 4-9](#)). Os ITIMs possuem resíduos de tirosina que são fosforilados na ligação ao receptor inibitório. Isso leva ao recrutamento e ativação das fosfatases, o que remove fosfatos de várias proteínas ou lipídios de sinalização gerados pelas vias de sinalização dos receptores de ativação NK. O final resulta em bloqueio das funções de sinalização dos receptores de ativação. Os ITIMs também são encontrados nas caudas citoplasmáticas de outros receptores além dos receptores inibitórios NK, e abordaremos suas estruturas e funções de sinalização em mais detalhes no [Capítulo 7](#).

Os genes *KIR* são polimórficos, o que significa que existem várias variantes alélicas na população humana e os grupos de alelos KIR frequentemente são herdados juntos de um único pai. Esses grupos de genes ligados são chamados de haplótipos

*KIR*. Existem dois haplótipos *KIR* principais e alguns outros raros. Os haplótipos diferem no número de receptores decodificados, e alguns têm mais ou menos receptores ativadores do que outros. Alguns haplótipos estão associados à suscetibilidade aumentada para algumas doenças, incluindo aborto espontâneo e uveíte.

**As citocinas podem aumentar as respostas funcionais das células NK.** As principais citocinas do sistema imune inato que estimulam a função NK são IL-12, IL-15, IL-18 e interferons tipo I (discutido mais tarde). Cada uma dessas citocinas aumenta a atividade citotóxica das células NK, e elas podem estimular a secreção de IFN- $\gamma$  pela célula NK independente dos receptores de ativação. Além disso, IL-12 e IL-15 são importantes fatores de crescimento para as células NK.

## Outras Células Linfoides Inatas

**Os três subgrupos de células linfoides inatas, Grupo 1 (que inclui células NK), Grupo 2 e Grupo 3, produzem diferentes grupos de citocinas, participam na defesa do hospedeiro contra patógenos distintos e podem estar envolvidos em diferentes distúrbios inflamatórias.** Esses subgrupos são análogos aos subgrupos  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$  de linfócitos T  $CD4^+$  que secretam algumas das mesmas citocinas (Fig. 4-6). Os ILCs do Grupo 1 produzem IFN- $\gamma$  e incluem as células NK citotóxicas e não citotóxicas descritas anteriormente. As ILCs do Grupo 2, assim como o subgrupo  $T_H2$  das células T auxiliares  $CD4^+$ , secretam IL-5, IL-9 e IL-13 e expressam o fator de transcrição GATA2. Essas células protegem os camundongos de infecções helmínticas parasíticas e também contribuem para a doença alérgica. As ILCs do Grupo 3 produzem IL-22 e/ou IL-17 e expressam o fator de transcrição ROR $\gamma_t$ , que são características compartilhadas pelo subgrupo  $T_H17$  e pelas células T auxiliares  $CD4^+$ . As ILCs do Grupo 3 são encontradas em locais mucosos e atuam na defesa contra bactérias extracelulares, bem como na manutenção da integridade das barreiras epiteliais. As células indutoras de tecido linfóide (LTi) são ILCs do Grupo 3, que, em adição à secreção de IL-17 e IL-22, também expressam linfotóxina- $\alpha$  de membrana e secretam TNF, citocinas que são necessárias para o desenvolvimento normal dos órgãos linfóides (Cap. 2).

## Linfócitos T e B com Diversidade Limitada de Receptor de Antígeno

Como discutiremos mais detalhadamente em capítulos posteriores, a maioria dos linfócitos T e B é componente do sistema imune adaptativo e se caracteriza por um repertório altamente diverso de especificidades para diferentes antígenos. Entretanto, certas pequenas populações de linfócitos expressam receptores de antígenos que



são estruturalmente os mesmos daqueles das células T e B, mas esses receptores têm pouca diversidade. Esses subgrupos de células T e B podem reconhecer estruturas expressas por muitas espécies microbianas comumente encontradas. As células T com diversidade limitada de receptor de antígeno incluem células T NK invariantes (iNKT), células  $\gamma\delta$  e células T intraepiteliais com TCRs  $\alpha\beta$  (mencionados anteriormente). Os subgrupos de células B que produzem anticorpos com um quadro limitado de especificidades incluem as células B-1 e as células B da zona marginal. Embora essas células T e B realizem funções similares assim como suas contrapartes clonalmente diversas, a natureza de suas especificidades as coloca em uma categoria especial de linfócitos que se assemelham mais a células da imunidade inata do que a células da imunidade adaptativa. Esses subgrupos de células T e B especiais serão descritos nos [Capítulos 10 e 12](#), respectivamente.

## Mastócitos

***Os mastócitos estão presentes na pele e no epitélio mucoso e secretam rapidamente citocinas pró-inflamatórias e mediadores lipídicos em resposta às infecções e outros estímulos.*** Apresentamos os mastócitos no [Capítulo 2](#).

Relembre que essas células contêm abundantes grânulos citoplasmáticos preenchidos com vários mediadores inflamatórios que são liberados quando as células são ativadas pelos produtos microbianos ou por um mecanismo especial dependente de anticorpo. O conteúdo do grânulo inclui aminas vasoativas (como histamina) que causam vasodilatação e permeabilidade capilar aumentada e enzimas proteolíticas que podem matar as bactérias ou inativar toxinas microbianas. Os mastócitos também sintetizam e secretam mediadores lipídicos (como prostaglandinas) e citocinas (como TNF). Pelo fato de os mastócitos normalmente estarem localizados adjacentes aos vasos sanguíneos ([Fig. 2-1, B](#)), seus conteúdos granulares liberados rapidamente induzem mudanças nos vasos sanguíneos que promovem inflamação aguda. Os mastócitos expressam TLRs, e os ligantes do TLR podem induzir desgranulação do mastócito. Camundongos deficientes em mastócitos têm prejudicado o controle de infecções bacterianas, provavelmente por causa das respostas imunes inatas defeituosas. Os produtos dos mastócitos também fornecem defesa contra helmintos e são responsáveis pelos sintomas das doenças alérgicas. Retornaremos à discussão detalhada dos mastócitos em relação às doenças alérgicas no [Capítulo 20](#).

## Reconhecimento solúvel e moléculas efetoras da imunidade inata

Diferentes tipos de moléculas que reconhecem microrganismos e promovem respostas inatas existem em forma solúvel no sangue e nos fluidos extracelulares.

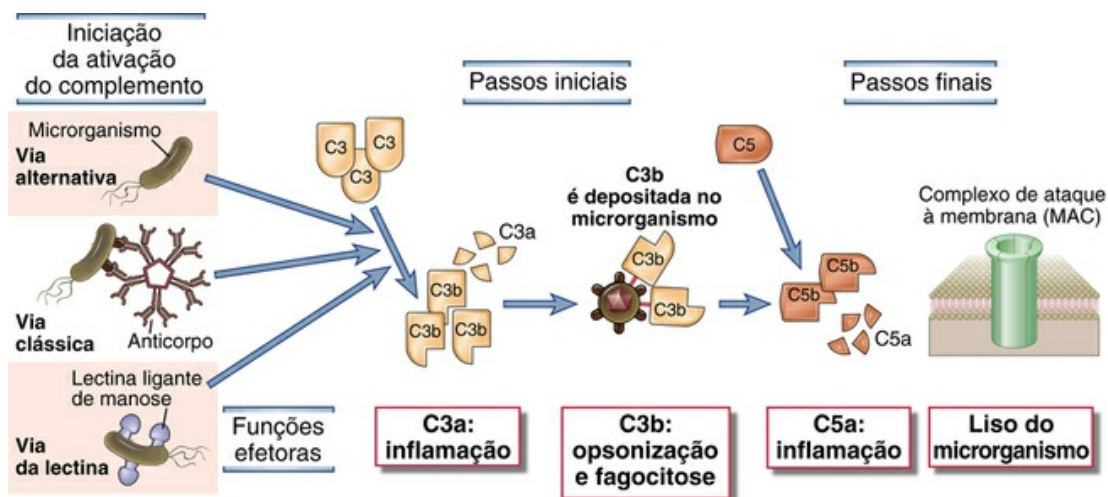
Essas moléculas fornecem defesa inicial contra patógenos que estão presentes do lado de fora das células do hospedeiro em algum estágio do seu ciclo de vida. As moléculas efetoras solúveis atuam de duas maneiras principais:

- Por ligação aos microrganismos, elas agem como **opsoninas** e aumentam a habilidade dos macrófagos, neutrófilos e células dendríticas em fagocitar os microrganismos. Isso ocorre porque as células fagocíticas expressam receptores de membrana específicos para as opsoninas, os quais podem eficientemente mediar a internalização do complexo de opsonina ligada ao microrganismo.
- Após a ligação aos microrganismos, os mediadores solúveis da imunidade inata promovem respostas inflamatórias que trazem mais fagócitos para os locais de infecções e eles também podem matar diretamente os microrganismos.

As moléculas efetoras solúveis algumas vezes são chamadas de ramo humoral da imunidade inata, análoga ao ramo humoral da imunidade adaptativa mediada pelos anticorpos. Os principais componentes do sistema imune inato humoral são sistema complemento, colectinas, pentraxinas e ficolinas, que serão descritos a seguir.

## Sistema Complemento

***O sistema complemento consiste em várias proteínas plasmáticas que trabalham juntas para opsonizar os microrganismos promover o recrutamento de fagócitos para o local de infecção e, em alguns casos, matar diretamente os microrganismos (Fig. 4-10).*** A ativação do complemento envolve cascatas proteolíticas nas quais uma enzima precursora inativa, chamada de zimogênio, é alterada para se tornar uma protease ativa que cliva e, assim, induz a atividade proteolítica da próxima proteína do complemento na cascata. As cascatas enzimáticas resultam em significativa amplificação da quantidade de produtos proteolíticos que são gerados. Esses produtos realizam as funções efetoras do sistema complemento. Além do sistema complemento, outras cascatas proteolíticas importantes medicamente incluem as vias da coagulação sanguínea e o sistema cinina-caliceína que regula a permeabilidade vascular.

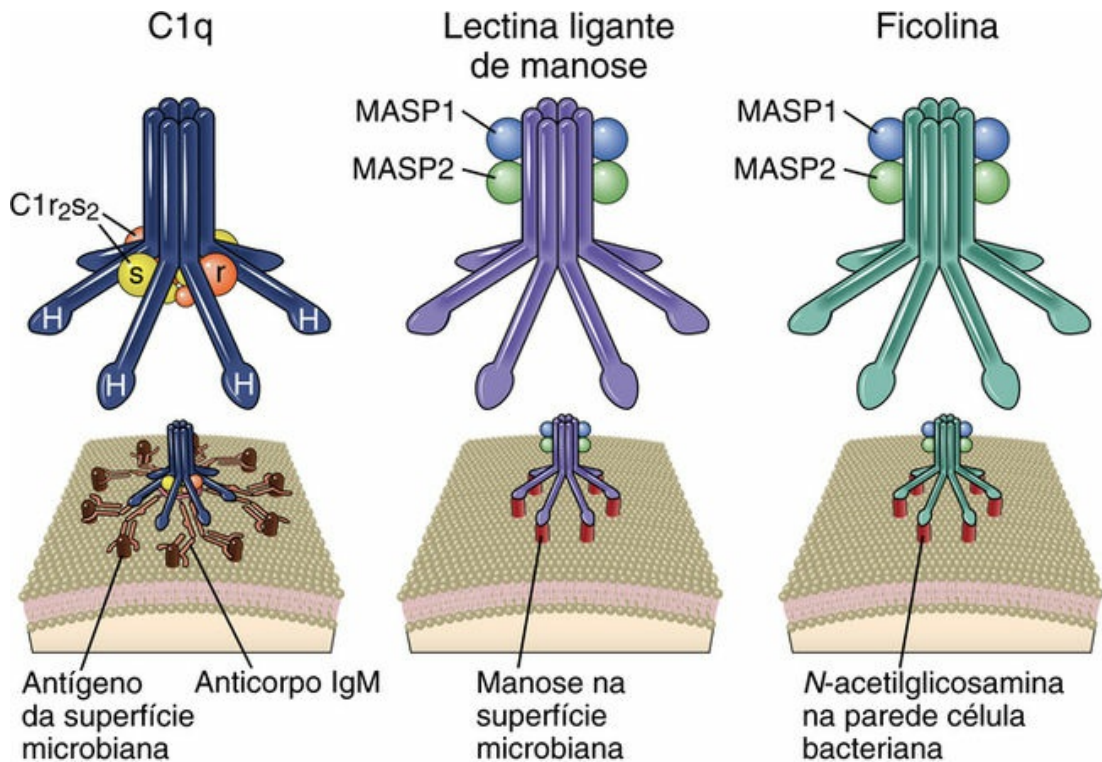


**FIGURA 4-10** Vias da ativação do complemento.

A ativação do sistema complemento pode ser iniciada por três vias diferentes, todas as quais levam à produção de C3b (os passos iniciais). O C3b inicia os passos finais da ativação do complemento, culminando na produção de peptídios que estimulam a inflamação (C5a) e C9 polimerizado, que forma o complexo de ataque à membrana, assim chamado porque ele cria buracos nas membranas plasmáticas. As principais funções das proteínas principais produzidas nos diferentes passos são mostradas. Ativação, funções e regulação do sistema complemento são discutidas em mais detalhes no [Capítulo 12](#).

O primeiro passo na ativação do sistema complemento é o reconhecimento de moléculas nas superfícies microbianas, mas não nas células do hospedeiro, o que ocorre de três maneiras, cada uma se referindo a uma via distinta da ativação do complemento:

- A **via clássica**, assim chamada porque foi descoberta primeiro, utiliza uma proteína plasmática chamada de C1q para detectar anticorpos ligados na superfície do microorganismo ou outra estrutura ([Fig. 4-11](#)). Uma vez que C1q tenha se ligado à porção Fc dos anticorpos, duas serinoproteases associadas, chamadas de C1r e C1s, se tornam ativas e iniciam uma cascata proteolítica envolvendo outras proteínas do complemento. A via clássica é um dos principais mecanismos efetores do braço humoral das respostas imunes adaptativas ([Cap. 13](#)). As proteínas solúveis do sistema imune inato denominadas pentraxinas, que serão discutidas mais adiante, também podem se ligar ao C1q e iniciar a via clássica.



**FIGURA 4-11** C1, lectina ligante de manose e ficolina.

Estas três proteínas hexaméricas, homólogas, podem iniciar a ativação do complemento com a ligação de seus ligantes na superfície celular. As cabeças globulares do tipo lectina tipo C, nas porções finais das caudas tipo colágeno no C1q e nas proteínas lectinas ligantes de manose, se ligam às regiões Fc da IgM ou manose na superfície dos microrganismos, respectivamente. As cabeças globulares do tipo fibrinogênio, na ficolina, se ligam às *N*-acetilglicosaminas das superfícies dos microrganismos. A ligação resulta em alterações conformacionais que ativam a atividade da serinoprotease de C1r e C1s, associadas a C1q, ou MASP1 e MASP2, associados a lectina ligante de manose e ficolina.

- A **via alternativa**, que foi descoberta mais tarde, porém é filogeneticamente mais antiga do que a via clássica, é disparada quando uma proteína do complemento chamada de C3 reconhece diretamente certas estruturas da superfície microbiana, tais como LPS bacteriano. O C3 também é constitutivamente ativado em solução a um baixo nível e se liga às superfícies celulares, mas, então, é inibido por moléculas regulatórias presentes nas células de mamíferos. Pelo fato de os microrganismos não terem essas proteínas regulatórias, a ativação espontânea pode ser amplificada nas superfícies microbianas. Assim, esta via pode distinguir o próprio normal de microrganismos estranhos baseando-se na presença ou ausência das proteínas regulatórias.

- A **via da lectina** é disparada por uma proteína plasmática chamada de lectina ligante de manose (MBL), que reconhece resíduos de manose terminal nas glicoproteínas e nos glicolipídios microbianos, similarmente ao receptor de manose nas membranas dos fagócitos descrito anteriormente (Fig. 4-11). A MBL é um membro da família de colectina (discutido anteriormente) com uma estrutura hexamérica similar ao componente C1q do sistema complemento. Após a MBL se ligar aos microrganismos, dois zimogênios chamados de MASP1 (serinoprotease 1 associada à manose ou serinoprotease associada à lectina ligante de manan) e MASP2, com funções similares ao C1r e C1s, se associam à MBL e iniciam passos proteolíticos na cascata e idênticos à via clássica.

**O reconhecimento dos microrganismos por qualquer uma das três vias do complemento resulta em recrutamento sequencial e montagem de proteínas adicionais do complemento em complexos de proteases** (Fig. 4-10). Um desses complexos, chamado de **C3 convertase**, cliva uma proteína central do sistema complemento, **C3**, produzindo C3a e C3b. O maior fragmento C3b se torna covalentemente ligado à superfície microbiana onde a via do complemento foi ativada. Observe como uma opsonina para promover a fagocitose dos microrganismos. O fragmento menor, C3a, é liberado e estimula a inflamação agindo como quimioatraente para neutrófilos. O C3b se liga a outras proteínas do complemento para formar uma protease chamada de **C5 convertase**, que cliva C5, gerando um peptídeo liberado (C5a) e um fragmento maior (C5b) que permanece ligado nas membranas da célula microbiana. C5a também é quimioatraente; além disso, ele induz mudanças nos vasos sanguíneos que os fazem extravasar proteínas plasmáticas e fluidos para os locais de infecções. C5b inicia a formação de um complexo de proteínas do complemento C6, C7, C8 e C9, que são montadas em um poro da membrana denominado **complexo de ataque da membrana** (MAC) que causa a lise das células onde o complemento é ativado.

O sistema complemento é um componente essencial da imunidade inata, e pacientes com deficiências em C3 são altamente suscetíveis a infecções bacterianas recorrentes, frequentemente letais. Deficiências genéticas na formação de MAC (o produto terminal da via clássica) aumenta a suscetibilidade a somente um número limitado de microrganismos, notadamente a bactéria *Neisseria*, que tem paredes celulares finas que a tornam especialmente suscetível à ação lítica do MAC. Discutiremos o sistema complemento em mais detalhes no [Capítulo 13](#).

## Pentraxinas

Várias proteínas plasmáticas que reconhecem estruturas microbianas e atuam na imunidade inata pertencem à família pentraxina, que é filogeneticamente o grupo mais velho de proteínas pentaméricas estruturalmente homólogas. Membros proeminentes desta família incluem pentraxinas pequenas, proteína C-reativa (PC-R) e amiloide P



sérico (SAP), e a pentraxina longa PTX3. Ambos CRP e SAP se ligam a várias espécies diferentes de bactérias e fungos. Os ligantes moleculares reconhecidos por PC-R e SAP incluem a fosforilcolina e a fosfatidiletanolamina, respectivamente, que são encontradas nas membranas bacterianas e ficam expostas nas células apoptóticas. PC-R, SAP e PTX3 ativam o complemento por meio de ligação ao C1q e iniciam a via clássica.

As concentrações plasmáticas de PC-R são muito baixas em indivíduos saudáveis, mas podem aumentar até 1.000 vezes durante as infecções e em resposta a outros estímulos inflamatórios. Os níveis aumentados de PC-R são resultado da síntese aumentada, pelo fígado, induzida pelas citocinas IL-6 e IL-1, que são produzidas pelos fagócitos como parte da resposta imune inata. A síntese hepática e os níveis plasmáticos de várias outras proteínas, incluindo SPA e outras não relacionadas com as pentraxinas, também aumentam em resposta a IL-1 e IL-6. Essas proteínas plasmáticas são chamadas de **reagentes de fase aguda**, porque estão elevadas no sangue durante as reações inflamatórias agudas.

O PTX3 é produzido por vários tipos celulares, incluindo células dendríticas, macrófagos e células endoteliais, em resposta aos ligantes TLR e citocinas inflamatórias, tais como TMF, mas ele não é um reagente de fase aguda. O PTX3 também é armazenado nos grânulos de neutrófilos e liberado quando os neutrófilos morrem. O PTX3 reconhece várias moléculas em fungos e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e vírus, assim como células apoptóticas. Estudos com camundongos *knockout* revelaram que o PTX3 fornece proteção contra esses microrganismos, incluindo o fungo *Aspergillus fumigatus*. O PTX3 também contribui para proteção contra o vírus influenza.

## Colectinas e Ficolinas

As **colectinas** são uma família de proteínas triméricas e hexaméricas, cada subunidade contendo uma cauda do tipo colágeno conectada por uma região de pescoço a uma cabeça de lectina (tipo C) dependente de cálcio. Três membros desta família servem como moléculas efetoras solúveis no sistema imune inato; estas são lectinas ligantes de manose (MBL) e proteínas SP-A e SP-D surfactantes pulmonares.

A **lectina ligante de manose** (MBL), que é um receptor de reconhecimento de padrão que se liga a carboidratos com manose e fucose terminais, foi discutida anteriormente em relação à via da lectina da ativação do complemento (Fig. 4-11). A MBL também pode funcionar como uma opsonina com a ligação e o aumento da fagocitose de microrganismos. Relembre que as opsoninas se ligam simultaneamente aos microrganismos e aos receptores da superfície nas membranas dos fagócitos e, no caso da MBL, o receptor de superfície é chamado de receptor C1q porque ele também liga a C1q. Esse receptor medeia a internalização dos microrganismos que são opsonizados pela MBL. O gene que codifica a MBL é



polimórfico, e certos alelos estão associados a prejuízo na formação do hexâmetro e redução nos níveis sanguíneos. Baixos níveis de MBL estão relacionados com suscetibilidade aumentada a uma variedade de infecções, especialmente em combinação com outros estados imunodeficientes.

A proteína **surfactante A (SP-A)** e a proteína surfactante D (SP-D) são colectinas com propriedades lipofílicas compartilhadas por outros surfactantes. Elas são encontradas nos alvéolos pulmonares e suas principais funções são manter a habilidade dos pulmões em se expandir e como mediadores das respostas imunes inatas dos pulmões. Elas se ligam a vários microrganismos e agem como opsoninas, facilitando a ingestão pelos macrófagos alveolares. SP-A e SP-D também pode inibir diretamente o crescimento bacteriano e podem ativar macrófagos. Camundongos deficientes em SP-A e SP-D tem habilidades prejudicadas em resistir a uma variedade de infecções pulmonares.

As **ficolinas** são proteínas plasmáticas que são estruturalmente similares às colectinas. Elas possuem um domínio do tipo colágeno, mas em vez do domínio lectina do tipo C, elas têm um domínio de reconhecimento de carboidrato do tipo fibrinogênio (Fig. 4-11). As ficolinas se ligam a várias espécies de bactérias, opsonizando-as e ativando o complemento de maneira similar à MBL. Os ligantes moleculares das ficolinas incluem a *N*-acetilglucosamina e o ácido lipoteicoico, componente das paredes celulares de bactérias Gram-positivas.

Agora que discutimos as propriedades gerais de vários componentes do sistema imune inato, incluindo células, receptores de reconhecimento de padrão de patógeno celular e reconhecimento solúvel e moléculas efetoras, podemos considerar como esses vários componentes trabalham para a proteção contra os patógenos. As três principais maneiras pelas quais o sistema imune inato protege contra infecções são indução de inflamação, indução de defesa antiviral e estimulação da imunidade adaptativa.

## Resposta inflamatória

***A principal maneira pela qual o sistema imune lida com as infecções e lesões teciduais é estimulando a inflamação aguda, que é o acúmulo de leucócitos, proteínas plasmáticas e fluido derivado do sangue em tecido extravascular, local de infecção ou lesão.*** Os leucócitos e as proteínas plasmáticas normalmente circulam no sangue e são recrutados para os locais de infecção e lesão, onde eles realizam várias funções efetoras que servem para matar os microrganismos e iniciar o reparo do tecido danificado. Tipicamente, o leucócito mais abundante que é recrutado do sangue para os locais de inflamação aguda é o neutrófilo, mas os monócitos sanguíneos, que se tornam macrófagos no tecido, são cada vez mais importantes ao longo do tempo e podem se tornar a população dominante em algumas reações. Entre as proteínas plasmáticas importantes e que entram nos locais inflamatórios,

incluem-se as proteínas do complemento, anticorpos e reagentes de fase aguda. A distribuição destes componentes derivados do sangue para os locais inflamatórios é dependente de alterações reversíveis nos vasos sanguíneos dos tecidos infectados ou danificados. Essas alterações abrangem mudanças no fluxo sanguíneo para o tecido atribuídas à dilatação arteriolar, adesividade aumentada dos leucócitos circulantes para o revestimento endotelial das vênulas e permeabilidade aumentada dos capilares e vênulas às proteínas plasmáticas e fluidos. Todas essas alterações são induzidas por citocinas e pequenas moléculas mediadoras inicialmente derivadas das células residentes nestes tecidos, tais como os mastócitos, macrófagos e células endoteliais, em resposta à estimulação por PAMP e DAMP. À medida que o processo inflamatório se desenvolve, os mediadores podem ser derivados de leucócitos ativados que chegaram recentemente e de proteínas do complemento.

A inflamação aguda pode se desenvolver em minutos a horas e durar por dias. A inflamação crônica é um processo que demora mais do que a inflamação aguda se a infecção não for eliminada ou se a lesão tecidual for prolongada. Normalmente, ela envolve o recrutamento e ativação de monócitos e linfócitos. Os locais de inflamação crônica frequentemente também passam por remodelamento tecidual, com angiogênese e fibrose. Embora o estímulo imune inato possa contribuir para a inflamação crônica, o sistema imune adaptativo também pode estar envolvido porque as citocinas produzidas pelas células T são potentes indutores da inflamação (Cap. 10). Descrições detalhadas dos vários mediadores e manifestações patológicas da inflamação aguda e crônica podem ser encontradas nos livros texto de patologia. Focaremos nossa discussão nos aspectos particulares do processo inflamatório agudo que têm grande relevância para ambas as imunidades inata e adaptativa e nas doenças inflamatórias imunomediadas.

## Principais Citocinas Pró-Inflamatórias TNF, IL-1 e IL-6

Uma das primeiras respostas do sistema imune inato a uma infecção e dano tecidual é a secreção de citocinas pelas células teciduais, que é uma resposta crítica para a resposta inflamatória aguda. As citocinas da imunidade inata têm algumas importantes propriedades e funções gerais (Tabela 4-4):

## Tabela 4-4

### Citocinas da Imunidade Inata

Citocina	Tamanho	Principal Fonte Celular	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Fator de necrose tumoral (TNF)	17 kD; 61 kD; homotrímero	Macrófagos, células T	Celulas endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Neutrófilos: ativação Hipotálamo: febre Músculo, gordura: catabolismo (caquexia) Muitos tipos celulares: apoptose
Interleucina-1 (IL-1)	Forma madura 17 kD; precursores 33 kD	Macrófagos, células endoteliais, algumas células epiteliais	Celulas endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células T: diferenciação de $T_H17$
Quimioquinas (Tabela 3-2)	8-12 kD	Macrófagos, células endoteliais, células T, fibroblastos, plaquetas	Leucócitos: quimiotaxia, ativação; migração para os tecidos
Interleucina-12 (IL-12)	Heterodímero de subunidades de 35 kD e 40 kD	Macrófagos, células dendríticas	Células T: diferenciação de $T_H1$ Células NK e células T: síntese de $IFN-\gamma$ , atividade citotóxica aumentada
Interferons tipo I ( $IFN-\alpha$ e $IFN-\beta$ )	$IFN-\alpha$ : 15-21 kD $IFN-\beta$ : 20-25 kD	$IFN-\alpha$ : macrófagos, células dendríticas plasmacitoides $IFN-\beta$ : fibroblastos	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC de classe I Células NK: ativação
Interleucina-10 (IL-10)	Homodímero de 34-40 kD e subunidades de 18 kD	Macrófagos, células T (principalmente células T reguladoras)	Macrófagos, células dendríticas: inibição da produção de IL-12 e expressão de coestimuladores e moléculas de MHC de classe II
Interleucina-6 (IL-6)	19-26 kD	Macrófagos, células endoteliais, células T	Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células B: proliferação de células produtoras de anticorpos Células T: diferenciação de $T_H17$
Interleucina-15 (IL-15)	13 kD	Macrófagos, outras	Células NK: proliferação Células T: proliferação (células $CD8^+$ de memória)
Interleucina-18 (IL-18)	17 kD	Macrófagos	Células NK e células T: síntese de $IFN-\gamma$
Interleucina-23 (IL-23)	Heterodímero de uma única subunidade de 19 kD e subunidade de 40 kD da IL-12	Macrófagos e células dendríticas	Células NK: manutenção de células T produtoras de IL-17
Interleucina-27 (IL-27)	Heterodímero de 28 kD e subunidades de 13 kD	Macrófagos e células dendríticas	Células NK: diferenciação; inibição das células $T_H17$ Células NK: síntese de $IFN-\gamma$

- Elas são produzidas principalmente por macrófagos teciduais e células dendríticas, embora outros tipos celulares, incluindo células endoteliais e algumas células epiteliais, também possam produzi-las.
- A maioria destas citocinas age em células próximas às suas células de origem (ação parácrina). Em algumas infecções graves, uma quantidade suficiente de citocinas pode ser produzida de tal forma que elas entram na circulação e agem em locais distantes (ação endócrina).
- Diferentes citocinas têm ações similares e sobrepostas ou são funcionalmente únicas. Uma citocina pode estimular a produção de outras, estabelecendo, assim, cascatas que amplificam a reação ou induzem novas reações.
- As citocinas da imunidade inata desempenham vários papéis, seja induzindo inflamação, inibindo replicação viral ou promovendo respostas de célula T e limitando as respostas imunes inatas. Essas funções serão descritas a seguir e em capítulos posteriores.

Três das citocinas pró-inflamatórias mais importantes do sistema imune inato são TNF, IL-1 (que mencionamos várias vezes) e IL-6. Discutiremos as principais características destas citocinas, focando principalmente no TNF e na IL-1, descrevendo antes seus papéis na inflamação aguda.

## **Fator de Necrose Tumoral**

***O fator de necrose tumoral (TNF) é um mediador da resposta inflamatória aguda a bactérias e outros microrganismos infecciosos.*** O nome desta citocina deriva de sua identificação original como uma substância sérica (fator) que causava necrose tumoral, agora conhecido como o resultado da inflamação e trombose de vasos sanguíneos tumorais. O TNF também é chamado de TNF- $\alpha$  para distingui-lo do TNF- $\beta$  intimamente relacionado, e também denominado linfotoxina. O TNF é produzido por macrófagos, células dendríticas e outros tipos celulares. Em macrófagos, ele é sintetizado como uma proteína de membrana não glicosilada de tipo II e é expresso como um homotrímero, que é capaz de se ligar a uma forma do receptor do TNF. A forma membranar do TNF é clivada por uma metaloproteinase associada à membrana, liberando um fragmento polipeptídico, e três destas cadeias polipeptídicas polimerizam para formar uma forma piramidal triangular que circula a proteína do TNF (Fig. 4-12). Os locais de ligação do receptor estão na base da pirâmide, permitindo a ligação simultânea da citocina às três moléculas de receptor.



**FIGURA 4-12** Estrutura do receptor de TNF com linfotoxina ligada.

A estrutura de fita descreve uma visão superior do complexo de três receptores de TNF (TNF-R1) e uma molécula de citocina ligada, revelada por cristalografia de raios X. A linfotoxina é um homotrímero na qual as três subunidades estão coloridas em azul-escuro. O homotrímero da linfotoxina forma uma pirâmide de três lados, invertida, com sua base no topo e seu ápice em baixo. Três moléculas de TNF-R1, coloridas em magenta, ciano e vermelho, se ligam a um homotrímero de linfotoxina, com cada molécula do receptor interagindo contendo dois monômeros diferentes de linfotoxina no complexo do homotrímero. Pontes dissulfeto no receptor estão em cor amarela. O TNF é homólogo à linfotoxina e, presumivelmente, se liga aos seus receptores da mesma maneira. (De Banner DW, D'Arcy A, Janes W, Gentz R, Schoenfeld HJ, Broger C, Loetscher H, Lesslauer W: Cell: crystal structure of the soluble human 55 kd TNF receptor–human TNF $\beta$  complex: implications for TNF receptor activation, Cell 73:431–445, 1993.)

Existem dois receptores distintos de receptor de TNF chamados de tipo I (TNF-R1) e

tipo II (TNF-RII). As afinidades do TNF por seus receptores são normalmente baixas para a citocina, o  $K_d$  sendo somente  $\sim 1 \times 10^{-9}$  M para a ligação ao TNF-RI e aproximadamente  $5 \times 10^{-10}$  M para a ligação ao TNF-RII. Ambos os receptores de TNF são membros de uma grande família de proteínas chamada de superfamília de receptor de TNF, muitos dos quais estão envolvidos nas respostas imune e inflamatória. A ligação do ligante a alguns membros da família do receptor de TNF, tais como TNF-RI, TNF-RII e CD40, leva ao recrutamento de proteínas chamadas de fatores associados ao receptor de TNF (TRAFs) para os domínios citoplasmáticos dos receptores. Os TRAFs ativam fatores de transcrição, notadamente NF- $\kappa$ B e AP-1. A ligação da citocina a alguns membros da família, tais como TNF-RI, leva ao recrutamento de uma proteína adaptadora que ativa caspases e dispara a apoptose. Assim, membros diferentes da família de receptores de TNF podem induzir a expressão de genes ou a morte celular e alguns podem fazer ambas.

A produção de TNF pelos macrófagos é estimulada pelos PAMPs e DAMPs. TLRs, NLRs e RLRs podem induzir a expressão do gene do TNF, em parte pela ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B. Muitos produtos microbianos diferentes podem, dessa maneira, induzir a produção de TNF. Grandes quantidades desta citocina podem ser produzidas durante as infecções com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, que expressam os ligantes de TLR, LPs e ácido lipoteicoico, respectivamente, e podem liberar essas moléculas a partir de suas paredes celulares. O choque séptico, uma condição com risco de vida causada quando bactérias entram na corrente sanguínea, é mediado em grande parte pelo TNF. Abordaremos o choque séptico mais adiante neste capítulo.

## Interleucina-1

***A interleucina-1 (IL-1) também é um mediador da resposta inflamatória aguda e tem ações similares ao TNF.*** A principal fonte celular de IL-1, assim como de TNF, são os fagócitos monoculares ativados. Diferentemente do TNF, a IL-1 também é produzida por muitos tipos celulares diferentes dos macrófagos, tais como neutrófilos, células epiteliais (p. ex., queratinócitos) e células endoteliais. Existem duas formas de IL-1, chamadas de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , que têm menos de 30% de homologia, mas se ligam aos mesmos receptores celulares e desempenham as mesmas atividades biológicas. A principal forma biologicamente ativa e secretada é a IL-1 $\beta$ .

A produção da IL-1 normalmente necessita de dois sinais distintos, um que ativa uma nova transcrição gênica e produção de um precursor polipeptídico de 33 kD, o pró-IL-1 $\beta$ , e um segundo que ativa o inflamassoma para clivar proteoliticamente o precursor para gerar a proteína madura de 17 kD da IL-1 $\beta$  (Fig. 4-4). Como discutido anteriormente neste capítulo, a transcrição do gene da IL-1 $\beta$  é induzida por vias de sinalização do TLR e NLR que ativam NF- $\kappa$ B, ao passo que a clivagem da pró-IL-1 $\beta$  é mediada pelo inflamassoma NLRP3. A IL-1 é secretada por uma via não clássica



porque, diferentemente da maioria das proteínas secretadas, nem IL-1 $\alpha$  nem IL-1 $\beta$  têm sequência de sinais hidrofóbicos para atingirem o polipeptídeo nascente na membrana do retículo endoplasmático. Uma possibilidade é que a IL-1 madura seja liberada principalmente quando as células infectadas ou macrófagos infectados morrem. Algumas bactérias patogênicas induzem o processamento mediado pelo inflamassoma de IL-1 $\beta$  e IL-18 nos macrófagos e a morte celular dependente de caspase ou caspase-11 (piroptose), discutidos anteriormente. O TNF também pode estimular os fagócitos e outros tipos celulares a produzir IL-1. Isso é um exemplo da cascata de citocinas que têm atividades biológicas similares.

A IL-1 medeia seus efeitos biológicos através de um receptor de membrana chamado de receptor de membrana da IL-1, que é expresso em muitos tipos celulares, incluindo células endoteliais, células epiteliais e leucócitos. Esse receptor é uma proteína integral de membrana que contém um domínio de ligação Ig extracelular e um domínio de sinalização do receptor Toll/IL-1 (TIR) na região citoplasmática, que descrevemos anteriormente em referência aos TLRs. Os eventos de sinalização que ocorrem quando a IL-1 se liga ao receptor de tipo I da IL-1 são similares àqueles disparados pelos TLRs e resultam na ativação dos fatores de transcrição NF- $\kappa$ B e AP-1 (Cap. 7). O tipo II do receptor de IL-1 parece ser incapaz de ativar cascatas de sinalização.

## Interleucina-6

A IL-6 é outra importante citocina nas respostas inflamatórias agudas que têm ambos os efeitos locais e sistêmicos. Ela induz a síntese de uma variedade de outros mediadores inflamatórios no fígado, estimula a produção de neutrófilos na medula óssea e promove a diferenciação de células T produtoras de IL-17. A IL-6 é sintetizada por fagócitos mononucleares, células endoteliais vasculares, fibroblastos e outras células em resposta aos PAMPs e em resposta a IL-1 e TNF. A IL-6 é um homodímero que pertence à família tipo I de citocinas (Cap. 7). O receptor para a IL-6 consiste em uma cadeia polipeptídica ligante de citocina e uma subunidade de transdução de sinal (chamada de gp130) que também é o componente da sinalização de receptores para outras citocinas. O receptor de IL-6 dispara uma via de sinalização que ativa o fator de transcrição STAT3 (Cap. 7).

## Outras Citocinas Produzidas durante as Respostas Imunes Inatas

Em adição ao TNF, IL-1 e IL-6, células dendríticas e macrófagos ativados por PAMPs e DAMPs produzem outras citocinas que desempenham papel importante nas respostas imunes inatas (Tabela 4-4). Abordaremos as principais características de algumas destas citocinas e seus papéis na imunidade inata nesta seção; interferons e citocinas inibitórias serão discutidos posteriormente neste capítulo.

***A IL-12 secretada pelas células dendríticas e macrófagos, que estimula a produção de INF- $\gamma$  pelas células NK e células T, aumenta a citotoxicidade***

**mediada pela célula NK e CTL e promove a diferenciação das células TH1. A**

IL-12 existe como um heterodímero ligado a dissulfeto com subunidades de 35 kD (p35) e 40 kD (p40). A subunidade p35 é um membro da família tipo I de citocina, e a subunidade p40 também é um componente da citocina IL-23, que está envolvida na diferenciação das células TH17. Portanto, anticorpos específicos para p40 bloqueiam ambas IL-12 e IL-23 e, assim, inibem o desenvolvimento dependente de IL-12 das células TH1 e o desenvolvimento dependente de IL-23 das células TH17. Esses anticorpos são aprovados para o tratamento de doenças inflamatórias, tais como doença do intestino irritável e psoríase, que são causadas por citocinas TH1 e/ou TH17.

As principais fontes de IL-12 são células dendríticas e macrófagos ativados. Muitas células parecem sintetizar a subunidade p35, mas os macrófagos e as células dendríticas são os principais tipos celulares que produzem o componente p40 e, portanto, a citocina biologicamente ativa. Durante as reações imunes inatas aos microrganismos, a IL-12 é produzida em resposta ao TLR e outros receptores de reconhecimento de padrão induzidos por muitos estímulos microbianos, incluindo LPS bacteriano ou ácido lipoteicoico e infecções virais. O IFN- $\gamma$  produzido pelas células NK ou células T também estimula a produção de IL-12, contribuindo para uma alça de retroalimentação positiva.

O receptor para a IL-12 (IL-12R) é um heterodímero composto por subunidades  $\beta_1$  e  $\beta_2$ , ambas as quais são membros da família do receptor de tipo I de citocina. Ambas as cadeias são necessárias para a ligação e alta afinidade da IL-12 e para a sinalização, o que ativa a transcrição para o STAT4. A expressão da cadeia  $\beta_2$  do receptor da IL-12 é ela mesma aumentada pelo IFN- $\gamma$ , cuja produção é estimulada pela IL-12. Este é outro exemplo de uma alça de amplificação positiva das respostas imunes. Estudos com camundongos *knockout* para genes e o fenótipo raro de pacientes com mutações no receptor de IL-12 dão suporte à conclusão de que a IL-12 é importante para a produção de IFN- $\gamma$  pelas células NK e células T e para a resistência do hospedeiro a bactérias intracelulares e alguns vírus. Por exemplo, pacientes com mutações na subunidade  $\beta_1$  do receptor de IL-12 foram descritos, e eles são altamente suscetíveis a infecções com bactérias intracelulares, notadamente *Salmonella* e micobactérias atípicas. A IL-12 secretada pelas células dendríticas durante a apresentação do antígeno às células CD4<sup>+</sup> imaturas promove sua diferenciação no subgrupo TH1 das células T auxiliares, o que é importante para a defesa contra as infecções intracelulares (Cap. 10). Esta é a forma-chave pela qual a imunidade inata molda as respostas imunes adaptativas.

A IL-18 aumenta as funções das células NK, similar à IL-12. Relembre que a produção da IL-18, assim como a da IL-1, é dependente do inflamassoma. Também como a IL-1, a IL-18 se liga a um receptor que sinaliza através de um domínio TIR.

A **IL-15** desempenha importantes funções de estimulação do crescimento e sobrevivência para ambas as células NK e células T. A IL-15 é estruturalmente homóloga ao fator de crescimento de célula T IL-2, e o receptor heterotrimérico da IL-15 compartilha duas subunidades com o receptor da IL-2. Uma característica interessante da IL-15 é que ela pode ser expressa na superfície celular ligada à cadeia  $\alpha$  do seu receptor e nesta forma pode ser apresentada e estimula as células vizinhas que expressam um receptor composto de outras duas cadeias ( $\beta$  e  $\gamma$ ). A IL-15 apresentada desta maneira pelas células dendríticas às células NK nos linfonodos ativa vias de sinalização que promovem a produção de IFN- $\gamma$  pela célula NK. A IL-15 também serve como fator de sobrevivência para as células NK e células T CD8<sup>+</sup> de memória.

A IL-25 e a IL-33 são citocinas estruturalmente não relacionadas que estimulam um grupo 2 de ILCs, células TH2 e mastócitos a produzir IL-4, IL-5 e IL-13. Estas últimas citocinas são importantes para a defesa contra helmintos, mas também contribuem para doença alérgica.

## Recrutamento de Leucócitos para os Locais de Infecção

O recrutamento de grande número de neutrófilos, seguido pelos monócitos, do sangue para os tecidos tipicamente ocorre como parte da resposta inflamatória aguda às infecções e lesão tecidual. As citocinas TNF, IL-1 e IL-6 e quimiocinas, todas secretadas nos locais de infecção ou lesão tecidual, têm múltiplos efeitos nas células endoteliais vasculares, leucócitos e medula óssea, que juntos aumentam a chegada local das células que podem lutar contra as infecções e reparar os tecidos (Fig. 3-3). O recrutamento dos leucócitos foi descrito no [Capítulo 3](#) e será brevemente considerado aqui.

***Ambos TNF e IL-1 induzem células endoteliais venulares pós-capilares a expressar E-selectina e aumentar sua expressão de ICAM-1 e VCAM-1, os ligantes para as integrinas dos leucócitos.*** Essas alterações na expressão de moléculas de adesão endotelial são o resultado da ativação de fatores de transcrição por TNF e IL-1, incluindo NF- $\kappa$ B, levando à transcrição de genes de novas moléculas de adesão. A expressão da P-selectina também é induzida nas células endoteliais venulares nos locais de infecção e lesão tecidual, mas se deve em grande parte aos efeitos da histamina e trombina, que estimulam a rápida mobilização da P-selectina armazenada nos grânulos das células endoteliais para as superfícies celulares.

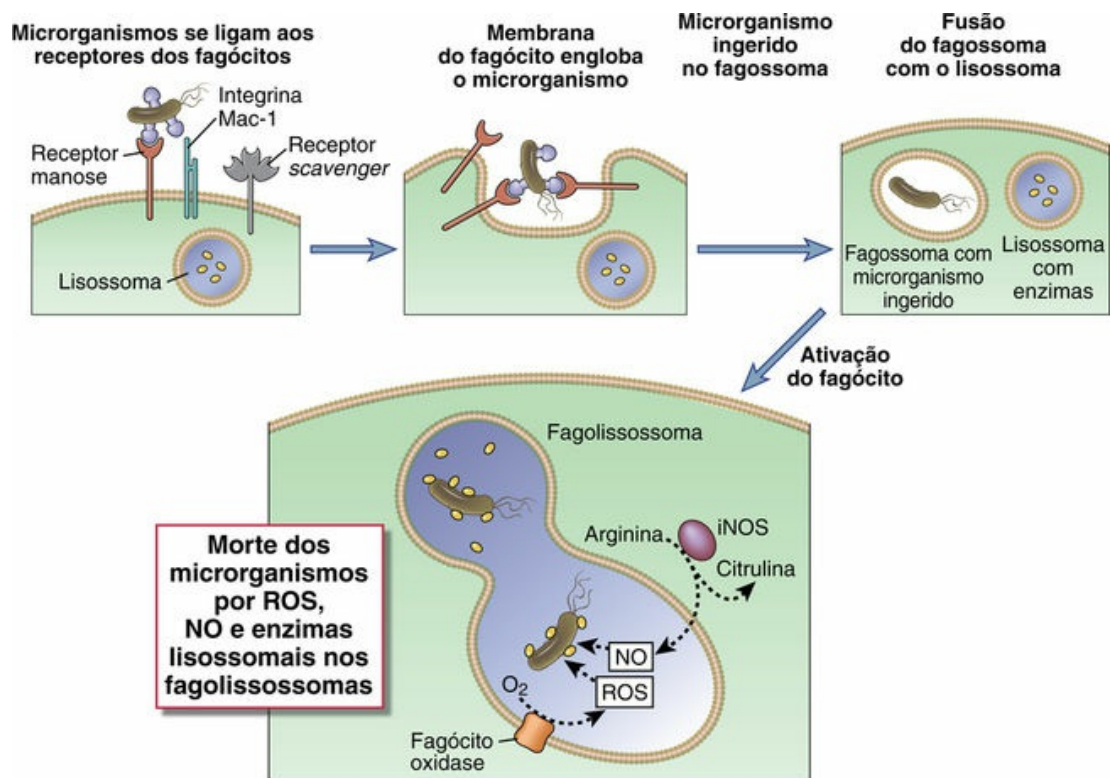
***TNF e IL-1 também estimulam várias células a secretar quimiocinas, tais como CXCL1 e CCL2, que se ligam aos receptores nos neutrófilos e monócitos, respectivamente, aumentam a afinidade das integrinas de leucócitos por seus ligantes e estimulam o movimento direcional dos leucócitos.*** O resultado da expressão aumentada de selectina, integrina e quimiocina é maior adesão do neutrófilo e monócito às células endoteliais e

transmigração através da parede do vaso. O acúmulo de leucócitos nos tecidos forma um infiltrado inflamatório. As ações do TNF no endotélio e nos leucócitos são críticas para as respostas inflamatórias locais aos microrganismos. Se quantidades inadequadas de TNF estiverem presentes (p. ex., em pacientes tratados com fármacos que bloqueiam TNF ou em camundongos *knockout* para gene do TNF), uma consequência pode ser a falha em contenção das infecções.

Além disso, TNF, IL-1 e IL-6 produzidos nos locais inflamatórios podem entrar no sangue e ser distribuídos para medula óssea, onde aumentam a produção de neutrófilos a partir dos progenitores da medula óssea, normalmente agindo em conjunto com fatores estimuladores de colônia. Dessa maneira, essas citocinas aumentam o suprimento de células que podem ser recrutadas para os locais de infecção.

## Ingestão e Morte de Microrganismos por Fagócitos Ativados

***Neutrófilos e macrófagos que são recrutados para os locais de infecção ingerem microrganismos nas vesículas por um processo de fagocitose, destruindo-os (Fig. 4-13).*** A fagocitose é um processo ativo, dependente de energia de englobamento de grandes partículas (> 0,5 µm em diâmetro) pelas vesículas. As vesículas fagocíticas se fundem com lisossomas, onde as partículas ingeridas são destruídas. Desse modo, os mecanismos de morte, que poderiam potencialmente danificar o fagócito, são isolados do resto da célula.



**FIGURA 4-13** Fagocitose e destruição intracelular dos microrganismos.

Os microrganismos podem ser ingeridos por diferentes receptores de membrana dos fagócitos; alguns se ligam diretamente aos microrganismos e outros se ligam aos microrganismos opsonizados. (Observe que a integrina Mac-1 se liga aos microrganismos opsonizados com proteínas do complemento, não mostrado.) Os microrganismos são internalizados nos fagossomas, que se fundem com os lisossomas para formar os fagolissossomas, onde os microrganismos são mortos pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e enzimas proteolíticas. *iNOS*, óxido nítrico sintase induzida; *NO*, óxido nítrico; *ROS*, espécies reativas de oxigênio.

**Neutrófilos e macrófagos expressam receptores que reconhecem especificamente microrganismos, e a ligação dos microrganismos a esses receptores é o primeiro passo na fagocitose.** Alguns desses receptores são receptores de reconhecimento de padrão, incluindo lectinas de tipo C e receptores *scavenger*, que discutimos anteriormente. Os receptores de reconhecimento de padrão podem contribuir para a fagocitose somente de organismos que expressam padrões moleculares particulares, tais como manose para o receptor de manose. Os fagócitos também têm receptores de alta afinidade para certas opsoninas, incluindo moléculas de anticorpo, proteínas do complemento e lectinas plasmáticas; esses

receptores são críticos para a fagocitose de muitos microrganismos diferentes que são recobertos com as opsoninas. Um dos sistemas mais eficientes para a opsonização dos microrganismos é recobri-los com anticorpos. Os fagócitos expressam receptores Fc de alta afinidade chamados de FcγRI específicos para um tipo de anticorpo denominado IgG (Cap. 13). Assim, se um indivíduo responder a uma infecção produzindo anticorpos Ig contra antígenos microbianos, as moléculas de IgG se ligarão a esses antígenos, os terminais Fc dos anticorpos ligados podem interagir com o FcγRI nos fagócitos e o final resultante é uma fagocitose eficiente dos microrganismos. A fagocitose dependente de anticorpo ilustra a ligação entre as imunidades inata e adaptativa – anticorpos são o produto do sistema imune adaptativo (linfócitos B) que ativa as células efetoras do sistema imune inato (fagócitos) a realizarem suas funções protetoras.

Uma vez que o microrganismo ou uma partícula se liga aos receptores no fagócito, a membrana plasmática na região dos receptores começa a se redistribuir e estender uma projeção em forma de copo em torno dos microrganismos. Quando a porção saliente da membrana se estende além do diâmetro da partícula, o topo do copo se fecha acima e aperta o interior para formar uma vesícula intracelular (Fig. 4-13). Esta vesícula, chamada de fagossoma, contém a proteína estranha ingerida, e ela se quebra longe da membrana plasmática. Os receptores da superfície celular também disparam sinais ativadores que estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos. Os microrganismos fagocitados são destruídos, como descrito a seguir; ao mesmo tempo, peptídeos são gerados pelas proteínas microbianas e apresentados aos linfócitos T para iniciar as respostas imunes adaptativas (Cap. 6).

**Neutrófilos e macrófagos ativados matam os microrganismos fagocitados pela ação de moléculas microbicidas nos fagolisossomas (Fig. 4-13).** Sinais de vários receptores, incluindo receptores de reconhecimento de padrão (tais como TLRs), receptores de opsoninas (tais como receptores Fc e C3) e receptores para citocinas (principalmente IFN-γ), atuam cooperativamente para ativar os fagócitos para matar microrganismos ingeridos. A fusão dos vacúolos fagocíticos (fagossomas) com os lisossomas resulta na formação dos fagolisossomas, onde a maioria dos mecanismos microbicidas está concentrada. Três classes de moléculas microbicidas são conhecidas como sendo as mais importantes:

- **Espécies reativas de oxigênio.** Macrófagos e neutrófilos ativados convertem oxigênio molecular em espécies reativas de oxigênio (ROS), que são agentes oxidantes altamente reativos e que destroem microrganismos (e outras células). O sistema gerador de radical livre primário é o sistema da fagócito oxidase. A fagócito oxidase é uma enzima multissubunidade que está ancorada em fagócitos principalmente na membrana fagolisossomal. A fagócito oxidase é ativada por muitos estímulos, incluindo IFN-γ e sinais dos TLRs. A função desta enzima é a redução do oxigênio molecular em ROS, tais como radicais superóxido, com a forma reduzida do fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADPH) agindo



como cofator. O superóxido é enzimaticamente dismutado em peróxido de hidrogênio, que é usado pela enzima mieloperoxidase para converter normalmente íons haleto não reativos em ácido hipocloroso reativo que é tóxico para bactérias. O processo pelo qual ROS são produzidas é chamado de **explosão respiratória** porque ela ocorre durante o consumo de oxigênio (respiração celular). Embora a geração de ROS tóxicas seja comumente observada como a principal função da fagócito oxidase, outra função da enzima é a produção de condições dentro dos vacúolos fagocíticos que são necessárias para a atividade das enzimas proteolíticas discutidas anteriormente. A oxidase age como uma bomba de elétrons, gerando um gradiente eletroquímico através da membrana do vacúolo, que é compensado pelo movimento de íons para o vacúolo. O resultado é um aumento do pH e da osmolaridade dentro do vacúolo, o que é necessário para a atividade da elastase e da catepsina G. Uma doença chamada de **doença granulomatosa crônica** é causada pela deficiência herdada de um dos componentes da fagócito oxidase; essa deficiência compromete a capacidade dos neutrófilos em matar certas espécies de bactérias Gram-positivas (Cap. 21).

- **Óxido nítrico.** Em adição às ROS, os macrófagos produzem espécies reativas de nitrogênio, principalmente o óxido nítrico (NO), pela ação de uma enzima chamada óxido nítrico sintase induzida (iNOS). A iNOS é uma enzima citosólica que está ausente em macrófagos em repouso, mas pode ser induzida em resposta a produtos microbianos que ativam os TLRs, especialmente em combinação com IFN- $\gamma$ . A iNOS catalisa a conversão de arginina em citrulina, e o gás difusível óxido nítrico é liberado. Dentro dos fagolisossomas, o óxido nítrico pode se combinar com peróxido de hidrogênio ou superóxido, gerados pela fagócito oxidase, para produzir radicais peroxinitrito altamente reativos que matam os microrganismos. A função cooperativa e redundante de ROS e óxido nítrico é demonstrada pelo achado de que camundongos *knockout* para ambas iNOS e fagócito oxidase são mais suscetíveis a infecções bacterianas do que animais *knockout* para fagócito oxidase ou iNOS.

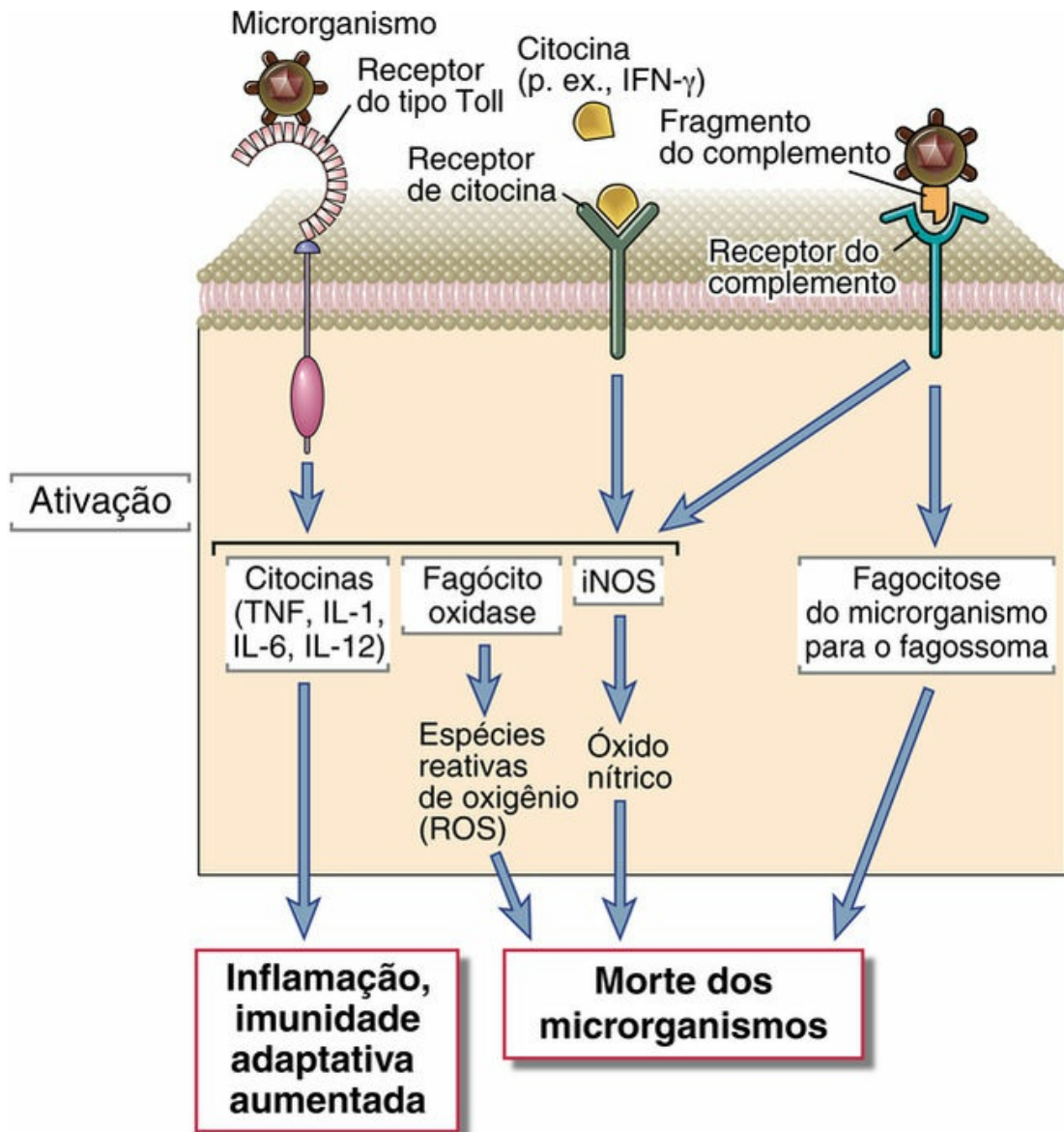
- **Enzimas proteolíticas.** Neutrófilos e macrófagos ativados produzem várias enzimas proteolíticas nos fagolisossomas que atuam para destruir os microrganismos. Uma das importantes enzimas nos neutrófilos é a elastase, uma serinoprotease de amplo espectro conhecida por ser necessária para a morte de muitos tipos de bactérias. Outra importante enzima é a catepsina G. Estudos com camundongos *knockout* confirmaram a necessidade essencial destas enzimas para a morte das bactérias pelos fagócitos.

**Neutrófilos também matam microrganismos pela extrusão de seus DNA e conteúdos granulares, o que forma redes extracelulares nas quais as bactérias e fungos são sequestrados e mortos.** Os conteúdos liberados, que são chamados de **rede extracelular de neutrófilo** (NETs), são compostos de fitas de DNA e histonas nas quais são ligadas altas concentrações de conteúdo granular

antimicrobiano, incluindo lisozima, elastase e defensinas. As NETs são formadas quando os neutrófilos estão ligados à matriz tecidual pela integrina Mac-1 e eles são ativados pelos produtos microbianos. A extrusão do conteúdo nuclear durante a formação da NET leva à morte do neutrófilo.

### **Outras Funções dos Macrófagos Ativados**

Em adição à morte dos microrganismos fagocitados, os macrófagos atendem a muitas outras funções na defesa contra infecções ([Fig. 4-14](#)). Várias destas funções são mediadas pelas citocinas que os macrófagos produzem. Já descrevemos como TNF, IL-1 e as quimiocinas fazem com que os fagócitos aumentem as reações inflamatórias aos microrganismos e atraiam mais leucócitos e proteínas plasmáticas. Alguns macrófagos ativados também produzem fatores de crescimento para fibroblastos e células endoteliais que participam no remodelamento dos tecidos após infecções e lesão. O papel dos macrófagos na imunidade mediada por célula será descrito no [Capítulo 10](#).



**FIGURA 4-14** Funções dos macrófagos.

Os macrófagos são ativados pelos produtos microbianos, tais como LPS e IFN- $\gamma$  derivado da célula NK. O processo da ativação do macrófago leva à ativação de fatores de transcrição e genes de vários fatores de transcrição e à síntese de proteínas que medeiam as funções destas células.

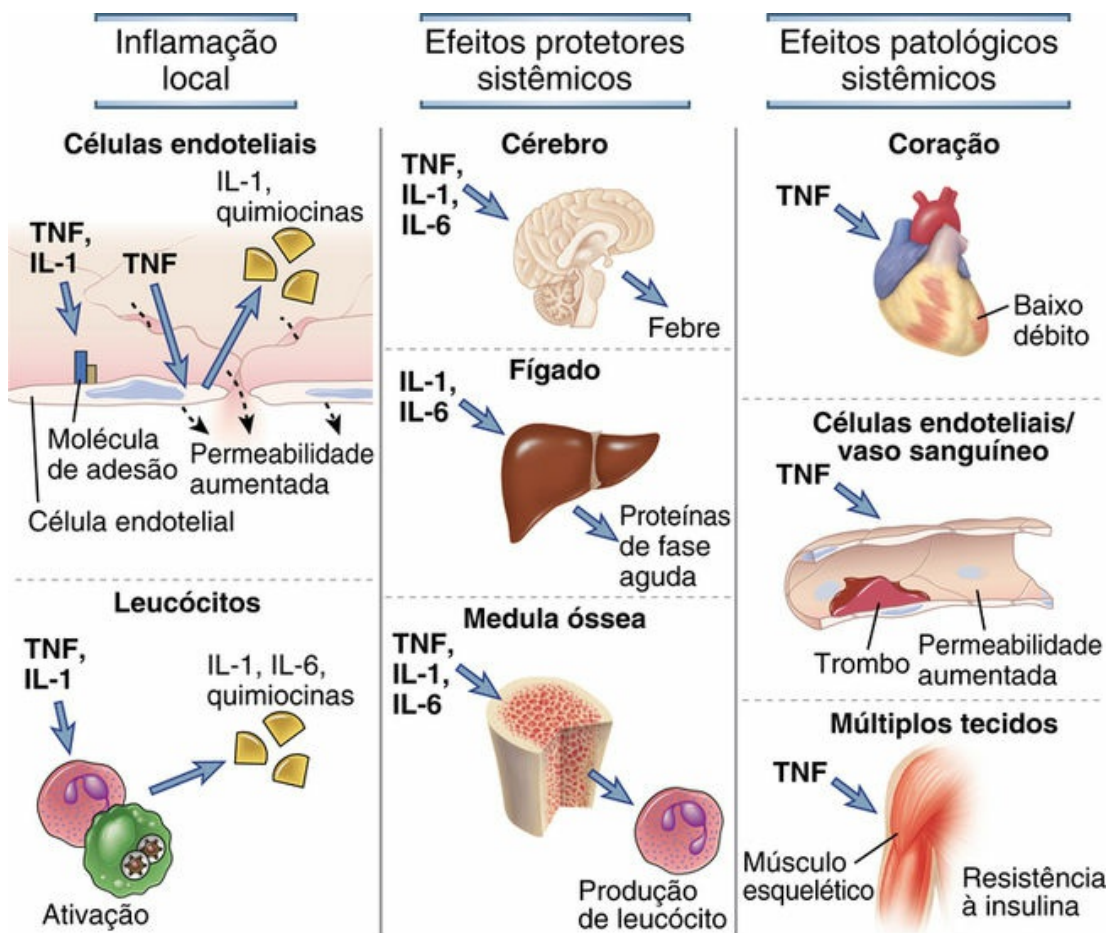
Na imunidade mediada por célula, os macrófagos são ativados pelos estímulos dos linfócitos T (ligante CD40 e IFN- $\gamma$ ) e respondem essencialmente da mesma maneira (Fig. 10-7). Os macrófagos também podem ser ativados por outros sinais para promover reparo tecidual e fibrose (não mostrado).

Os macrófagos podem ser ativados de diferentes maneiras, que favorecem as funções microbicidas e pró-inflamatórias, ou em contrapartida, funções reparadoras e

anti-inflamatórias. Essas diferentes formas de ativação do macrófago, chamadas de clássica e alternativa, respectivamente, serão discutidas em mais detalhes no [Capítulo 10](#).

## **Consequências Sistêmicas e Patológicas da Inflamação**

***TNF, IL-1 e IL-6 produzidos durante a resposta imune inata à infecção ou dano tecidual têm efeitos sistêmicos que contribuem para a defesa do hospedeiro e são responsáveis por muitas das manifestações clínicas da infecção e da doença inflamatória (Fig. 4-15).***



**FIGURA 4-15** Ações locais e sistêmicas das citocinas na inflamação.

TNF, IL-1 e IL-6 têm múltiplos efeitos locais e sistêmicos. TNF e IL-1 agem nos leucócitos e endotélio para induzir inflamação aguda, e ambas as citocinas induzem a expressão de IL-6 pelos leucócitos e outros tipos celulares. TNF, IL-1 e IL-6 medeiam os efeitos protetores sistêmicos da inflamação, incluindo indução de febre, síntese de proteína de fase aguda pelo fígado e produção aumentada de leucócitos pela medula óssea. TNF sistêmico pode causar anormalidades patológicas que levam ao choque séptico, incluindo função cardíaca reduzida, trombose, extravasamento capilar e anormalidades metabólicas atribuídas à resistência à insulina.

- **TNF e IL-1 agem no hipotálamo para induzir um aumento na temperatura corporal (febre).** Essas citocinas são assim chamadas de pirogênicos (i.e., agentes causadores de febre derivados do hospedeiro, para distingui-las do LPS, que foi considerado um pirogênio exógeno [derivado de microrganismo]). Essa distinção é principalmente de significado histórico porque agora sabemos que

mesmo o LPS induz febre pela produção das citocinas TNF e IL-1. TNF e IL-1 induzem febre pelo aumento na síntese de prostaglandinas nas células hipotalâmicas. Os inibidores da síntese de prostaglandinas, como a aspirina, reduzem a febre pelo bloqueio da ação dessas citocinas. O papel da febre na defesa do hospedeiro não é bem compreendido, mas pode estar relacionado com funções metabólicas aumentadas das células imunes, funções metabólicas prejudicadas dos microrganismos e alterações no comportamento do hospedeiro febril que reduzem o risco de piora das infecções e lesão.

- **IL-1 e IL-6 induzem os hepatócitos a produzir reagentes de fase aguda, incluindo CRP, SAP e fibrinogênio, que são secretados no sangue.** Níveis elevados dos reagentes de fase aguda são comumente usados clinicamente como sinais de infecção ou outros processos inflamatórios. As pentraxinas CRP e SAP têm papel protetor nas infecções, como discutimos anteriormente neste capítulo, e o fibrinogênio, precursor da fibrina, contribui para a hemostasia e reparo tecidual.

**Nas infecções graves, o TNF pode ser produzido em grandes quantidades e causar anormalidades sistêmicas clínicas e patológicas.** Se o estímulo para a produção de citocina é suficientemente forte, a quantidade de TNF pode ser tão grande que ele entra na corrente sanguínea e age em locais distantes (Fig. 4-15). As principais ações sistêmicas do TNF são as seguintes:

- O TNF inibe a contratilidade miocárdica e o tônus do músculo liso vascular, resultando em uma marcada redução na pressão sanguínea, ou choque.
- O TNF causa trombose intravascular, principalmente como resultado do prejuízo das propriedades anticoagulantes normais do endotélio. O TNF estimula a expressão, pela célula endotelial, do fator tecidual, um potente ativador da coagulação, e inibe a expressão da trombomodulina, um inibidor da coagulação. As alterações endoteliais são exacerbadas pela ativação dos neutrófilos, levando a tamponamento vascular por essas células. A habilidade desta citocina em causar necrose de tumores, que é a base do seu nome, é principalmente resultado da trombose dos vasos sanguíneos tumorais.
- A produção prolongada de TNF causa fadiga das células musculares e adiposas, o que se chama de caquexia. Isso resulta da supressão do apetite induzida pelo TNF e síntese reduzida da lipoproteína lipase, uma enzima necessária para liberar ácidos graxos das lipoproteínas circulantes, de tal forma que eles possam ser usados pelos tecidos.

Uma complicação da sepse bacteriana grave é uma síndrome denominada **choque séptico**, que pode ser causada pelo LPS liberado de bactérias Gram-negativas ou pelo ácido lipoteicoico liberado de bactérias Gram-positivas. O choque séptico é caracterizado por colapso vascular, coagulação intravascular disseminada e distúrbios metabólicos. Esta síndrome se deve à sinalização do TLR induzida pelo LPS ou ácido lipoteicoico, levando à produção de TNF e outras citocinas, incluindo IL-



12, IFN- $\gamma$  e IL-1. A concentração de TNF sérico pode ser preditiva do resultado das infecções bacterianas graves. O choque séptico pode ser reproduzido em animais experimentais pela administração de LPS, ácido lipoteicoico ou TNF. Antagonistas de TNF podem prevenir a mortalidade nos modelos experimentais, mas os estudos clínicos com anticorpos anti-TNF ou com receptor solúvel de TNF não mostraram benefício em pacientes com sepse. A causa desta falha terapêutica é desconhecida, mas ela pode ser decorrente do fato de que outras citocinas elicitam as mesmas respostas que o TNF.

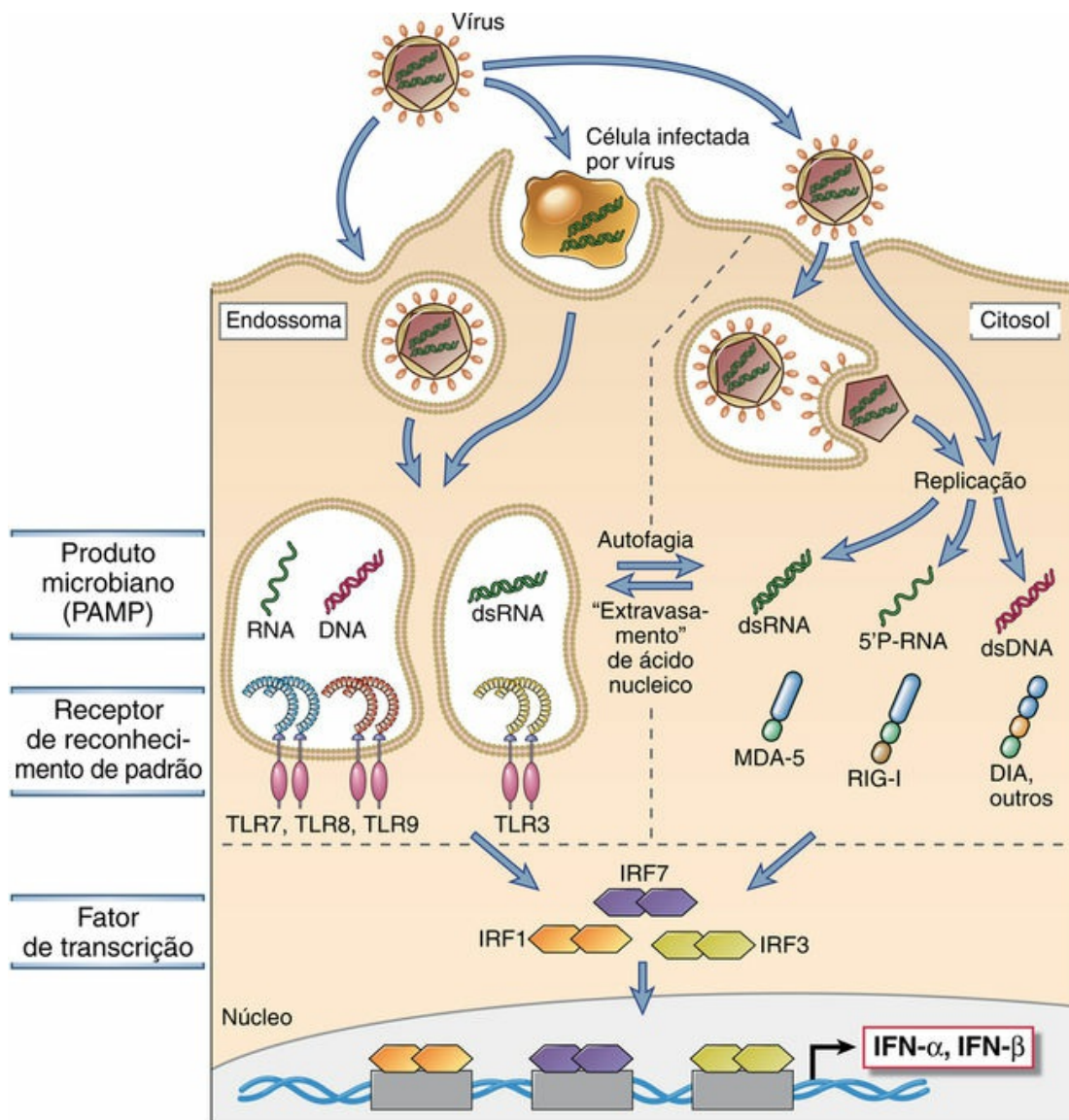
Uma síndrome similar ao choque séptico pode ocorrer como uma complicação de distúrbios não infecciosos, tais como queimaduras graves, traumas, pancreatite e outras condições sérias. Elas têm sido chamadas de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS).

***A inflamação aguda pode causar lesão tecidual porque os mecanismos efetores que os fagócitos utilizam para matar os microrganismos também são tóxicos para os tecidos do hospedeiro.*** As enzimas proteolíticas e as espécies reativas de oxigênio produzidas pelos fagócitos que se acumulam no local de infecção podem danificar as células do hospedeiro e degradar a matriz extracelular se eles forem gerados em grandes quantidades, especialmente se os microrganismos resistirem à morte e continuarem a estimular as respostas imunes inatas. De fato, pelo menos parte da patologia associada às infecções é atribuída às respostas inflamatórias e não aos efeitos tóxicos diretos dos microrganismos. A inflamação aguda também causa dano tecidual no quadro das doenças autoimunes, em que os neutrófilos e macrófagos se acumulam e se tornam ativados secundariamente ao estímulo do sistema imune adaptativo pelos próprios antígenos (Cap. 15). Como em uma inflamação induzida por infecções, TNF, IL-1, IL-6 e IL-12 são os indutores-chave da inflamação nas doenças autoimunes. Antagonistas contra todas essas citocinas ou seus receptores estão em uso clínico ou em estudos para reduzir a inflamação em pacientes com doenças inflamatórias tais como artrite reumatoide, doença do intestino irritável e psoríase.

## Resposta antiviral

***A principal via pela qual o sistema imune inato lida com as infecções virais é a indução da expressão de interferons tipo I, cuja ação mais importante é a inibição da replicação viral.*** Anteriormente neste capítulo, discutimos como vários receptores de padrão de reconhecimento, incluindo alguns TLRs, NLRs, RLRs e STING, geram sinais que estimulam a expressão dos genes de IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$  em diferentes tipos celulares. Os interferons tipo I são secretados destas células e agem em outras células para prevenir a disseminação da replicação viral. Nesta seção, descreveremos as principais propriedades dos interferons tipo I e os efeitos antivirais destas citocinas.

**Os interferons tipo I são uma grande família de citocinas estruturalmente relacionadas que medeiam as respostas imunes inatas iniciais às infecções virais.** O termo *interferon* deriva da habilidade destas citocinas em interferir na infecção viral. Existem muitos interferons tipo I, que são estruturalmente homólogos e são codificados por genes em um único cluster no cromossoma 9. Os interferons tipo I mais importantes na defesa viral são o IFN- $\alpha$ , que atualmente inclui 13 proteínas diferentes, mas intimamente relacionadas, e o IFN- $\beta$ , que é uma única proteína. As células dendríticas plasmacitoides são as principais fontes de IFN- $\alpha$ , mas ele também pode ser produzido pelos fagócitos mononucleares. O IFN- $\beta$  é produzido por muitos tipos celulares. Os estímulos mais potentes para a síntese do interferon tipo I são os ácidos nucleicos virais. Relembre que os receptores do tipo RIG e os sensores de DNA no citosol e TLRs 3, 7, 8 e 9 nas vesículas endossomais reconhecem os ácidos nucleicos virais e iniciam as vias de sinalização que ativam a família IRF de fatores de transcrição, que induzem a expressão do gene do interferon tipo I (Fig. 4-16).

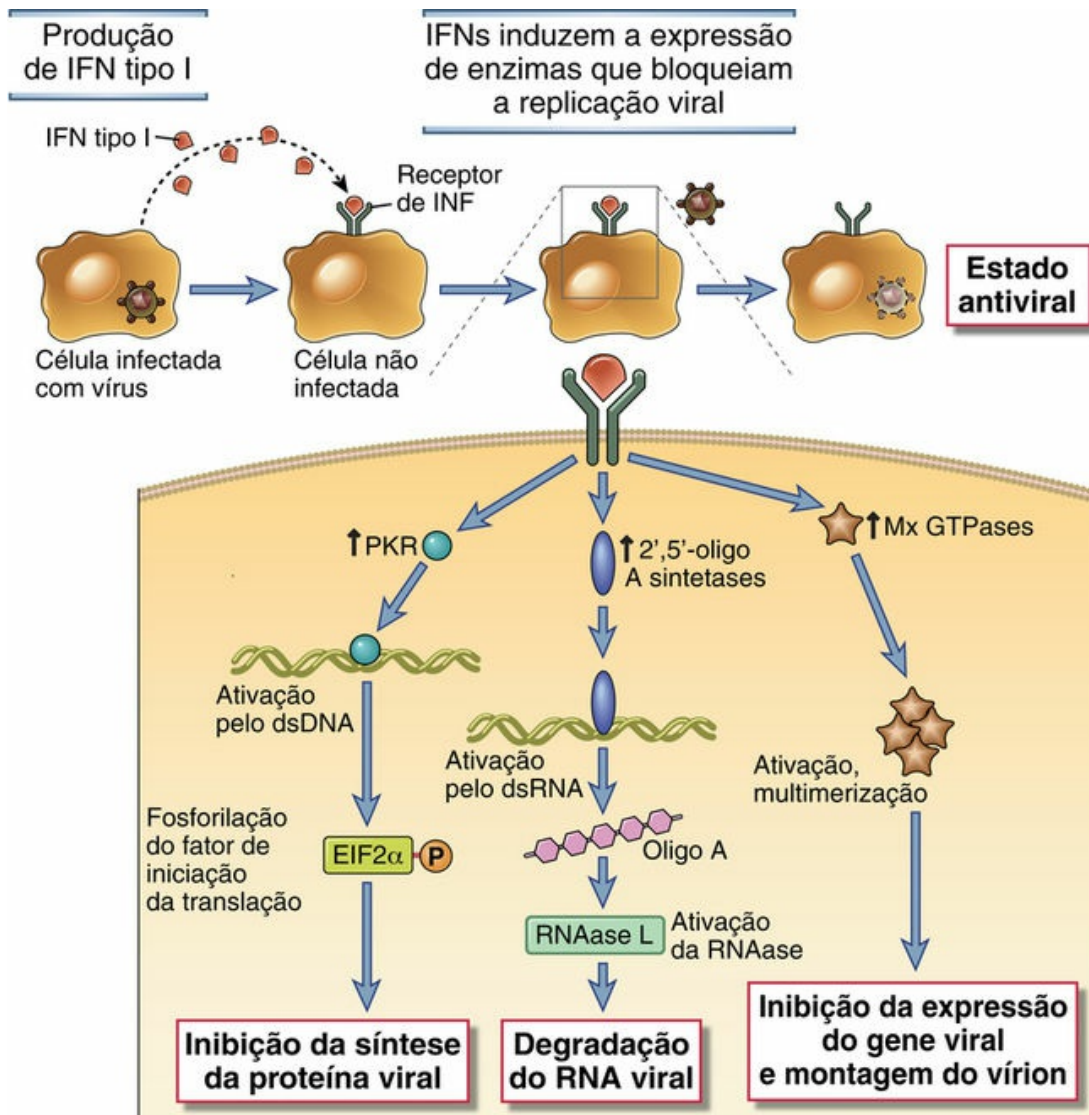


**FIGURA 4-16** Mecanismos de indução dos interferons tipo I pelos vírus.

Ácidos nucleicos virais e proteínas são reconhecidos por várias famílias de receptores celulares (TLRs, a família de receptores citosólicos do tipo RIG, ou RLRs, que inclui MDA-5, RIG-I, DAI e outros, e os sensores citosólicos de DNA), que ativam fatores de transcrição (as proteínas IRF) que estimulam a produção de interferons tipo I IFN-α e IFN-β.

O receptor para os interferons tipo I, que se liga a ambos IFN-α e IFN-β, é um heterodímero de dois polipeptídeos estruturalmente relacionados, IFNAR1 e IFNAR2, que são expressos em todas as células nucleadas. Esse receptor sinaliza para ativar os fatores de transcrição STAT1, STAT2 e IRF9, que induzem a expressão de vários genes diferentes cujos produtos proteicos contribuem para a defesa antiviral de várias maneiras:

- **Os interferons tipo I, sinalizando através do receptor de interferon tipo I, ativam a transcrição de vários genes que conferem a essas células resistência à infecção viral chamada de estado antiviral (Fig. 4-17).** Os genes induzidos pelos interferons tipo I incluem proteinoquinases serina/treonina (PKR) ativadas por RNA de dupla fita, que bloqueia a transcrição viral e eventos translacionais, e 2',5' oligoadenilato sintetases e RNase L, que promovem a degradação do RNA viral. A ação antiviral do interferon tipo I é primariamente uma ação parácrina, de tal forma que uma célula viralmente infectada secreta interferon para agir e proteger as células vizinhas que ainda não estão infectadas. Os efeitos dos interferons tipo I não são específicos para a expressão do gene viral, e parte da habilidade destas citocinas em bloquear a disseminação da infecção se deve à sua toxicidade às células do hospedeiro que estão próximas das células infectadas. O interferon secretado por uma célula infectada também pode agir de maneira autócrina para inibir a replicação viral naquela célula.



**FIGURA 4-17** Ações biológicas dos interferons tipo I.

Os interferons tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ) são produzidos pelas células infectadas com vírus em resposta à sinalização intracelular do TLR e outros sensores de RNA viral. Os interferons tipo I se ligam a receptores nas células não infectadas vizinhas e ativam as vias de sinalização JAK-STAT, que induzem a expressão de genes cujos produtos interferem na replicação viral. Os interferons tipo I também se ligam a receptores nas células infectadas e induzem a expressão de genes cujos produtos aumentam a suscetibilidade das células à morte mediada pelo CTL. PKR, proteinoquinase ativada por RNA de dupla fita.

- **Os interferons tipo I causam sequestro de linfócitos nos linfonodos, maximizando, assim, a oportunidade para encontrar antígenos microbianos.** O mecanismo deste efeito dos interferons tipo I é a indução de uma

molécula nos linfócitos, chamada de CD69, o que forma um complexo e reduz a expressão da superfície do receptor S1PR2 de esfingosina 1-fosfato (S1P).

Relembre no [Capítulo 3](#) que a saída dos linfócitos dos tecidos linfóides depende da ligação de S1P aos S1PR1. Dessa maneira, a redução em S1PR1 inibe sua saída e mantém os linfócitos nos órgãos linfóides.

- **Os interferons tipo I aumentam a citotoxicidade das células NK e dos CTLs**

***CD8<sup>+</sup> e promovem a diferenciação das células T imaturas aos subgrupos de células T auxiliares TH1.*** Esses efeitos dos interferons tipo I aumentam ambas

as imunidades inata e adaptativa contra infecções intracelulares, incluindo vírus e algumas bactérias.

- **Os interferons tipo I regulam positivamente a expressão de moléculas de MHC de classe I e, assim, aumentam a probabilidade de que as células**

***viralmente infectadas sejam reconhecidas e mortas pelos CTLs CD8<sup>+</sup>.*** Os

CTLs CD8<sup>+</sup> específicos para vírus reconhecem peptídeos derivados de proteínas virais ligadas às moléculas de MHC de classe I na superfície das células

infectadas. (Discutiremos em detalhes o reconhecimento da célula T de peptídeo-

MHC e morte por CTL de células nos [Caps. 6 e 11.](#)). Dessa maneira, pela elevação

na quantidade de MHC de classe I sintetizada por uma célula viralmente infectada,

os interferons tipo I aumentarão o número de complexos peptídeo-MHC de classe I

na superfície celular que os CTLs podem ver e responder. O resultado é a morte

das células que suportam a replicação viral, o que é necessário para erradicar as infecções virais.

Então, as principais atividades do interferon tipo I trabalham em conjunto para

combater as infecções virais. Camundongos *knockout* sem o receptor para os

interferons tipo I são suscetíveis às infecções virais. O IFN- $\alpha$  está em uso clínico como

um agente antiviral em certas formas de hepatite viral. O IFN- $\alpha$  também é usado para

o tratamento de alguns tumores, talvez porque ele aumenta a atividade CTL ou inibe a

proliferação celular. O IFN- $\beta$  é usado como terapia na esclerose múltipla, porém o

mecanismo de seu efeito benéfico nesta doença é desconhecido.

***A proteção contra vírus se deve, em parte, à ativação de vias de morte apoptóticas intrínsecas em células infectadas e sensibilidade aumentada aos indutores extrínsecos da apoptose.*** As proteínas virais sintetizadas nas células

infectadas podem ser acumuladas, e seu acúmulo dispara respostas que podem

culminar em apoptose das células infectadas se o acúmulo das proteínas não for

corrigido. Além disso, as células viralmente infectadas são hipersensíveis à apoptose

induzida por TNF. TNF abundante é produzido pelas células dendríticas

plasmacitoides e macrófagos em resposta às infecções virais, em adição aos

interferons tipo I. O receptor de TNF de tipo I dispara ambas as vias pró-inflamatória e

de pró-apoptose. A via dominante que é ativada pela ligação do TNF depende do

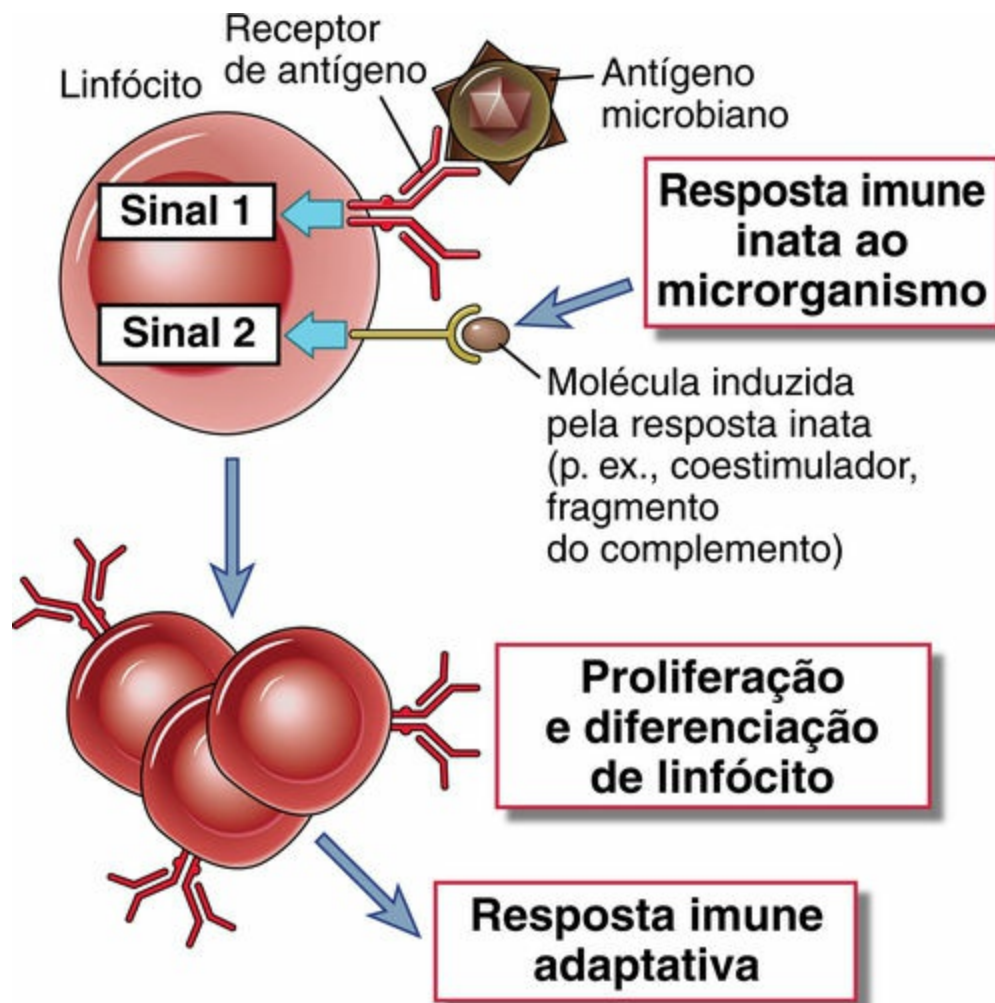
estado da síntese proteica nas células respondedoras, e a infecção viral pode desviar



esse balanço em direção à apoptose.

## Estímulo da imunidade adaptativa

***A resposta imune inata fornece sinais que atuam em conjunto com o antígeno para estimular a proliferação e diferenciação de linfócitos T e B específicas para antígenos.*** À medida que a resposta imune está fornecendo a defesa inicial contra microrganismos, ela também põe em movimento a resposta imune adaptativa. A ativação dos linfócitos necessita de dois sinais distintos, o primeiro sendo o antígeno e o segundo sendo moléculas que são produzidas durante as respostas imunes inatas aos microrganismos ou células lesionadas (Fig. 4-18). Esta ideia é chamada de **hipótese dos dois sinais** para a ativação de linfócitos. A necessidade do antígeno (o chamado sinal 1) garante que a resposta imune subsequente seja específica. A necessidade para estímulos adicionais disparados pelas reações imunes inatas aos microrganismos (sinal 2) garante que as respostas imunes adaptativas sejam induzidas quando existe uma infecção danosa e não quando os linfócitos reconhecem antígenos inofensivos, incluindo os próprios antígenos. As moléculas produzidas durante as reações imunes inatas que funcionam como segundo sinais para a ativação dos linfócitos incluem coestimuladores (para células T), citocinas (para ambas as células T e B) e produtos da quebra do complemento (para células B). Retornaremos à natureza dos segundos sinais para a ativação do linfócito nos [Capítulos 9](#) e [12](#).



**FIGURA 4-18** Estimulação da imunidade adaptativa pelas respostas imunes inatas.

O reconhecimento do antígeno pelos linfócitos fornece sinal 1 para a ativação dos linfócitos, ao passo que moléculas induzidas nas células do hospedeiro durante as respostas imunes inatas aos microrganismos fornecem sinal 2. Nesta ilustração os linfócitos são células B, mas os mesmos princípios se aplicam aos linfócitos T. A natureza dos sinais secundários difere para células B e T e é descrita em capítulos posteriores.

***Os segundos sinais gerados durante as respostas imunes inatas aos diferentes microrganismos não somente aumentam a magnitude da resposta imune adaptativa subsequente, mas também influenciam a natureza da resposta adaptativa.*** A principal função da imunidade mediada pela célula T é ativar macrófagos para matarem microrganismos intracelulares e induzir robustas respostas inflamatórias, de tal forma que uma quantidade suficientemente grande de fagócitos é chamada para o local da infecção. Quando os fagócitos encontram os

microrganismos, os TLRs e outros receptores de reconhecimento de padrão estimulam a secreção de citocina e as respostas imunes mediadas pela célula T, o que ativa e recruta fagócitos para matar os microrganismos. Esses processos são mediados pelas citocinas. Então, a resposta imune inata aos microrganismos nos macrófagos estimula a resposta adaptativa da célula T que é efetiva contra tais microrganismos.

Em contrapartida, muitos microrganismos extracelulares que entram no sangue ativam a via alternativa do complemento, o que aumenta a produção de anticorpos pelos linfócitos B. Esses anticorpos opsonizam os microrganismos e, assim, promovem sua fagocitose pelos neutrófilos e macrófagos, ou matam os microrganismos por mecanismos dependentes de complemento. Então, microrganismos oriundos do sangue induzem uma resposta inata (ativação do complemento) que dispara a resposta adaptativa que é designada para eliminar esses patógenos extracelulares.

***As citocinas produzidas pelas células durante as respostas imunes inatas aos microrganismos estimulam a proliferação e diferenciação dos linfócitos nas respostas imunes adaptativas.*** Exemplos das citocinas secretadas pelas células estimuladas por PAMP agindo nas células B, células T CD4<sup>+</sup> e células T CD8<sup>+</sup> são mostrados aqui. Mencionamos essas citocinas anteriormente e discutiremos os detalhes de seus papéis nas respostas dos linfócitos em capítulos posteriores.

- IL-12 estimula a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas às células efetoras do subgrupo T<sub>H</sub>1 (Cap. 10).
- IL-1, IL-6 e IL-23 estimulam a diferenciação das células T CD4<sup>+</sup> às células efetoras do subgrupo T<sub>H</sub>17 (Cap. 10).
- IL-15 promove a sobrevivência das células T CD8<sup>+</sup> de memória.
- IL-6 promove a produção de anticorpos pelas células B ativadas (Cap. 12).

Os **adjuvantes**, substâncias que necessitam ser administradas juntamente aos antígenos proteicos purificados para eliciar respostas imunes dependentes de célula T máximas (Cap. 6), atuam estimulando as respostas imunes inatas no local de exposição do antígeno. Os adjuvantes são úteis na imunologia experimental e nas vacinas clínicas. Muitos adjuvantes em uso experimental são produtos microbianos que se ligam aos TLRs, tais como micobactéria morta e LPS. O único adjuvante usado rotineiramente em vacinas humanas é o alúmen, que é composto de hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio, sendo um estímulo para a ativação do inflamassoma. Entre seus efeitos importantes, os adjuvantes ativam células dendríticas a expressar mais moléculas de histocompatibilidade que são parte do antígeno (sinal 1) que as células T reconhecem, aumentam a expressão de coestimuladores (sinal 2) e citocinas necessárias para a ativação da célula T e estimulam a migração das

células dendríticas para os linfonodos onde as células T estão localizadas.

## Mecanismos que limitam as respostas imunes inatas

***A magnitude e a duração das respostas imunes inatas são reguladas por uma variedade de mecanismos inibidores que limitam o dano potencial aos tecidos.*** Enquanto a resposta inflamatória é criticamente importante para a proteção contra microrganismos, ela tem potencial de causar lesão tecidual e doença. Vários mecanismos evoluíram para fornecer um freio na inflamação, os quais atuam ao mesmo tempo ou logo após o início da inflamação. Além disso, os estímulos para o início de muitos destes mecanismos de controle incluem os mesmos PAMPs e DAMPs que induzem a inflamação. Descreveremos um grupo selecionado desses mecanismos reguladores.

***A IL-10 é uma citocina que é produzida por e inibida pela ativação dos macrófagos e células dendríticas.*** A IL-10 inibe a produção de várias citocinas inflamatórias por macrófagos e células dendríticas ativados, incluindo IL-1, TNF e IL-12. Pelo fato de ser produzida pelos macrófagos e inibir as funções dos macrófagos, a IL-10 é um excelente exemplo de um regulador de retroalimentação negativa. Macrófagos alternativamente ativados produzem mais IL-10 do que macrófagos classicamente ativados. A IL-10 é produzida por alguns tipos de células não linfóides (p. ex., queratinócitos). A IL-10 também é produzida pelas células T regulatórias, e abordaremos os detalhes da IL-10 neste contexto no [Capítulo 15](#).

Os fagócitos mononucleares produzem um antagonista natural da IL-1 que é estruturalmente homóloga à citocina e se liga aos mesmos receptores, mas é biologicamente inativo; assim, ele funciona como um inibidor competitivo da IL-1. Ele é, então, chamado de **antagonista de receptor de IL-1 (IL-1RA)**. A síntese do IL-1RA é induzida por muitos dos mesmos estímulos que induzem a produção da IL-1, e alguns estudos em camundongos deficientes em IL-1RA sugerem que esta citocina inibitória é necessária para prevenir doenças inflamatórias das articulações e outros tecidos. O IL-1RA recombinante foi desenvolvido como um fármaco para o tratamento da artrite reumatoide e síndromes de febre familiar nas quais a produção da IL-1 está desregulada. A regulação da inflamação mediada pela IL-1 também pode ocorrer pela expressão do receptor de tipo II, que se liga à IL-1, mas não traduz um sinal ativador. A principal função deste receptor pode ser agir como uma “isca” que inibe competitivamente a ligação da IL-1 ao receptor de sinalização de tipo I.

***A secreção de citocinas inflamatórias a partir de uma variedade de tipos celulares parece ser regulada pelos produtos de genes de autofagia.***

Mutações direcionadas em diferentes genes de autofagia resultam em secreção aumentada de IL-1 e IL-18 por vários tipos celulares e desenvolvimento de doença do intestino irritável. Esses mecanismos pelos quais as proteínas de autofagia prejudicam a síntese de citocinas não são bem compreendidos; eles podem regular a ativação

do inflamassoma ou a produção de espécies reativas de oxigênio. A ligação de polimorfismos em gene de autofagia humano com a doença do intestino irritável pode ocorrer porque essas proteínas afetam a inflamação ou a integridade epitelial.

***Existem várias vias de sinalização regulatórias negativas que bloqueiam os sinais ativadores gerados pelos receptores de reconhecimento de padrão e citocinas inflamatórias.*** Os supressores das proteínas de sinalização das citocinas (SOCS) são inibidores das vias de sinalização JAK-STAT ligadas aos receptores de citocinas. A sinalização do TLR em macrófagos e células dendríticas induz a expressão de proteínas SOCS, que limita as respostas destas células às citocinas exógenas, tais como interferons tipo I. As respostas pró-inflamatórias das células à sinalização do TLR são negativamente reguladas pelo SHP-1, uma proteína fosfatase intracelular que regula negativamente numerosas vias de sinalização dependentes de tirosinoquinase em linfócitos. Existem muitos outros exemplos de quinases e fosfatases que inibem a sinalização de TLR, NLR e RLR.

## Resumo

O sistema imune inato fornece a primeira linha de defesa contra microrganismos. Os mecanismos da imunidade inata existem antes da exposição aos microrganismos.

Os componentes celulares do sistema imune inato incluem barreiras epiteliais, leucócitos, neutrófilos, macrófagos, células NK, linfócitos com receptores de antígeno invariáveis e mastócitos.

O sistema imune inato utiliza receptores de reconhecimento de padrão associados à célula, presentes no plasma e em membranas endossomais e no citosol, para reconhecer estruturas chamadas de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs), que são compartilhadas por microrganismos, não estão presentes nas células de mamíferos e são frequentemente essenciais para a sobrevivência dos microrganismos, limitando, assim, a capacidade dos microrganismos de evadir à detecção com mutação ou perda da expressão destas moléculas. Além disso, esses receptores reconhecem moléculas produzidas pelo hospedeiro, mas cuja expressão ou localização indicam dano celular; eles são denominados padrões de moleculares associados ao dano (DAMPs).

Os TLRs, presentes na superfície da célula e nos endossomas, são as famílias de receptores de reconhecimento de padrão mais importantes, reconhecendo uma grande variedade de ligantes, incluindo componentes da parede celular bacteriana e ácidos nucleicos microbianos. Os receptores de reconhecimento de padrão citosólicos existem para reconhecer moléculas microbianas. Esses receptores abrangem receptores do tipo RIG (RLRs), que reconhecem RNA viral, sensores de DNA citosólico (CDSs) e receptores do tipo NOD (NLRs), que reconhecem constituintes da parede celular bacteriana e também detectam cristais intracelulares, espécies reativas de oxigênio e vários outros indicadores de

infecção ou lesão celular.

Os receptores de reconhecimento de padrão, incluindo TLRs e RLRs, sinalizam para ativar os fatores de transcrição NF- $\kappa$ B e AP-1, que promovem a expressão de genes inflamatórios, e os fatores de transcrição IRF, que estimulam a expressão dos genes antivirais interferon tipo I. O inflamassoma, um complexo especializado contendo NLR que se forma em resposta aos PAMPs e DAMPs, é composto de um receptor do tipo NOD, um adaptador e a enzima caspase-1, cuja principal função é produzir formas ativas das citocinas inflamatórias IL-1 e IL-18.

As moléculas de reconhecimento de padrão solúveis e efetoras são encontradas no plasma, incluindo as pentraxinas (p. ex., CRP), colectinas (p. ex., MBL) e ficolinas. Essas moléculas se ligam aos ligantes microbianos e aumentam a eliminação por mecanismos dependentes e independentes do complemento.

As células NK são uma de vários tipos de células linfoides inatas que têm funções efetoras compartilhadas pelos linfócitos T, mas não expressam receptores de células T para antígeno. As células NK defendem contra microrganismos intracelulares com a morte das células infectadas e fornecem uma fonte da citocina ativadora de macrófago, a IFN- $\gamma$ . O reconhecimento das células infectadas pela célula NK é regulado por uma combinação de receptores ativadores e inibidores. Receptores inibitórios reconhecem as moléculas de MHC de classe I, porque as células NK não matam células normais do hospedeiro, mas matam células nas quais a expressão do MHC de classe I está reduzida, tais como em células infectadas por vírus.

O sistema complemento inclui várias proteínas plasmáticas que se tornam ativadas em sequência por clivagem proteolítica para gerar fragmentos das proteínas C3 e C5, que promovem inflamação, ou opsonizam e promovem a fagocitose de microrganismos. A ativação do complemento também gera poros na membrana que matam alguns tipos de bactérias. O sistema complemento é ativado nas superfícies microbianas e não em células normais do hospedeiro, porque os microrganismos não têm proteínas regulatórias que inibem o complemento. Nas respostas imunes inatas, o complemento é ativado principalmente de maneira espontânea nas superfícies da célula microbiana e por lectina ligante de manose para iniciar as vias alternativa e da lectina, respectivamente.

As duas principais funções da imunidade inata são induzir a inflamação, que envolve a distribuição de leucócitos que matam microrganismos e moléculas efetoras solúveis do sangue para os tecidos, e bloquear a infecção viral das células pelas ações antivirais dos interferons tipo I. Ambos os tipos de mecanismos efetores são induzidos por PAMPs e DAMPs, que iniciam vias de sinalização nas células teciduais, e leucócitos, que ativam fatores de transcrição e levam à expressão de citocinas e outros mediadores inflamatórios.

Várias citocinas produzidas principalmente pelos macrófagos ativados medeiam a inflamação. TNF e IL-1 ativam células endoteliais, estimulam a produção de



quimiocina e aumentam a produção de neutrófilos pela medula óssea. IL-1 e TNF induzem a produção de IL-6, e todas as três citocinas medeiam efeitos sistêmicos, incluindo febre e síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado. IL-12 e IL-18 estimulam a produção da citocina ativadora de macrófago IFN- $\gamma$  pelas células NK e células T. Essas citocinas agem nas respostas imunes inatas para diferentes classes de microrganismos, e algumas (IL-1, IL-6, IL-12, IL-18) modificam as respostas imunes adaptativas que se seguem à resposta imune inata.

Neutrófilos e monócitos (os precursores dos macrófagos teciduais) migram do sangue para os locais inflamatórios durante as respostas imunes inatas por causa dos efeitos de citocinas e quimiocinas produzidas pelas células teciduais estimuladas por PAMP e DAMP.

Neutrófilos e macrófagos fagocitam microrganismos e os matam através da produção de ROS, óxido nítrico e enzimas nos fagolisossomas. Os macrófagos também produzem citocinas que estimulam a inflamação e promovem o remodelamento tecidual nos locais de infecção. Os fagócitos reconhecem e respondem aos produtos microbianos por diferentes tipos de receptores, incluindo TLRs, lectinas de tipo C, receptores *scavenger* e receptores *N-formil met-leu-phe*.

Moléculas produzidas durante as respostas imunes inatas estimulam a imunidade adaptativa e influenciam a natureza das respostas imunes adaptativas. As células dendríticas ativadas pelos microrganismos produzem citocinas e coestimuladores que aumentam a ativação da célula T e a diferenciação em células T efetoras. Os fragmentos do complemento gerados pela via alternativa fornecem sinais secundários para a ativação da célula B e produção de anticorpo.

As respostas imunes inatas são reguladas por mecanismos de retroalimentação negativos que limitam o potencial dano aos tecidos. A IL-10 é uma citocina que é produzida por e inibe a ativação dos macrófagos e células dendríticas. A secreção de citocinas inflamatórias é regulada por produtos de gene de autofagia. Vias de sinalização negativa bloqueiam os sinais de ativação gerados por receptores de reconhecimento e citocinas inflamatórias.

## Leituras selecionadas

### Receptores de Reconhecimento de Padrão

Blasius, A. L., Beutler, B. Intracellular Toll-like receptors. *Immunity*. 2010; 32:305–315.

Canton, J., Neculai, D., Grinstein, S. Scavenger receptors in homeostasis and immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:621–634.

Chen, G., Shaw, M. H., Kim, Y. G., Nuñez, G. Nod-like receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annual Review of Pathology*. 2009; 4:365–398.

Dixit, E., Kagan, J. Intracellular pathogen detection by RIG-I-like receptors. *Advances in Immunology*. 2013; 117:99–125.

- Elinav, E., Strowig, T., Henao-Mejia, J., Flavell, R. A. Regulation of the antimicrobial response by NLR proteins. *Immunity*. 2011; 34:665–679.
- Goubau, D., Deddouche, S., Reis, C., Sousa, E. Cytosolic sensing of viruses. *Immunity*. 2013; 38:855–869.
- Hornung, V., Latz, E. Intracellular DNA recognition. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:123–130.
- Janeway, C. A., Medzhitov, R. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology*. 2002; 20:197–216.
- Kawai, T., Akira, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*. 2010; 11:373–384.
- Latz, E., Xiao, T. S., Stutz, A. Activation and regulation of the inflammasome. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:397–411.
- Martinez-Pomares, L. The mannose receptor. *Journal of Leukocyte Biology*. 2012; 92:1177–1186.
- Osorio, F., Reis e Sousa, C. Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*. 2011; 34:651–664.
- Takeuchi, O., Akira, S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010; 140:805–820.
- Wu, J., Chen, Z. J. Innate immune sensing and signaling of cytosolic nucleic acids. *Annual Review of Immunology*. 2014; 32:461–488.

### **Células do Sistema Imune Inato**

- Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G. L., Metzler, K. D., Zychlinsky, A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:459–489.
- Dale, D. C., Boxer, L., Liles, W. C. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood*. 2008; 112:935–945.
- Davies, L. C., Jenkins, S. J., Allen, J. E., Taylor, P. R. Tissue-resident macrophages. *Nature Immunology*. 2013; 14:986–995.
- Flannagan, R. S., Jaumouille, V., Grinstein, S. The cell biology of phagocytosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2012; 7:61–98.
- Lanier, L. L. NK cell recognition. *Annual Review of Immunology*. 2005; 23:225–274.
- Mócsai, A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *The Journal of Experimental Medicine*. 2013; 10:1283–1299.
- Molawi, J. K., Sieweke, M. H. Transcriptional control of macrophage identity, self-renewal, and function. *Advances in Immunology*. 2013; 120:269–300.
- Murray, P. J., Wynn, T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:723–737.
- Schenten, D., Medzhitov, R. The control of adaptive immune responses by the innate

- immune system. *Advances in Immunology*. 2011; 109:87–124.
- Serbina, N. V., Jia, T., Hohl, T. M., Pamer, E. G. Monocyte-mediated defense against microbial pathogens. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:421–452.
- Sun, J. C., Lanier, L. L. NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8+ T cells. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:645–745.
- Walker, J. A., Barlow, J. L., McKenzie, A. N. Innate lymphoid cells—how did we miss them? *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:75–87.
- Vivier, E., Tomasello, E., Baratin, M., Walzer, T., Ugolini, S. Functions of natural killer cells. *Nature Immunology*. 2008; 9:503–510.

### **Moléculas Efetoras da Imunidade Inata**

- Bottazzi, B., Doni, A., Garlanda, C., Mantovani, A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:157–183.
- Ivashkiv, L. B., Donlin, L. T. Regulation of type I interferon responses. *Nature Reviews Immunology*. 2014; 14:36–50.
- Lamkanfi, M., Dixit, V. M. Inflammasomes and their roles in health and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2012; 28:137–161.
- Linden, S. K., Sutton, P., Karlsson, N. G., Korolik, V., McGuckin, M. A. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology*. 2008; 1:183–197.
- Rock, K. L., Latz, E., Ontiveros, F., Kono, H. The sterile inflammatory response. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:321–342.
- Schroder, K., Tschopp, J. The inflammasomes. *Cell*. 2010; 140:821–832.
- Selsted, M. E., Ouellette, A. J. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nature Immunology*. 2005; 6:551–557.
- Sims, J. E., Smith, D. E. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:89–102.
- Van de Wetering, J. K., van Golde, L. M.G., Batenburg, J. J. Collectins: players of the innate immune system. *European Journal of Biochemistry*. 2004; 271:229–249.

### **Doenças Causadas pela Imunidade Inata**

- Angus, D. C., van der Poll, T. Severe sepsis and septic shock. *New England Journal of Medicine*. 2013; 369:840–851.
- Deutschman, C. S., Tracey, K. J. Sepsis: current dogma and new perspectives. *Immunity*. 2014; 40:463–475.
- Park, H., Bourla, A. B., Kastner, D. L., Colbert, R. A., Siegel, R. M. Lighting the fires within: the cell biology of autoinflammatory diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:570–580.

Stearns-Kurosawa, D. J., Osuchowski, M. F., Valentine, C., Kurosawa, S., Remick, D. G. The pathogenesis of sepsis. *Annual Review of Pathology*. 2011; 6:19–48.

## CAPÍTULO 5

# Anticorpos e Antígenos

### ESTRUTURA DO ANTICORPO

Características Gerais da Estrutura do Anticorpo

Características Estruturais das Regiões Variáveis do Anticorpo

Características Estruturais das Regiões Constantes do Anticorpo

Anticorpos Monoclonais

### SÍNTESE, MONTAGEM E EXPRESSÃO DAS MOLÉCULAS DE Ig

Meia-vida dos Anticorpos

### LIGAÇÃO DOS ANTICORPOS A ANTÍGENOS

Características dos Antígenos Biológicos

Bases Estruturais e Químicas da Ligação do Antígeno

### RELAÇÃO ESTRUTURA-FUNÇÃO NAS MOLÉCULAS DE ANTICORPO

Características Relacionadas com o Reconhecimento do Antígeno

Características Relacionadas com as Funções Efetoras

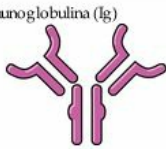


### RESUMO

Os anticorpos são proteínas circulantes produzidas nos vertebrados em resposta à exposição a estruturas estranhas conhecidas como antígenos. Os anticorpos são incrivelmente diversos e específicos em suas habilidades de reconhecer estruturas moleculares estranhas e constituem os mediadores da imunidade humoral contra todas as classes de microrganismos. Pelo fato de essas proteínas terem sido descobertas como moléculas séricas que fornecem proteção contra a toxina diftérica, elas foram inicialmente chamadas de antitoxinas. Quando foi observado que proteínas similares poderiam ser geradas contra muitas substâncias, não somente toxinas microbianas, elas receberam o nome geral de **anticorpos**. As substâncias geradas ou que foram reconhecidas pelos anticorpos foram, então, denominadas **antígenos**. Anticorpos, moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) (Cap. 6) e receptores de antígeno da célula T (Cap. 7) são as três classes de moléculas usadas pelo sistema imune adaptativo para se ligar aos antígenos (Tabela 5-1). Destas três, os anticorpos foram os primeiros a serem descobertos, reconhecem a grande variedade de estruturas antigênicas, mostram grande

habilidade em discriminar entre diferentes antígenos e se ligam a antígenos com maior força. Neste capítulo, descreveremos a estrutura dos anticorpos e suas propriedades de ligação ao antígeno.

**Tabela 5-1**

**Características da Ligação do Antígeno pelas Moléculas do Sistema Imune que Reconhecem o Antígeno**

Característica	Molécula Ligante de Antígeno		
	Imunoglobulina (Ig) 	Receptor de célula T (TCR) 	Moléculas de MHC 
Local de ligação do antígeno	Composto de até três CDRs nos domínios $V_H$ e três CDRs nos domínios $V_L$	Composto de até três CDRs nos domínios $V_\alpha$ e três domínios $V_\beta$	Fenda de ligação do peptídeo composta por domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ (MHC de classe I) e domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ (MHC de classe II)
Natureza do antígeno que pode ser ligado	Macromoléculas (proteínas, lipídios, polissacarídeos) e pequenos reagentes químicos	Complexos peptídeo-MHC	Peptídeos
Natureza dos determinantes antígenicos reconhecidos	Determinantes lineares e conformacionais de várias macromoléculas e produtos químicos	Determinantes lineares dos peptídeos; somente 2 ou 3 resíduos de aminoácidos de um peptídeo ligado a uma molécula de MHC	Determinantes lineares dos peptídeos; somente alguns resíduos de aminoácidos de um peptídeo
Afinidade da ligação do antígeno	$K_d$ $10^{-7}$ - $10^{-11}$ M; afinidade média da Ig aumenta durante a resposta imune	$K_d$ $10^{-5}$ - $10^{-7}$ M	$K_d$ $10^{-8}$ - $10^{-9}$ M; ligação extremamente estável
Com taxa e sem taxa	Taxa de ligação rápida, taxa de desligamento variável	Taxa de ligação rápida, taxa de desligamento lenta	Taxa de ligação lenta, taxa de desligamento lenta

CDR, região de determinação de complementariedade;  $K_d$ , constante de dissociação; MHC, complexo maior de histocompatibilidade (somente mostradas moléculas de classe II);  $V_H$ , domínio variável da cadeia pesada de Ig;  $V_L$ , domínio variável da cadeia leve de Ig.

\* As estruturas e funções das moléculas de MHC e TCR serão discutidas nos [Capítulos 6](#) e [7](#), respectivamente.

**Os anticorpos são sintetizados somente pelas células da linhagem de linfócitos B e existem em duas formas: anticorpos ligados à membrana na superfície dos linfócitos B funcionam como receptores de antígenos e anticorpos secretados neutralizam as toxinas, previnem a entrada e espalhamento dos patógenos e eliminam os microrganismos.** O

reconhecimento do antígeno pelos anticorpos ligados à membrana nas células B imaturas ativa esses linfócitos a iniciarem uma resposta imune humoral. As células B ativadas se diferenciam em plasmócitos que secretam anticorpos de mesma especificidade do receptor do antígeno. As formas secretadas dos anticorpos estão presentes no plasma (a porção fluida do sangue), nas secreções mucosas e no fluido intersticial dos tecidos. Na fase efetora da imunidade humoral, esses anticorpos secretados se ligam aos antígenos e disparam vários mecanismos efetores que eliminam os antígenos.



A eliminação do antígeno frequentemente necessita da interação do anticorpo com outros componentes do sistema imune, incluindo moléculas tais como proteínas do complemento e células que incluem fagócitos e eosinófilos. As funções efetoras mediadas por anticorpo incluem: neutralização dos microrganismos ou produtos microbianos tóxicos; ativação do sistema complemento; opsonização dos patógenos para fagocitose aumentada; citotoxicidade mediada por célula e dependente de anticorpo, pela qual os anticorpos têm como alvo células infectadas para a lise pelas células do sistema imune inato; e ativação de mastócito mediada por anticorpo para expelir vermes parasitas. Descreveremos essas funções dos anticorpos em detalhes no [Capítulo 13](#).

Quando o sangue ou plasma forma um coágulo, os anticorpos permanecem no fluido residual, o que é chamado de **soro**. O soro não possui os fatores da coagulação (que são consumidos durante a formação do coágulo), mas contém todas as outras proteínas encontradas no plasma. Qualquer amostra de soro que apresente moléculas detectáveis de anticorpo que se ligam a um antígeno em particular é comumente chamada de **antissoro**. O estudo dos anticorpos e suas reações com antígenos é, portanto, classicamente chamado de **sorologia**. A concentração de moléculas de anticorpo no soro específicas para um antígeno em particular frequentemente é estimada pela determinação de quantas diluições seriadas do soro podem ser feitas antes que a ligação não seja mais detectada; soros com alta concentração de moléculas de anticorpo específicas para um antígeno em particular são ditos terem alto título.

Um homem adulto e saudável, com 70 kg, produz cerca 2 a 3 g de anticorpos a cada dia. Quase dois terços destes correspondem a um anticorpo chamado de IgA, que é produzido por células B ativadas e plasmócitos nas paredes dos tratos gastrointestinal e respiratório e é ativamente transportado através das células epiteliais para os lúmens destes tratos. A grande quantidade de IgA produzida reflete as amplas áreas de superfície destes órgãos.

## Estrutura do anticorpo

A compreensão da estrutura do anticorpo forneceu importantes dados sobre suas funções. A análise da estrutura do anticorpo também lançou as bases para a elucidação dos mecanismos da diversidade do receptor de antígeno, um dos problemas fundamentais da imunologia que abordaremos em detalhes no [Capítulo 8](#).

Estudos iniciais da estrutura do anticorpo se basearam em anticorpos purificados do sangue de indivíduos imunizados com vários antígenos. Não foi possível, por meio deste procedimento, definir com precisão a estrutura do anticorpo, porque o soro contém uma mistura de diferentes anticorpos produzidos por muitos clones de linfócitos B que podem, cada um, se ligar a diferentes porções (epítomos) de um

antígeno (os chamados anticorpos policlonais). Um grande avanço na obtenção dos anticorpos cujas estruturas podiam ser elucidadas foi a descoberta de que pacientes com mieloma múltiplo, um tumor monoclonal de plasmócitos produtores de anticorpo, frequentemente têm grandes quantidades de moléculas de anticorpo bioquimicamente idênticas (produzidas pelo clone neoplásico) em seu sangue e urina. Immunologistas verificaram que esses anticorpos podiam ser purificados até a homogeneidade e analisados. O reconhecimento de que as células de mieloma produzem imunoglobulinas monoclonais levou à tecnologia extremamente importante de produção de anticorpos monoclonais, descrita mais adiante neste capítulo. A disponibilidade de populações homogêneas de anticorpos e plasmócitos produtores de anticorpo monoclonal facilitou a análise estrutural detalhada das moléculas de anticorpo e clonagem molecular dos genes para anticorpos individuais. Estes foram grandes avanços em nossa compreensão do sistema imune adaptativo.

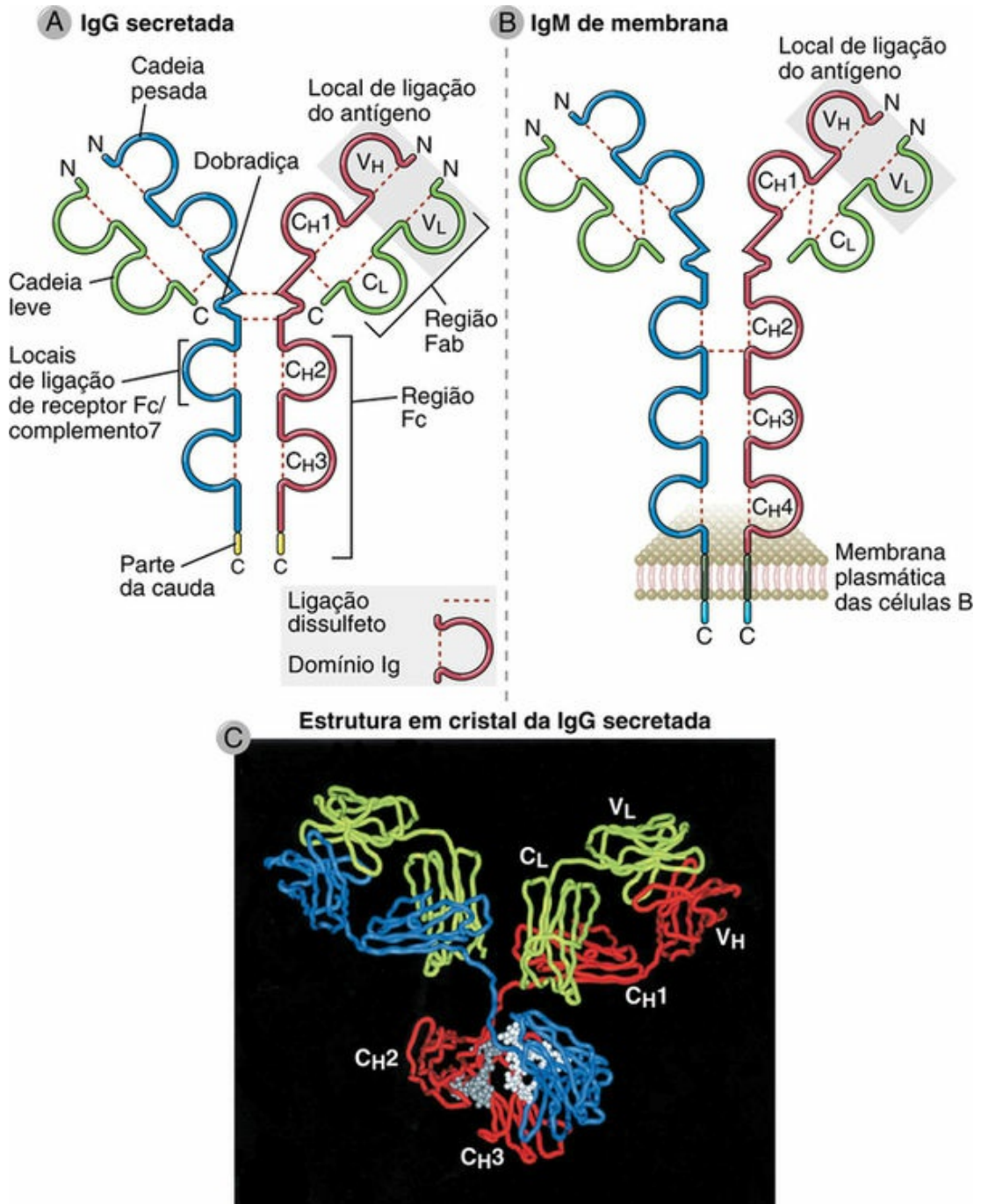
## Características Gerais da Estrutura do Anticorpo

Proteínas plasmáticas ou séricas podem ser fisicamente separadas baseando-se nas características de solubilidade das albuminas e globulinas e podem ser separadas com mais precisão pela migração em um campo elétrico, um processo chamado de eletroforese. A maioria dos anticorpos é encontrada no terceiro grupo mais rápido de migração das globulinas, chamado de **globulinas gama** para a terceira letra do alfabeto grego. Outro nome comum para o anticorpo é **imunoglobulina (Ig)**, fazendo referência à porção que confere imunidade da fração gamaglobulina. Os termos *imunoglobulina* e *anticorpo* são usados indistintamente ao longo deste livro.

***Todas as moléculas de anticorpo compartilham as mesmas características estruturais básicas, mas apresentam marcante variabilidade nas regiões onde os antígenos se ligam.*** Esta variabilidade das regiões de ligação do antígeno é responsável pela capacidade de diferentes anticorpos se ligarem a um grande número de antígenos estruturalmente diversos. Em todos os indivíduos, existem milhões de diferentes clones de células B, cada uma produzindo moléculas de anticorpo com os mesmos locais de ligação do antígeno e diferentes nestes locais dos anticorpos produzidos por outros clones. As funções efetoras e propriedades físico-químicas comuns dos anticorpos estão associadas a porções de ligação de moléculas diferentes de um antígeno, que exibem relativamente poucas variações entre os diferentes anticorpos.

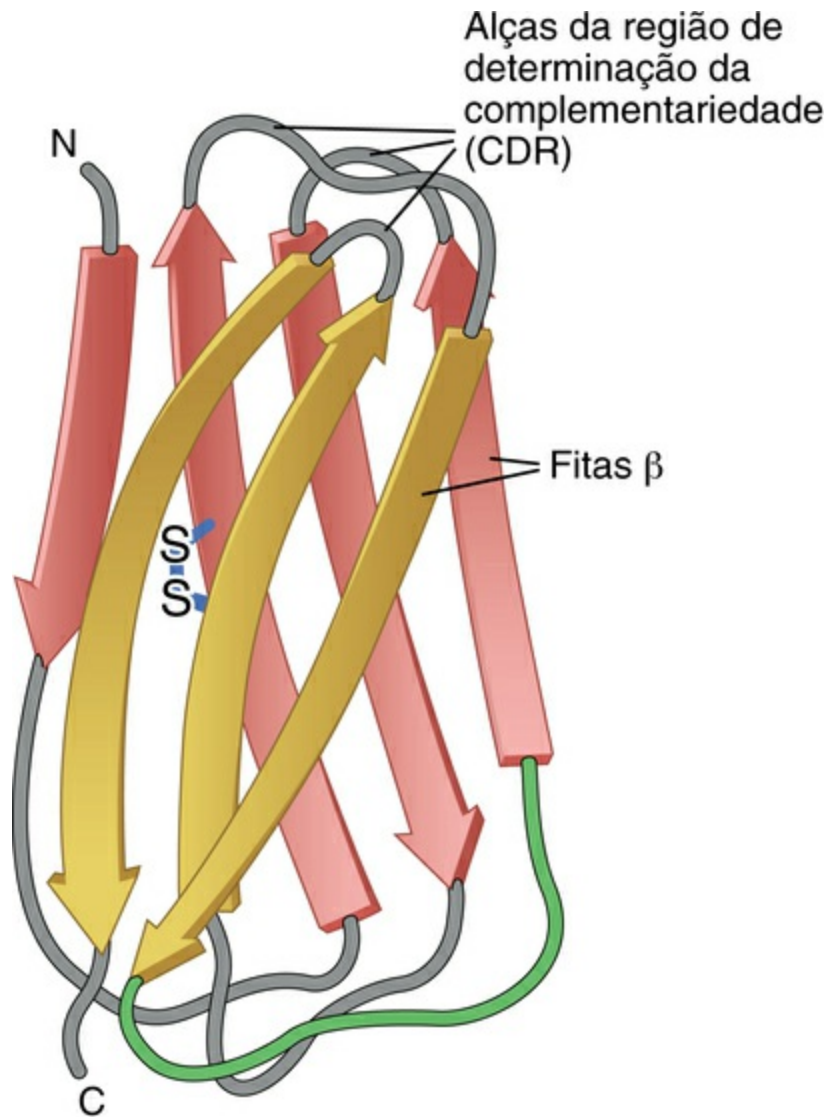
***Uma molécula de anticorpo tem uma estrutura simétrica do núcleo composta de duas cadeias leves idênticas e duas cadeias pesadas idênticas (Fig. 5-1).*** Ambas as cadeias leve e pesada contêm uma série de unidades homólogas repetidas, cada uma com cerca de 110 resíduos de aminoácidos de comprimento, que se dobram independentemente em um motivo globular que é chamado de **domínio Ig**, introduzido nos [Capítulos 3 e 4](#). Um domínio Ig contém duas

camadas de folhas  $\beta$ -pregueadas, cada camada composta de três a cinco fitas de cadeia polipeptídica antiparalela (Fig. 5-2). As duas camadas são mantidas unidas pela ponte dissulfeto, e faixas adjacentes de cada folha  $\beta$  são conectadas por pequenas alças. Os aminoácidos localizados em algumas destas alças são os mais variáveis e críticos para o reconhecimento do antígeno, como discutido posteriormente neste capítulo.



**FIGURA 5-1** Estrutura de uma molécula de anticorpo.  
A, Diagrama esquemático de uma molécula de IgG

secretada. Os locais de ligação do antígeno são formados pela justaposição dos domínios  $V_L$  e  $V_H$ . As regiões C da cadeia pesada terminam em pedaços de cauda. As localizações dos locais de ligação do complemento e do receptor Fc dentro das regiões constantes da cadeia pesada são aproximações. **B**, Diagrama esquemático de uma molécula de IgM ligada à membrana na superfície de um linfócito B. A molécula de IgM tem mais um domínio  $C_H$  do que a IgG, e a forma membranar do anticorpo tem porções C-terminais transmembranares e citoplasmáticas que ancoram a molécula à membrana plasmática. **C**, Estrutura de uma molécula de IgG humana como revelada por cristalografia de raios X. Neste diagrama de uma molécula de IgG secretada, as cadeias pesadas estão coloridas em azul e vermelho, e as cadeias leves estão coloridas em verde; carboidratos estão mostrados em cinza. (Cortesia de Dr. Alex McPherson, University of California, Irvine.)



**FIGURA 5-2** Estrutura de um domínio Ig.

Cada domínio é composto de duas vias antiparalelas de fitas  $\beta$ , coloridas em amarelo e vermelho, para formar duas folhas  $\beta$ -pregueadas mantidas juntas por uma ponte dissulfeto. Um domínio constante (C) está mostrado esquematicamente e contém três e quatro faixas  $\beta$  nas duas faixas. As alças conectam as faixas  $\beta$  que, algumas vezes, são adjacentes na mesma folha  $\beta$ -pregueada, mas as alças, algumas vezes, representam as conexões entre as duas folhas diferentes que formam um domínio Ig. Três alças em cada domínio variável contribuem para a ligação do antígeno e são chamadas de regiões determinantes de complementariedade (CDRs).

***Ambas as cadeias leve e pesada consistem em regiões variáveis de aminoterminal (V) que participam no reconhecimento do antígeno e regiões***

**carboxiterminais constantes (C); as regiões C das cadeias pesadas medeiam as funções efetoras.** Nas cadeias pesadas, a região V é composta de um domínio Ig e a região C é composta de três ou quatro domínios Ig. Cada cadeia leve é composta de uma região V no domínio Ig e uma região C no domínio Ig. As regiões variáveis são assim chamadas por causa das suas sequências de aminoácidos variando entre os anticorpos produzidos pelos diferentes clones B. A região V de uma cadeia pesada ( $V_H$ ) e a região V contígua de uma cadeia leve ( $V_L$ ) formam um local de ligação do antígeno (Fig. 5-1). Pelo fato de a unidade estrutural do núcleo de cada molécula de anticorpo conter duas cadeias pesadas e duas cadeias leves, cada molécula de anticorpo tem pelo menos dois locais de ligação do antígeno.

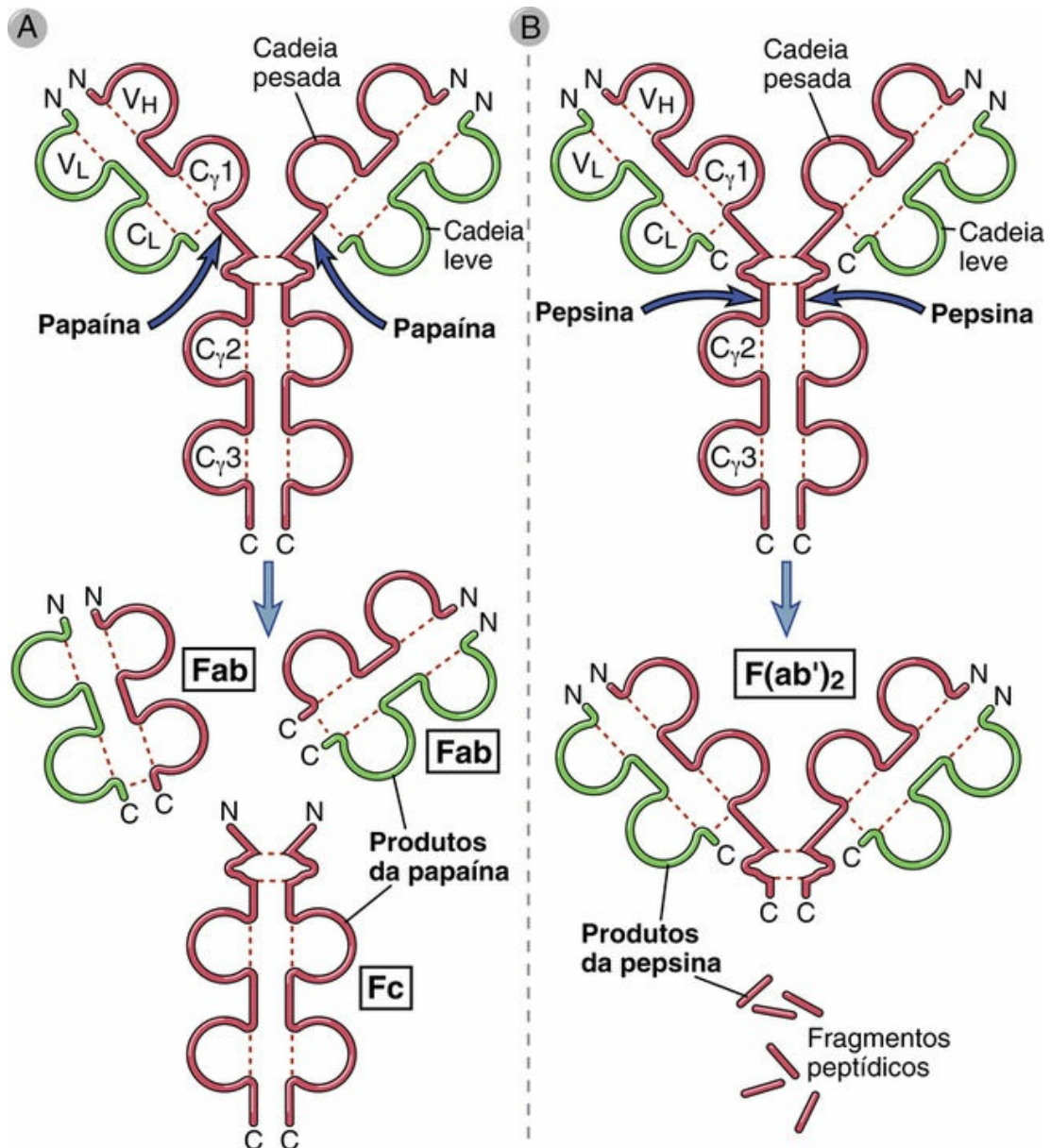
Os domínios Ig da região C são distantes do local de ligação do antígeno e não participam no reconhecimento do antígeno. As regiões C da cadeia pesada interagem com outras moléculas efetoras e células do sistema imune e, assim, medeiam a maioria das funções biológicas dos anticorpos. Além disso, as cadeias pesadas existem em duas formas que diferem nas terminações carboxiterminais: uma forma das cadeias pesadas ancora os anticorpos ligados à membrana nas membranas plasmáticas dos linfócitos B, e a outra é encontrada somente nos anticorpos secretados. As regiões C das cadeias leves não participam nas funções efetoras e não estão diretamente ligadas às membranas das células.

As cadeias pesadas e leves estão covalentemente ligadas por pontes dissulfeto formadas entre os resíduos de cisteína no carboxiterminal da cadeia leve e no domínio  $C_H1$  da cadeia pesada. As interações não covalentes entre os domínios  $C_L$  e  $C_H1$  também podem contribuir para a associação das cadeias pesadas e leves. As duas cadeias pesadas de cada molécula de anticorpo estão covalentemente ligadas por pontes dissulfeto. Nos anticorpos IgG, essas ligações são formadas entre resíduos de cisteína nos domínios  $C_H2$ , próximas à região conhecida como dobradiça, descrita mais adiante neste capítulo. Em outros isotipos, as ligações dissulfeto podem ocorrer em diferentes localizações. Interações não covalentes (p. ex., entre os terceiro domínio  $C_H$  [ $C_H3$ ]) também podem contribuir para o pareamento da cadeia pesada.

A associação entre as cadeias das moléculas de anticorpo e as funções das diferentes regiões dos anticorpos foram primeiramente deduzidas de experimentos nos quais a IgG de coelhos foi clivada por enzimas proteolíticas em fragmentos com propriedades estruturais e funcionais distintas. Nas moléculas de IgG, a região não pregueada da dobradiça entre os domínios  $C_H1$  e  $C_H2$  das cadeias pesadas é o segmento mais suscetível à clivagem proteolítica. Se a IgG de coelhos for tratada com a enzima papaína sob condições de proteólise limitada, a enzima age na região de dobradiça e cliva a IgG em três pedaços separados (Fig. 5-3, A). Dois dos pedaços são idênticos um ao outro e consistem em cadeia leve completa ( $V_L$  e  $C_L$ ) associada a um fragmento  $V_H-C_H1$  da cadeia pesada. Esses fragmentos retêm a habilidade de



se ligar ao antígeno, porque cada um possui domínios  $V_L$  e  $C_L$  pareados e são chamados de **Fab** (fragmento, ligação do antígeno). A terceira peça é composta de dois peptídios idênticos ligados por dissulfeto, cada um contendo os domínios  $C_H2$  e  $C_H3$  da cadeia pesada. Este pedaço da IgG tem a propensão de se autoassociar e de cristalizar em forma de treliça, sendo, assim, chamado de **Fc** (fragmento, cristalizável). Quando a pepsina (em vez da papaína) é usada para clivar a IgG de coelho sob condições limitadas, a proteólise ocorre distal à região de dobradiça, gerando um fragmento  $F(ab')_2$  da IgG com a dobradiça e as pontes dissulfeto intercadeias intactas e dois locais de ligação do antígeno idêntico (Fig. 5-3, B).



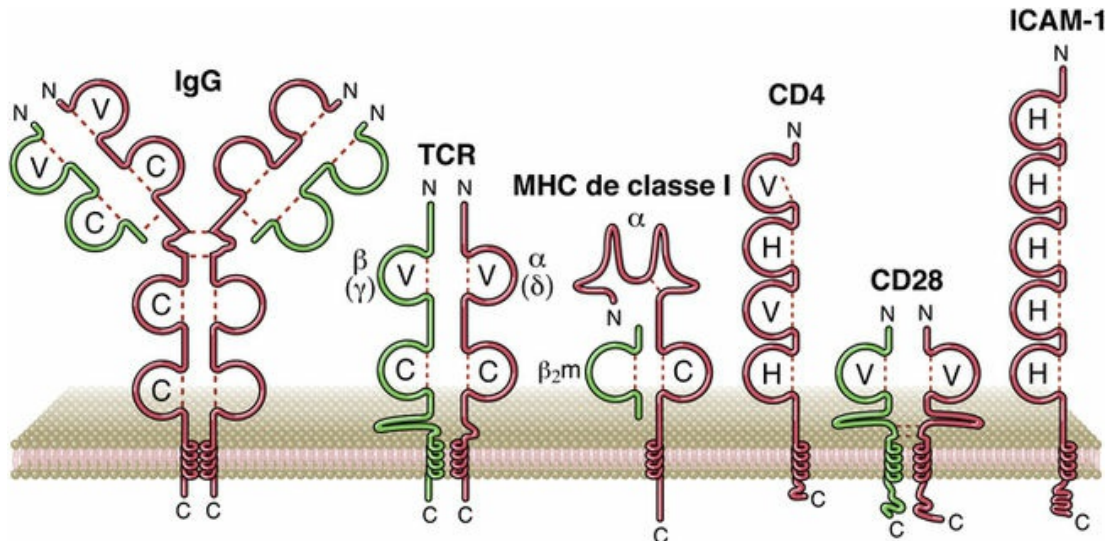
**FIGURA 5-3** Fragmentos proteolíticos de uma molécula de IgG.

Moléculas de IgG de coelho são clivadas pelas enzimas papaína (A) e pepsina (B) nos locais indicados por setas. A digestão pela papaína permite a separação de duas regiões de ligação do antígeno (os fragmentos Fab) da porção da molécula de Ig que se liga ao complemento e receptores Fc (o fragmento Fc). A pepsina gera um único fragmento bivalente de ligação ao antígeno, F(ab')<sub>2</sub>. As características estruturais deduzidas por proteólise da IgG de coelho são comuns aos anticorpos de todas as espécies.

Os resultados da proteólise limitada com papaína ou pepsina de outros isotipos além da IgG, ou de IgGs de outras espécies diferentes do coelho, nem sempre

repetem os estudos com IgG de coelho. Entretanto, a organização básica da molécula de anticorpo deduzida a partir dos experimentos de proteólise da IgG de coelho é comum a todas as moléculas de Ig de todos os isotipos e a todas as espécies. De fato, esses experimentos fornecem a primeira evidência de que as funções de reconhecimento do antígeno e as funções efetoras das moléculas de Ig são espacialmente separadas.

Muitas outras proteínas no sistema imune, assim como numerosas proteínas sem nenhum conhecimento da função imunológica, contêm domínios com uma estrutura de dobra da Ig – duas folhas  $\beta$ -pregueadas adjacentes mantidas juntas por uma ponte dissulfeto. Todas as moléculas que possuem este tipo de domínio são ditas pertencerem à **superfamília Ig**, e todos os segmentos de genes que codificam os domínios Ig destas moléculas parecem ter evoluído de um gene ancestral. Os domínios Ig são classificados como do tipo V e do tipo C com base na homologia próxima aos seus domínios V da Ig ou C da Ig. Os domínios V são formados a partir de um polipeptídeo mais longo do que os domínios C e contêm duas fitas  $\beta$  extras dentro do sanduíche da folha  $\beta$ . Alguns membros da superfamília Ig foram descritos no [Capítulo 3](#) (moléculas de adesão endotelial ICAM-1 e VCAM-1) e no [Capítulo 4](#) (receptores KIR na célula NK). Exemplos de membros da superfamília Ig de relevância no sistema imune são mostrados na [Figura 5-4](#).

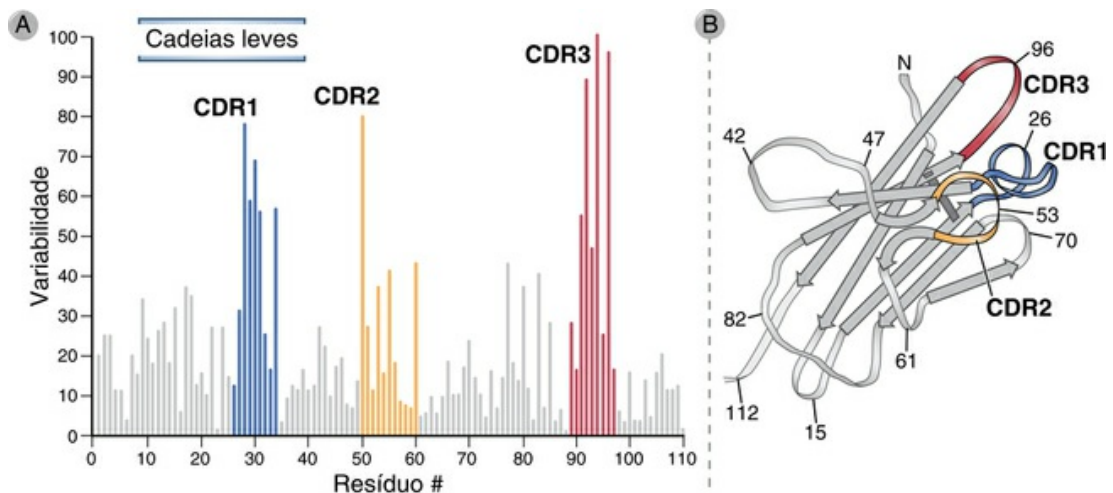


**FIGURA 5-4** Exemplos de proteínas da superfamília de Ig no sistema imune.

Mostrados aqui estão a molécula de IgG ligada na membrana; o receptor de célula T; uma molécula de MHC de classe I; o correceptor CD4 das células T; CD28, um receptor coestimulatório nas células T; e a molécula de adesão ICAM-1.

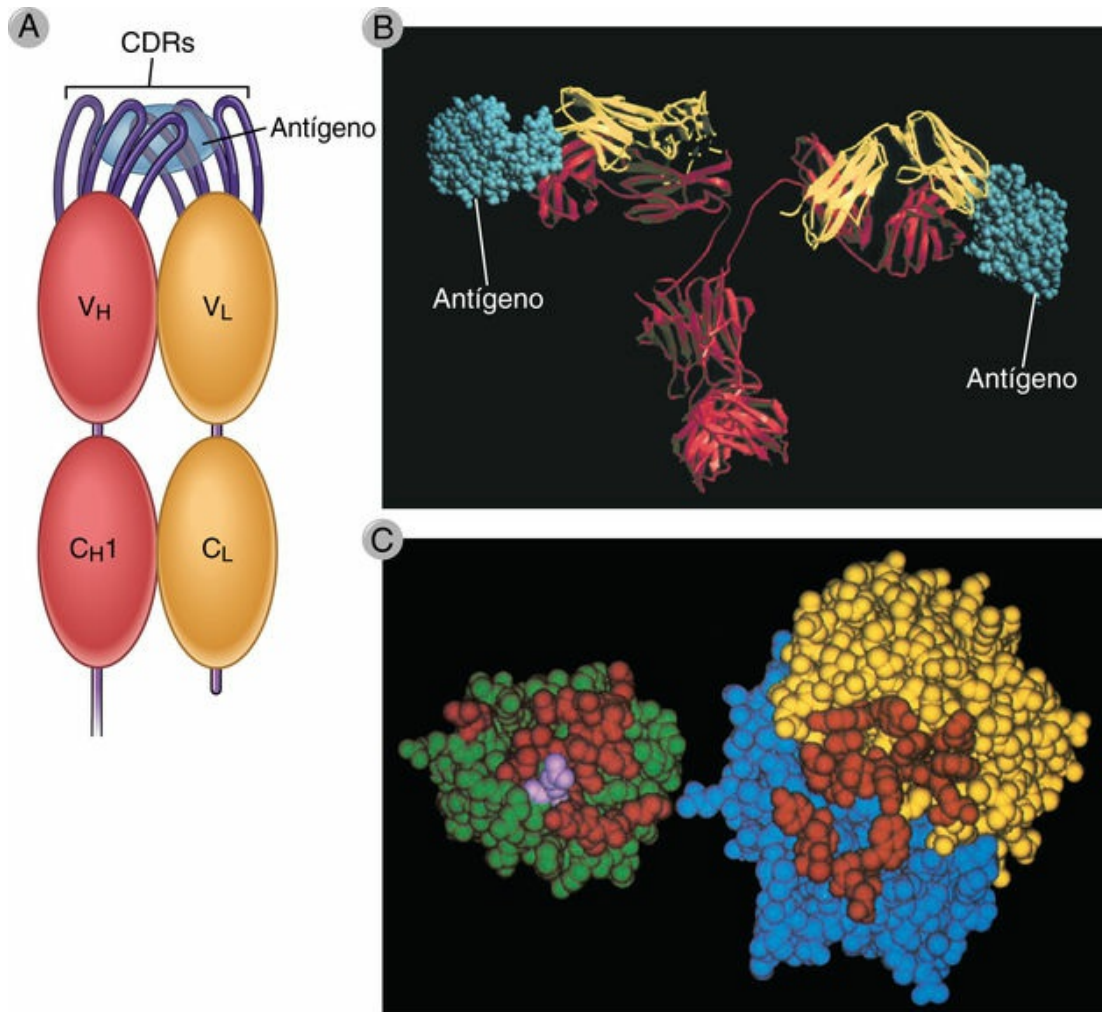
## Características Estruturais das Regiões Variáveis do Anticorpo

***A maioria das diferenças de sequência e variabilidade entre os diferentes anticorpos está confinada a três pequenos trechos na região V da cadeia pesada e a três trechos na região V da cadeia leve.*** Estes segmentos da maior diversidade são conhecidos como **regiões hipervariáveis**. Elas correspondem a três alças protuberantes conectando fitas adjacentes das cadeias  $\beta$  que compõem os domínios V da cadeia pesada da Ig e as proteínas da cadeia leve (Fig. 5-5). As regiões hipervariáveis são compostas, cada uma, de 10 resíduos de aminoácidos de comprimento, e eles podem ser mantidos no local pelas sequências mais conservadas que formam o domínio Ig da região V. Na molécula de anticorpo, as três regiões hipervariáveis do domínio  $V_L$  e as três regiões hipervariáveis do domínio  $V_H$  são mantidas juntas para criar uma superfície de ligação ao antígeno. As alças hipervariáveis podem se assemelhar a dedos protuberantes de cada domínio variável, com três dedos de cada cadeia pesada e três dedos de cada cadeia leve permanecendo juntos para formar o local de ligação do antígeno (Fig. 5-6). Pelo fato de essas sequências formarem uma superfície que é complementar à forma tridimensional do antígeno ligado, as regiões hipervariáveis também são chamadas de **regiões de determinação de complementariedade (CDRs)**. Procedentes de cada região aminoterminal  $V_L$  ou  $V_H$ , essas regiões são chamadas de CDR1, CDR2 e CDR3. As CDR3s de ambos os segmentos  $V_H$  e  $V_L$  são as mais variáveis das CDRs. Conforme abordaremos no [Capítulo 8](#), existem mecanismos especiais para a geração de mais diversidade na sequência no CDR3 do que em CDR1 e CDR2. As diferenças na sequência entre as CDRs de diferentes moléculas de anticorpo contribuem para superfícies distintas de interação e, dessa maneira, para as especificidades dos anticorpos individuais. A habilidade de uma região V em se dobrar em um domínio Ig é primordialmente determinada pelas sequências conservadas de regiões adjacentes aos CDRs. O confinamento da sequência de variabilidade para três trechos curtos permite que a estrutura básica de todos os anticorpos seja mantida, a despeito da variabilidade das especificidades entre os diferentes anticorpos.



**FIGURA 5-5** Regiões hipervariáveis em moléculas de Ig. **A**, As linhas verticais mostram a extensão da variabilidade, definida como o número de diferenças em cada resíduo de aminoácido entre várias cadeias de Ig sequenciadas independentemente, plotadas contra número de resíduos de aminoácidos, medidos a partir do aminoterminal. Esta análise indica que a maioria dos resíduos variáveis é mantida agrupada em três regiões “hipervariáveis”, coloridas em azul, amarelo e vermelho, correspondendo a CDR1, CDR2 e CDR3, respectivamente. Três regiões hipervariáveis também estão presentes nas cadeias pesadas (não mostrado). Esta forma de apresentação da variabilidade do aminoácido nas moléculas de Ig foi denominada *plot* de Kabat-Wu, após os dois cientistas desenvolverem o ensaio. **B**, Visão tridimensional das alças CDR hipervariáveis no domínio V da cadeia leve. A região V da cadeia leve é mostrada com alças CDR1, CDR2 e CDR3, coloridas em azul, amarelo e vermelho, respectivamente. Estas alças correspondem às regiões hipervariáveis no *plot* da variabilidade em **A**. As regiões hipervariáveis da cadeia pesada (não mostrado) também estão localizadas em três alças, e todas as seis alças são justapostas na molécula do anticorpo para formar a superfície de ligação ao antígeno (Fig. 5-6). (**A**, Cortesia de Dr. E. A. Kabat, Department of Microbiology, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York.)





**FIGURA 5-6** Ligação de um antígeno a um anticorpo.

**A**, Visão esquemática das regiões de determinação de complementariedade (CDRs) gerando um local de ligação do antígeno. As CRDs de uma cadeia pesada e uma cadeia leve são alças que protrudem da superfície de dois domínios V da Ig e, em combinação, criam uma superfície de ligação do antígeno. **B**, Este modelo de antígeno de proteína globular (lisozima de ovo de galinha) ligado a uma molécula de anticorpo mostra como o local de ligação do antígeno pode acomodar macromoléculas solúveis em sua conformação nativa (dobrada). As cadeias pesadas do anticorpo são vermelhas, as cadeias leves são amarelas e o antígeno é azul. **C**, Uma visão das superfícies de interação da lisozima do ovo de galinha (em verde) e um fragmento Fab de um anticorpo monoclonal antilisoizima de ovo de galinha ( $V_H$  em azul e  $V_L$  em amarelo) são mostrados. Os resíduos da lisozima do ovo de galinha e do fragmento Fab que interagem um com o outro são mostrados em vermelho. Um resíduo



crítico de glutamina na lisozima (em magenta) se encaixa na “fenda” no anticorpo. (B, Cortesia de Dr. Dan Vaughn, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York. C, Reproduzido com permissão de Amit AG, Mariuzza RA, Phillips SE, Poljak RJ: Three dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8Å resolution. Science 233:747–753, 1986. Copyright © 1986 by AAAS.)

***A ligação do antígeno pelas moléculas de anticorpo é primariamente uma função das regiões hipervariáveis de  $V_H$  e  $V_L$ .*** Análises cristalográficas dos complexos antígeno-anticorpo mostram que os resíduos de aminoácidos das regiões hipervariáveis formam múltiplos contatos com os antígenos ligados (Fig. 5-6). O contato mais extenso é com a terceira região hipervariável (CDR3), que também é a mais variável das três CDRs. Entretanto, a ligação do antígeno não é primariamente uma função dos CDRs e os resíduos do arcabouço também podem fazer contato com o antígeno. Além disso, na ligação de alguns antígenos, um ou mais CDRs podem estar do lado de fora da região de contato com o antígeno, não participando, assim, na ligação com ele.



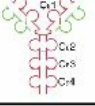
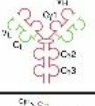

## Características Estruturais das Regiões Constantes do Anticorpo

***As moléculas de anticorpo podem ser divididas em classes e subclasses distintas com base nas diferenças na estrutura das regiões C da cadeia pesada.*** As classes de moléculas de anticorpo também são chamadas de **isotipos** e são nomeadas como IgA, IgD, IgE, IgG e IgM (Tabela 5-2). Em humanos, os isotipos IgA e IgG podem ainda ser divididos em subclasses, ou subtipos, intimamente relacionadas, chamadas de IgA1 e IgA2 e IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. (Camundongos, que frequentemente são usados no estudo das respostas imunes, diferem no isotipo de IgG, sendo este dividido nas subclasses IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3; certas linhagens de camundongos, incluindo C57BL/6, não têm o gene para IgG2a, mas sintetizam um isotipo relacionado e chamado de IgG2c.) As regiões C da cadeia pesada de todas as moléculas de anticorpo de um isotipo ou subtipo têm essencialmente a mesma sequência de aminoácidos. Esta sequência é diferente nos anticorpos de outros isotipos ou subtipos. As cadeias pesadas são designadas pela letra do alfabeto grego correspondente ao isotipo do anticorpo: a IgA1 contém cadeias pesadas  $\alpha_1$ ; IgA2,  $\alpha_2$ ; IgD,  $\delta$ ; IgE,  $\epsilon$ ; IgG1,  $\gamma_1$ ; IgG2,  $\gamma_2$ ; IgG3,  $\gamma_3$ ; IgG4,  $\gamma_4$ ; e IgM,  $\mu$ . Nos anticorpos humanos IgM e IgE, as regiões C contêm quatro domínios Ig (Fig. 5-1). As regiões C da IgG, IgA e IgD possuem somente três domínios Ig. Estes domínios são genericamente designados como domínios  $C_H$  e são numerados sequencialmente a partir do aminoterminal para o carboxiterminal (p. ex.,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  e

assim por diante). Em cada isotipo, essas regiões podem ser designadas mais especificamente (p. ex., C $\gamma$ 1, C $\gamma$ 2 na IgG).

**Tabela 5-2**

**Isotipos de Anticorpos Humanos**

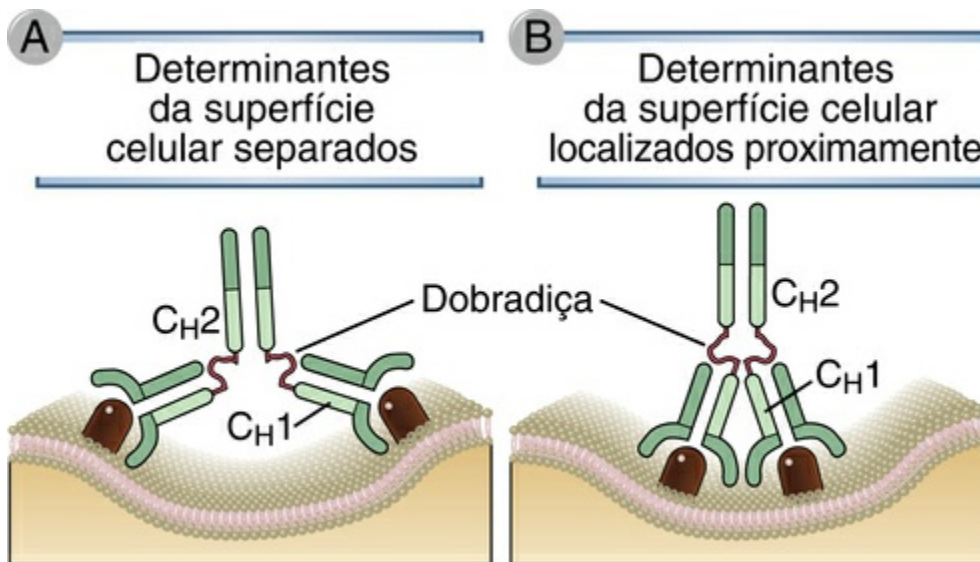
Isotipo do Anticorpo	Subtipos (Cadeia P)	Concentração sérica (mg/mL)	Meia-Vida plasmática (dias)	Forma Secretada		Funções
IgA	IgA1, 2 ( $\alpha$ 1 ou $\alpha$ 2)	3,5	6	Principalmente dímero; também monômero, trímero		Imunidade da mucosa
IgD	Nenhum ( $\delta$ )	Traços	3	Monômero		Receptor de antígeno na célula B imatura
IgE	Nenhum ( $\epsilon$ )	0,05	2	Monômero		Defesa contra parasitas helmínticos, hipersensibilidade imediata
IgG	(gG1-4 ( $\gamma$ 1, $\gamma$ 2, $\gamma$ 3 ou $\gamma$ 4))	13,5	23	Monômero		Opsonização, ativação do complemento, citotoxicidade mediada por célula e dependente de anticorpo, imunidade neonatal, inibição por retroalimentação das células B
IgM	Nenhum ( $\mu$ )	1,5	5	Pentâmero		Receptor de antígeno na célula B imatura (forma monomérica), ativação do complemento

As funções efetoras dos anticorpos serão discutidas em detalhes no [Capítulo 13](#).

**Diferentes isotipos e subtipos de anticorpos realizam distintas funções efetoras.** A razão para isso é que a maioria das funções efetoras dos anticorpos é mediada pela ligação das regiões C da cadeia pesada aos receptores Fc (FcRs) nas diferentes células, tais como fagócitos, células NK e mastócitos e proteínas plasmáticas, como proteínas do complemento. Os isotipos e subtipos de anticorpo diferem em suas regiões C e, assim, onde eles se ligam e quais funções efetoras realizarão. As funções efetoras mediadas por cada isotipo de anticorpo estão listadas na [Tabela 5-2](#) e são discutidas detalhadamente mais adiante neste capítulo e no [Capítulo 13](#).

**As moléculas de anticorpo são flexíveis, permitindo que elas se liguem a diferentes antígenos.** Cada anticorpo contém pelo menos dois locais de ligação do antígeno, cada um formado por um par de domínios V<sub>H</sub> e V<sub>L</sub>. Muitas moléculas Ig podem orientar esses locais de ligação, de tal forma que duas moléculas de antígeno em uma superfície planar (p. ex., célula) podem ser ligadas uma única vez ([Fig. 5-7](#)). Esta flexibilidade é conferida, em grande parte, por uma **região de dobradiça** localizada entre C<sub>H</sub>1 e C<sub>H</sub>2 de certos isotipos. A região de dobradiça varia em comprimento de 10 a mais do que 60 resíduos de aminoácidos em diferentes isotipos. Porções desta sequência assumem uma conformação desdobrada e flexível, permitindo o movimento molecular entre os domínios C<sub>H</sub>1 e C<sub>H</sub>2. Algumas das maiores diferenças entre as regiões constantes das subclasses de IgG estão

concentradas na dobradiça. Isso leva a formas gerais diferentes nos subtipos de IgG. Além disso, alguma flexibilidade das moléculas de anticorpo é decorrente da habilidade de cada domínio de  $V_H$  em sofrer rotação com respeito ao domínio  $C_H1$  adjacente.

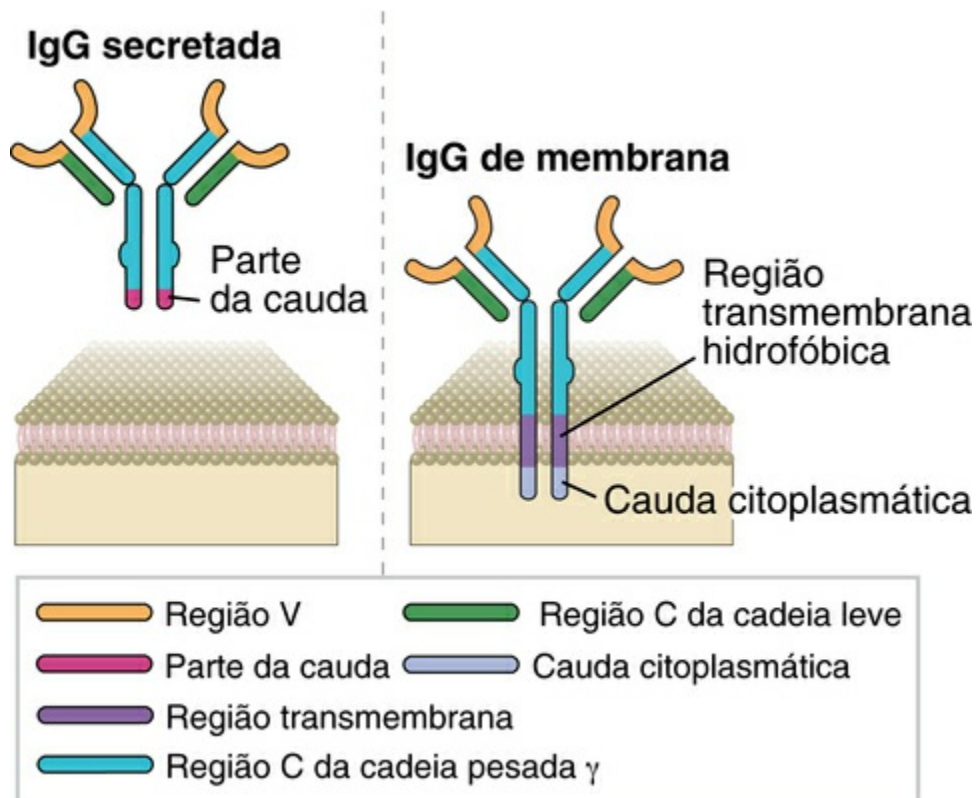


**FIGURA 5-7** Flexibilidade das moléculas de anticorpo. Os dois locais de ligação do antígeno de um monômero de Ig podem ligar simultaneamente os dois determinantes separados por distâncias variáveis. Em **A**, uma molécula de Ig é mostrada ligando-se a dois determinantes separados em uma superfície celular, e em **B**, o mesmo anticorpo está ligado a dois determinantes que estão próximos. Esta flexibilidade é principalmente atribuída às regiões de dobradiça localizadas entre os domínios  $C_H1$  e  $C_H2$ , o que permite o movimento independente dos locais de ligação do antígeno relativos ao resto da molécula.

**Existem duas classes, ou isotipos, de cadeias leves, chamadas  $\kappa$  e  $\lambda$ , que são diferenciadas por suas regiões constantes (C) carboxiterminais.** Cada molécula de anticorpo tem duas cadeias leves  $\kappa$  idênticas ou duas cadeias leves  $\lambda$  idênticas. Em humanos, cerca de 60% das moléculas de anticorpo têm cadeias leves  $\kappa$  e aproximadamente 40% possuem cadeias leves  $\lambda$ . Marcadas alterações nesta razão podem ocorrer em pacientes com tumores de célula B porque as muitas células neoplásicas, sendo derivadas de um clone de célula B, produzem uma única espécie de moléculas de anticorpo, todas com a mesma cadeia leve. De fato, a razão de células portadoras de  $\kappa$  para células portadoras de  $\lambda$  frequentemente é usada clinicamente para o diagnóstico de linfomas de célula B. Em camundongos,

anticorpos contendo  $\kappa$  são cerca de 10 vezes mais abundantes do que aqueles contendo  $\lambda$ . Ao contrário dos isotipos de cadeia pesada, não existem diferenças conhecidas na função entre anticorpos contendo  $\kappa$  e aqueles contendo  $\lambda$ .

***Anticorpos secretados e associados à membrana diferem na sequência de aminoácidos da porção carboxiterminal da região da cadeia pesada.*** Na forma secretada, encontrada no sangue e em outros fluidos extracelulares, a porção carboxiterminal é hidrofílica. A forma ligada na membrana do anticorpo contém um pedaço carboxiterminal que inclui dois segmentos: uma região transmembrana hidrofóbica  $\alpha$ -helicoidal, seguida por uma porção carregada positivamente na região intracelular justamembrana (Fig. 5-8). Os aminoácidos carregados positivamente se ligam aos grupos de cabeça fosfolipídica carregados negativamente na região interna da membrana plasmática e auxiliam a ancoragem da proteína na membrana. Nas moléculas IgM e IgD da membrana, a porção citoplasmática da cadeia pesada é curta, somente três resíduos de aminoácidos de comprimento; nas moléculas de IgG e IgE da membrana, ela é um pouco mais longa, até 30 resíduos de aminoácidos de comprimento.



**FIGURA 5-8** Formas membranares e secretadas das cadeias pesadas de Ig.

As formas membranares das cadeias pesadas de Ig, mas não as formas secretadas, contêm regiões transmembranas compostas de resíduos hidrofóbicos de aminoácidos e domínios citoplasmáticos que diferem significativamente entre os diferentes isotipos. A porção citoplasmática da forma membranar da cadeia  $\mu$  contém somente três resíduos, ao passo que a região citoplasmática das cadeias pesadas da IgG (cadeias pesadas  $\gamma$ ) possui 20 a 30 resíduos. As formas secretadas dos anticorpos terminam em pedaços da cauda C-terminal, que também difere entre os isotipos;  $\mu$  tem uma longa cauda (21 resíduos) que está envolvida na formação do pentâmero, ao passo que a IgG tem uma cauda curta (3 resíduos).

As moléculas de IgG e IgE secretadas e Ig de membrana, a despeito do isotipo, são monoméricas no que diz respeito à unidade estrutural básica do anticorpo (i.e., elas contêm duas cadeias pesadas e duas cadeias leves). Em contrapartida, as formas secretadas de IgM e IgA compõem complexos multiméricos nos quais dois ou mais dos núcleos de quatro cadeias das unidades estruturais do anticorpo são ligados covalentemente. A IgM pode ser secretada como pentâmeros e hexâmeros do núcleo da estrutura de quatro cadeias, ao passo que a IgA frequentemente é

secretada como um dímero. Esses complexos são formados por interações entre as regiões chamadas de pedaços de cauda localizadas nos terminais carboxiterminal das formas secretadas das cadeias pesadas  $\mu$  e  $\alpha$  (Tabela 5-2). As moléculas multiméricas de IgM e IgA também contêm um polipeptídeo adicional de 15-kD chamado de cadeia (J) de união, que é ligado por pontes dissulfeto aos pedaços das caudas e serve para estabilizar os complexos multiméricos e para transportar os multímeros através das células epiteliais da membrana basolateral para o terminal luminal. Como veremos mais adiante, as formas multiméricas dos anticorpos se ligam aos antígenos mais avidamente do que as formas monoméricas o fazem, mesmo se ambos os tipos de anticorpo contiverem regiões Fab que se ligam individual e igualmente bem ao antígeno.

Os anticorpos de distintas espécies diferem uns dos outros nas regiões C e em partes da malha das regiões V. Dessa maneira, quando moléculas de Ig de uma espécie são introduzidas em outra (p. ex., anticorpos de soro de cavalo ou anticorpos monoclonais de camundongo injetados em humanos), o receptor as enxerga como estranhas, monta uma resposta imune e produz os anticorpos contra as regiões C da Ig introduzida. A resposta frequentemente cria um distúrbio denominado doença do soro (Cap. 19) e, então, limita grandemente a habilidade em tratar indivíduos com anticorpos produzidos em outras espécies. Muitos esforços foram direcionados para superar esse problema com os anticorpos monoclonais, o que discutiremos mais adiante neste capítulo.

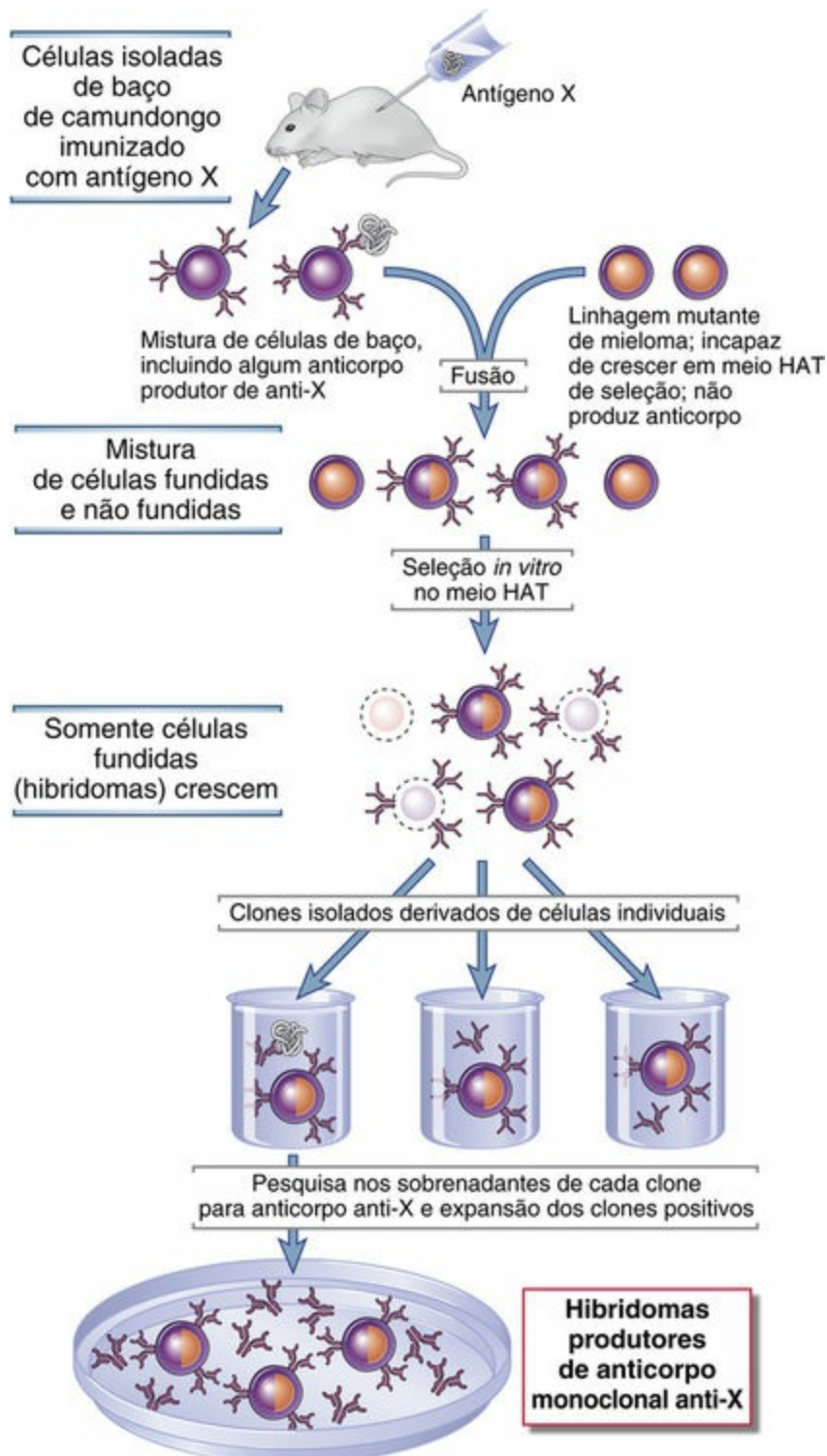
Pequenas diferenças nas sequências estão presentes em anticorpos de indivíduos da mesma espécie, refletindo polimorfismos herdados nos genes que codificam as regiões C das cadeias pesadas e leves da Ig. Quando um variante polimórfico encontrado em alguns indivíduos de uma espécie pode ser reconhecido por um anticorpo, as variantes são referidas como **alótípos** e o anticorpo que reconhece um determinante alotípico é chamado de anticorpo antialotípico. As diferenças entre as regiões V do anticorpo estão concentradas nos CDRs e constituem os **idiótipos** dos anticorpos. Um anticorpo que reconhece algum aspecto dos CDRs de outro anticorpo é assim chamado de anticorpo anti-idiotípico. Existem teorias interessantes de que indivíduos produzem anticorpos anti-idiotípicos contra seus próprios anticorpos que controlam as respostas imunes, mas existem poucas evidências para suportar a importância deste mecanismo potencial da regulação imune.

## Anticorpos Monoclonais

Um tumor de plasmócitos (mieloma ou plasmacitoma), assim como a maioria dos tumores de qualquer origem celular, é monoclonal e, dessa maneira, produz anticorpos de uma única especificidade. Na maioria dos casos, a especificidade do anticorpo derivado do tumor não é conhecida; assim, o anticorpo do mieloma não pode ser usado para detectar ou se ligar a moléculas de interesse. Entretanto, a



descoberta de anticorpos monoclonais produzidos por esses tumores leva à ideia de que pode ser possível produzir anticorpos monoclonais similares de qualquer especificidade desejada com a imortalização de células secretoras de anticorpo individuais de um animal imunizado com um antígeno conhecido. Uma técnica para alcançar isso foi descrita por Georges Kohler e Cesar Milstein em 1975, e ela provou ser um dos avanços mais valiosos em toda a pesquisa científica e medicina clínica. O método se baseia na fusão das células B de um animal imunizado (tipicamente um camundongo) com uma linhagem celular imortalizada de mieloma e o crescimento dessas células sob condições nas quais as células não normais e tumorais que não se fundiram não sobrevivem (Fig. 5-9). As células fundidas resultantes que cresceram são chamadas de **hibridomas**; cada hibridoma produz somente uma Ig, derivada de uma célula B do animal imunizado. Os anticorpos secretados por muitos clones de hibridomas são pesquisados para ligação do anticorpo de interesse, e este único clone com a especificidade desejada é selecionado e expandido. Os produtos destes clones individuais são **anticorpos monoclonais**, cada qual específico para um único epítipo no antígeno usado para imunizar o animal e para identificar os clones secretoras de anticorpo imortalizados.



**FIGURA 5-9** Geração dos anticorpos monoclonais. Neste procedimento, células do baço de um camundongo que foi imunizado com um antígeno conhecido ou uma mistura de antígenos são fundidas com uma linhagem de célula de mieloma deficiente em enzima, pelo uso de agentes químicos como polietilenoglicol, que podem facilitar a fusão das membranas plasmáticas e a formação de células

híbridas que retêm muitos cromossomas de ambas as partes fundidas. A porção mieloma usada é uma que não secreta sua própria Ig. Essas células híbridas são, então, colocadas em um meio de seleção que permite a sobrevivência somente dos híbridos imortalizados; essas células híbridas são colocadas para crescer como clones de células únicas e testadas para a secreção do anticorpo de interesse. O meio de seleção inclui hipoxantina, aminopterina e timidina, sendo chamado de meio HAT. Existem duas vias de síntese de purina na maioria das células: a via *de novo*, que necessita de tetraidrofolato, e a via de salvação, que usa a enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT). As células de mieloma que não têm a HGPRT são utilizadas como partes da fusão, e elas normalmente sobrevivem usando a síntese de novo da purina. Na presença de aminopterina, o tetrafolato não é produzido, resultando em defeito na síntese *de novo* da purina e, também, em um defeito específico na biossíntese da pirimidina, ou seja, na geração de TMP a partir de dUMP. As células híbridas recebem a HGPRT dos esplenócitos e têm a capacidade para proliferação descontrolada da porção mieloma; se forem adicionadas hipoxantina e timidina, essas células podem produzir DNA na ausência de tetraidrofolato. Como resultado, somente as células híbridas sobrevivem no meio HAT.

Os anticorpos monoclonais têm inúmeras aplicações práticas na pesquisa e diagnóstico médicos e na terapia. Algumas das suas aplicações comuns incluem as seguintes:

- **Identificação de marcadores fenotípicos únicos aos tipos celulares particulares.** A base para a classificação moderna dos linfócitos e outros leucócitos é o reconhecimento de populações celulares individuais por anticorpos monoclonais específicos. Esses anticorpos têm sido usados para definir os marcadores dos *clusters* de diferenciação (CD) para vários tipos celulares (Cap. 2).
- **Imunodiagnóstico.** O diagnóstico de muitas doenças infecciosas e sistêmicas se baseia na detecção de antígenos ou anticorpos particulares no sangue, urina ou tecidos pelo uso de anticorpos monoclonais em imunoenaios (Apêndice IV).
- **Identificação tumoral.** Anticorpos monoclonais marcados e específicos para várias proteínas celulares são usados para determinar a fonte tecidual de tumores por meio da coloração de seções tumorais histológicas.
- **Terapia.** Avanços na pesquisa médica levaram à identificação de células e

moléculas que estão envolvidas na patogênese de muitas doenças. Anticorpos monoclonais, em razão da sua estranha especificidade, fornecem os meios para que essas células e moléculas sejam alvo. Um número de anticorpos monoclonais atualmente é usado terapêuticamente ([Tabela 5-3](#)). Alguns exemplos incluem anticorpos contra a citocina fator de necrose tumoral (TNF) usada para tratamento da artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias, anticorpos contra CD20 para o tratamento de leucemias de célula B e para a depleção das células B em certos distúrbios autoimunes, anticorpos contra receptores do fator de crescimento epidermal para serem alvos em células de câncer, anticorpos contra fator de crescimento endotelial vascular (uma citocina que promove angiogênese) em pacientes com câncer de cólon, e assim por diante.

## Tabela 5-3

### Anticorpos Monoclonais em Uso Clínico

Alvo	Efeito	Doenças
Doenças Inflamatórias (Imunológicas)		
Integrinas $\alpha 4$	Bloqueio da saída célula imune para intestino e CNS	Doença de Crohn, esclerose múltipla
BAFF	Inibição da sobrevivência da célula B	Lúpus eritematoso sistêmico
CD3	Depleção de células T	Transplante
CD11a	Bloqueio da migração da célula inflamatória	Psoríase
CD20	Depleção de células B	Linfomas de células B, artrite reumatoide, esclerose múltipla, outras doenças autoimunes
CD25 (IL-2R $\alpha$ )	Inibição da função da célula T	Transplante
IgE	Bloqueio da função da IgE	Alergia relacionada com a asma
Receptor de IL-6	Bloqueio da inflamação	Artrite reumatoide
TNF	Bloqueio da inflamação	Artrite reumatoide, doença de Crohn, psoríase
Câncer		
CD30	Depleção de linfócitos	Linfoma anaplásico de células grandes, linfoma de Hodgkin
CD33	Depleção de células mielóides; ativação da sinalização inibitória em células mielóides	Leucemia mielogênica aguda
CD52	Depleção de linfócitos	Leucemia linfocítica crônica
CTLA-4	Ativação de células T	Melanoma
EGFR	Inibição do crescimento de tumores epiteliais	Cânceres colorretal, de pulmão e cabeça e pescoço
HER2/Neu	Inibição da sinalização de EGF; depleção de células tumorais	Câncer de mama
PD-1	Ativação de células T efetoras	Melanoma, carcinoma de célula renal, outros tumores
PD-L1	Ativação de células T efetoras	Melanoma, carcinoma de célula renal, outros tumores
VEGF	Bloqueio da angiogênese tumoral	Câncer de mama, câncer de cólon, degeneração macular relacionada com a idade
CD20 (ver acima)		
Outras Doenças		
C5	Bloqueio da lise mediada por complemento	Hemoglobinúria paroxismal noturna, síndrome urêmica hemolítica atípica
Glicoproteína IIb/IIIa	Inibição da agregação plaquetária	Doença cardiovascular
Ligante Rank	Bloqueio da sinalização de RANK	Osteoporose pós-menopausa, metástase óssea dos tumores sólidos
Proteína RSV	Bloqueio da entrada viral	Infecção viral sincicial respiratória

*BAFF*, família de fator de ativação celular; *CTLA-4*, antígeno-4 do linfócito T citotóxico; *EGFR*, receptor do fator de crescimento epidermal; *HER2/Neu*, receptor 2 do fator de crescimento epidermal humano/Neu; *PD-1*, morte-1 programada; *RSV*, vírus sincicial respiratório; *TNF*, fator de necrose tumoral, *VEGF*, fator de crescimento endotelial vascular.

• **Análise funcional da superfície celular e moléculas secretadas.** Na pesquisa biológica, os anticorpos monoclonais que se ligam a moléculas da superfície celular e estimulam ou inibem funções celulares em particular são ferramentas valiosas para a definição das funções das moléculas de superfície, incluindo receptores para antígenos. Anticorpos monoclonais também são amplamente usados para a purificação de populações celulares selecionadas a partir de misturas complexas, para facilitar o estudo das propriedades e funções dessas células.

Uma das limitações dos anticorpos monoclonais para terapia é que eles são mais facilmente produzidos com a imunização de camundongos, porém pacientes tratados com anticorpos murinos podem produzir anticorpos contra a Ig de camundongo,

chamada de anticorpo humano anticamundongo (HAMA). Esses anticorpos Ig bloqueiam a função ou aumentam a eliminação do anticorpo monoclonal injetado e também podem causar um distúrbio denominado doença do soro (Cap. 19). Técnicas de engenharia genética têm sido usadas para expandir a utilidade dos anticorpos monoclonais. Os DNAs complementares (cDNAs) que codificam as cadeias polipeptídicas de um anticorpo monoclonal podem ser isolados de um hibridoma, e esses genes podem ser manipulados *in vitro*. Como discutido anteriormente, somente porções pequenas da molécula do anticorpo são responsáveis pela ligação ao antígeno; a molécula remanescente do anticorpo pode ser parte de uma malha. Esta organização estrutural permite que segmentos de DNA que codificam os locais de ligação do antígeno de um anticorpo monoclonal murino sejam inseridos no cDNA que codifica uma proteína de mieloma humano, criando um gene híbrido. Quando ele é expresso, a proteína híbrida resultante, que retém a especificidade antigênica do monoclonal murino original, mas tem a estrutura da Ig humana, é referida como um anticorpo humanizado. Anticorpos monoclonais humanos completos também são utilizados na clínica. Estes são derivados utilizando métodos de apresentação ou em camundongos com células B expressando transgenes humanos de Ig. Anticorpos humanizados são muito menos propensos do que monoclonais de camundongo a parecerem estranhos em humanos e induzir respostas anti-anticorpo. Entretanto, uma proporção de indivíduos que recebem anticorpos monoclonais completamente humanizados para terapia desenvolve anticorpos de bloqueio, por razões desconhecidas.

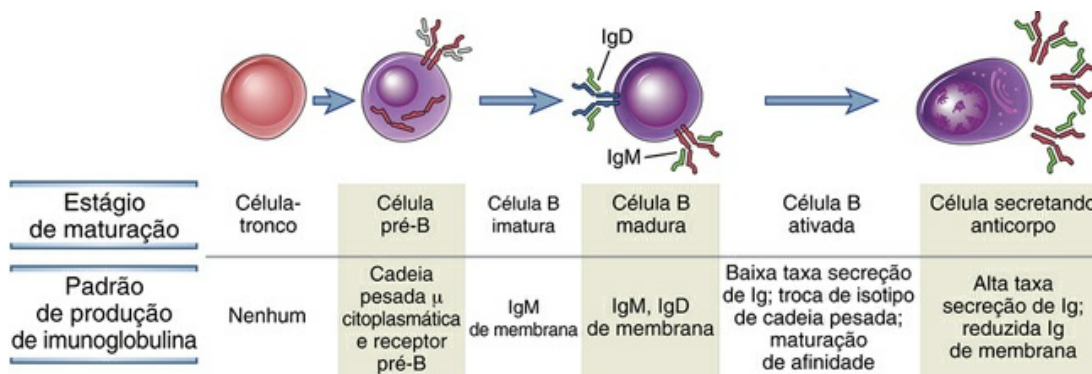
## Síntese, montagem e expressão das moléculas de Ig

As cadeias pesadas e leves da imunoglobulina, assim como a maioria das proteínas secretadas e de membrana, são sintetizadas em ribossomas ligados à membrana no retículo endoplasmático rugoso. A proteína é translocada para o retículo endoplasmático, e as cadeias pesadas da Ig são N-glicosiladas durante o processo de translocação. A dobra apropriada das cadeias pesadas da Ig e sua montagem com as cadeias leves são reguladas por proteínas residentes no retículo endoplasmático chamadas de chaperones. Essas proteínas, que incluem a calnexina e a molécula BiP (proteína de ligação), se ligam a polipeptídios Ig recentemente sintetizados e garantem que eles sejam retidos ou alvo para a degradação, a menos que dobrem apropriadamente e se encaixem em moléculas de Ig completas. A associação covalente das cadeias pesadas e leves, estabilizada pela formação de pontes dissulfeto, é parte do processo de montagem e também ocorre no retículo endoplasmático. Após a montagem, as moléculas de Ig são liberadas dos chaperones, transportadas para a cisterna do complexo de Golgi em que carboidratos são modificados e, então, encaminhadas para a membrana plasmática em vesículas. Anticorpos da forma membranar são ancorados na membrana



plasmática, e a forma secretada é transportada para fora da célula.

**A maturação das células B dos progenitores da medula óssea é acompanhada por alterações específicas na expressão do gene da Ig, resultando na produção de moléculas de Ig em diferentes formas (Fig. 5-10).** A célula mais inicial na linhagem do linfócito B e que produz polipeptídeos Ig, chamada de célula pré-B, sintetiza a forma membranar da cadeia pesada  $\mu$ . Essas cadeias  $\mu$  se associam a proteínas chamadas cadeias leves suplentes, para formar o receptor da célula pré-B, e uma pequena proporção do receptor da célula pré-B sintetizado é expressa na superfície celular. Células B imaturas e maduras produzem cadeias leves  $\kappa$  ou  $\lambda$ , que se associam às proteínas  $\mu$  para formar moléculas de IgM. As células B maduras expressam formas membranares de IgM e IgD (cadeias pesadas  $\mu$  e  $\delta$  associadas a cadeias leves  $\kappa$  ou  $\lambda$ ). Esses receptores Ig de membrana servem como receptores da superfície celular que reconhecem antígenos e iniciam o processo da ativação da célula B. O receptor da célula pré-B e o receptor de antígeno da célula B estão não covalentemente associados a duas outras proteínas de membrana, Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ , que servem para funções de sinalização e são essenciais para a expressão de IgM e IgD na superfície. Discutiremos os eventos moleculares e celulares na maturação da célula B subjacentes a essas alterações na expressão do anticorpo no [Capítulo 8](#).



**FIGURA 5-10** Expressão de Ig durante a maturação do linfócito.

Estágios na maturação do linfócito B são mostrados com mudanças na produção das cadeias pesadas e leves de Ig. As cadeias pesadas de IgM são mostradas em vermelho, as cadeias pesadas de IgD estão em azul e as cadeias leves em verde. Os eventos moleculares que acompanham essas alterações serão discutidos nos [Capítulos 8 e 12](#).

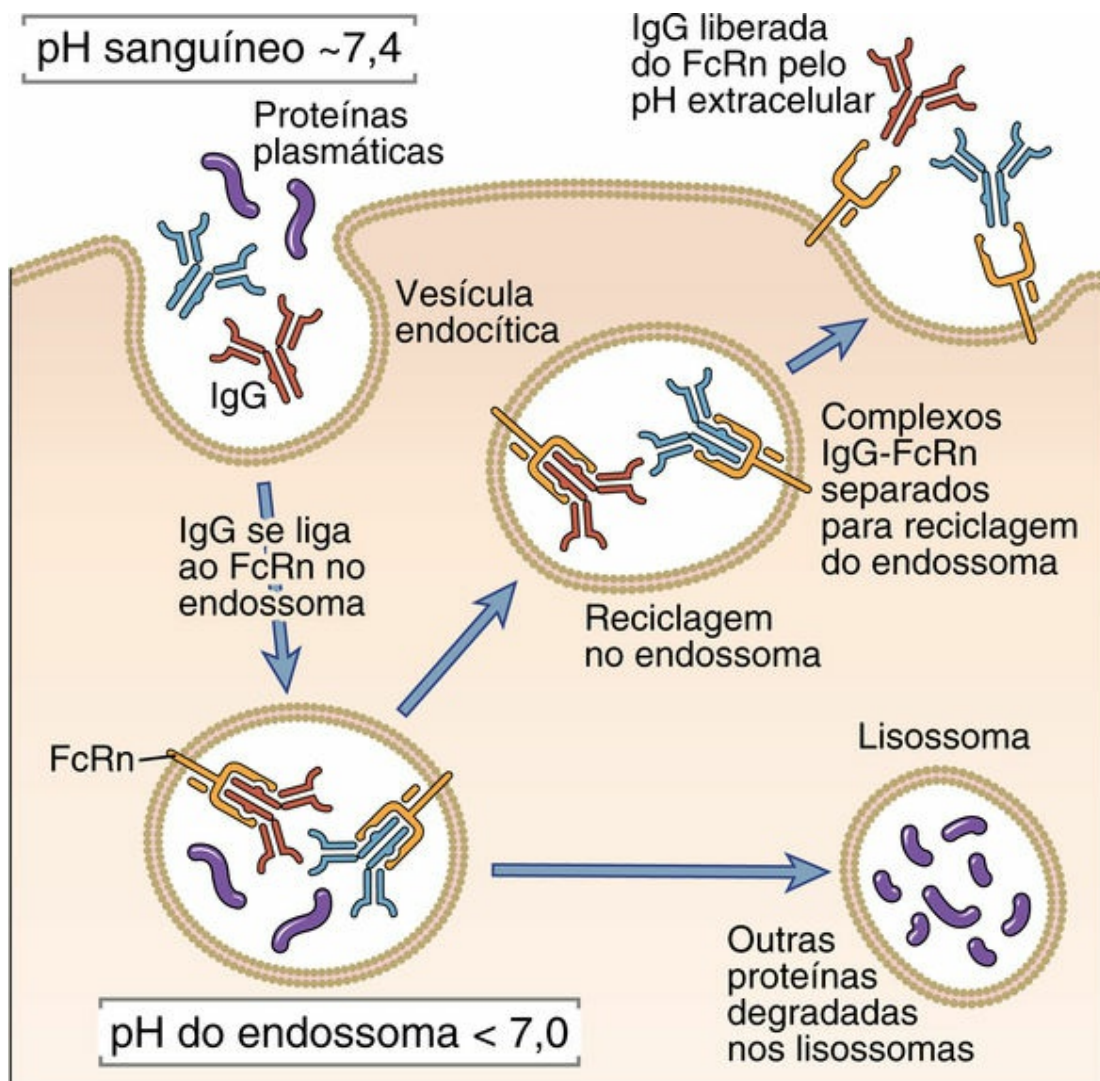
Quando linfócitos B maduros são ativados pelos antígenos e outros estímulos, as células se diferenciam em células secretoras de anticorpos. Esse processo também é acompanhado por mudanças no padrão de produção da Ig. Uma das mudanças é a

produção aumentada da forma secretada de Ig relativa à forma membranar. Esta alteração ocorre no nível de processamento pós-translacional. A segunda mudança é a expressão de isotipos de cadeia pesada diferentes da IgM e IgG, chamados de troca de isotipos (ou classe) de cadeias pesadas. Mudanças na expressão do anticorpo que ocorrem após a ativação da célula B serão discutidas no [Capítulo 12](#).

## Meia-vida dos Anticorpos

A meia-vida dos anticorpos circulantes é uma medida de quanto tempo esses anticorpos permanecem no sangue após a secreção pelas células B (ou após a injeção, como no caso de um anticorpo administrado). A meia-vida é o tempo médio antes que o número de moléculas de anticorpo seja reduzido à metade. Diferentes isotipos de anticorpo têm meias-vidas muito diferentes na circulação (embora a IgE ligada à célula associada ao receptor de IgE de alta afinidade no mastócito tenha pequena meia-vida; consulte o [Cap. 20](#)). A IgA circulante possui meia-vida de cerca de 3 dias, e a IgM circulante tem meia-vida de aproximadamente 4 dias. Em contrapartida, as moléculas de IgG circulantes têm meia-vida de cerca de 21 a 28 dias.

A longa meia-vida da IgG é atribuída à sua habilidade em se ligar a um FcR específico chamado de **receptor Fc neonatal** (FcRn), que também está envolvido no transporte da IgG da circulação materna através da barreira placentária, bem como na transferência de IgG materna através do intestino nos neonatos. O FcRn se assemelha estruturalmente às moléculas de MHC de classe I (descritas no [Cap. 6](#)), e na placenta e no intestino de neonatos, ele move moléculas de IgG através das células sem transportá-las para os lisossomas. Em vertebrados adultos, o FcRn é encontrado na superfície das células endoteliais, macrófagos e outros tipos celulares e se liga à IgG micropinocitada nos endossomas ácidos. O FcRn não tem como alvo a IgG ligada aos lisossomas, mas recicla para a superfície celular e o libera em pH neutro, retornando a IgG para a circulação ([Fig. 5-11](#)). Este sequestro intracelular da IgG longe dos lisossomas a previne de ser rapidamente degradada, como ocorre como a maioria das outras proteínas séricas, incluindo outros isotipos de anticorpo, e como resultado, a IgG tem meia-vida relativamente longa. Existem diferenças nas meias-vidas de quatro isotipos de IgGs humanas. A IgG3 tem meia-vida relativamente curta porque se liga fracamente ao FcRn. A IgG1 e a IgG3 são as de meia-vida mais longa e mais eficientes em termos de funções efetoras, como será discutido no [Capítulo 13](#).



**FIGURA 5-11** FcRn contribui para a longa meia-vida das moléculas de IgG.

As moléculas de IgG micropinocitadas nas células endoteliais se ligam ao FcRn, um receptor ligante de IgG no meio ambiente ácido dos endossomas. Nas células endoteliais, o FcRn direciona as moléculas de IgG para longe da degradação lisossomal e as libera quando as vesículas se fundem com a superfície celular, expondo os complexos FcRn-IgG ao pH neutro.

A longa meia-vida da IgG tem sido usada para fornecer uma vantagem terapêutica para certas proteínas injetadas por causa da produção de proteínas de fusão contendo a parte biologicamente ativa da proteína e a porção Fc da IgG. A porção Fc permite que as proteínas se liguem ao FcRn e, assim, estendam as meias-vidas das proteínas injetadas. Uma proteína de fusão terapeuticamente útil é o TNFR-Ig, que consiste em um domínio extracelular do receptor de tipo II do TNF (TNFR) fundido com um domínio Fc da IgG; ela é usada para tratar certos distúrbios autoimunes, tais

como artrite reumatoide e psoríase, nas quais ela bloqueia as ações inflamatórias do TNF. Outra proteína de fusão terapeuticamente útil é a CTLA4-Ig, que contém o domínio extracelular do receptor de CTLA-4, que se liga aos coestimuladores B7 (Fig. 9-7), fundidos à porção Fc da IgG humana; ela também tem sido útil no tratamento da artrite reumatoide e pode servir mais amplamente como um agente terapêutico imunossupressor.

## Ligação dos anticorpos a antígenos

Todas as funções dos anticorpos são dependentes de sua habilidade em se ligar especificamente a antígenos. Abordaremos agora a natureza dos antígenos e como eles são reconhecidos pelos anticorpos.

## Características dos Antígenos Biológicos

**Um antígeno é qualquer substância que pode ser especificamente ligada por uma molécula de anticorpo ou receptor de célula T.** Os anticorpos podem reconhecer como antígenos praticamente todos os tipos de moléculas biológicas, incluindo simples metabólitos intermediários, açúcares, lipídios, autacoides e hormônios, bem como macromoléculas tais como carboidratos complexos, fosfolipídios, ácidos nucleicos e proteínas. Isso se contrapõe às células T, que reconhecem principalmente peptídios (Cap. 6).

**Embora todos os antígenos sejam reconhecidos por linfócitos específicos ou por anticorpos, somente alguns deles são capazes de ativar os linfócitos.** Moléculas que estimulam as respostas imunes são chamadas de **imunógenos**. Macromoléculas são efetivas para estimular os linfócitos B a iniciarem as respostas imunes humorais, porque a ativação da célula B necessita que múltiplos receptores de antígenos sejam mantidos juntos (ligação cruzada). Agentes químicos pequenos, tais como dinitrofenol, podem se ligar aos anticorpos e são, portanto, antígenos, mas não podem ativar as células B por si só (i.e., eles não são imunogênicos). Para gerar anticorpos específicos para esses agentes químicos pequenos, os imunologistas comumente ligam múltiplas cópias destas pequenas moléculas a uma proteína ou polissacarídeo antes da imunização. Nestes casos, a pequena molécula química é chamada de **hapteno** e a molécula grande à qual ele está conjugado é denominada **carreador**. O complexo hapteno-carreador, ao contrário do hapteno livre, pode agir como um imunógeno (Cap. 12).

Macromoléculas, tais como proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos, normalmente são muito maiores do que a região de ligação do antígeno de uma molécula de anticorpo (Fig. 5-6). Dessa maneira, qualquer anticorpo se liga a somente uma porção da macromolécula, que é chamada de **determinante** ou um **epítipo**. Estas duas palavras são sinônimos usados indistintamente ao longo deste

livro. Macromoléculas contêm tipicamente múltiplos determinantes, alguns dos quais podem ser repetidos e cada um, por definição, pode estar ligado por um anticorpo. A presença de múltiplos determinantes idênticos em um antígeno é referida como **polivalência** ou **multivalência**. A maioria das proteínas globulares não contém múltiplos epítomos idênticos e não é polivalente, a menos que eles estejam em agregados. No caso dos polissacarídeos e ácidos nucleicos, muitos epítomos idênticos podem ser regularmente espaçados e as moléculas são ditas serem polivalentes. Superfícies celulares, incluindo microrganismos, frequentemente exibem matrizes polivalentes ou determinantes antigênicos de carboidrato ou proteína. Os antígenos polivalentes podem induzir o agrupamento do receptor da célula B e, assim, iniciar o processo de ativação da célula B (Cap. 7).

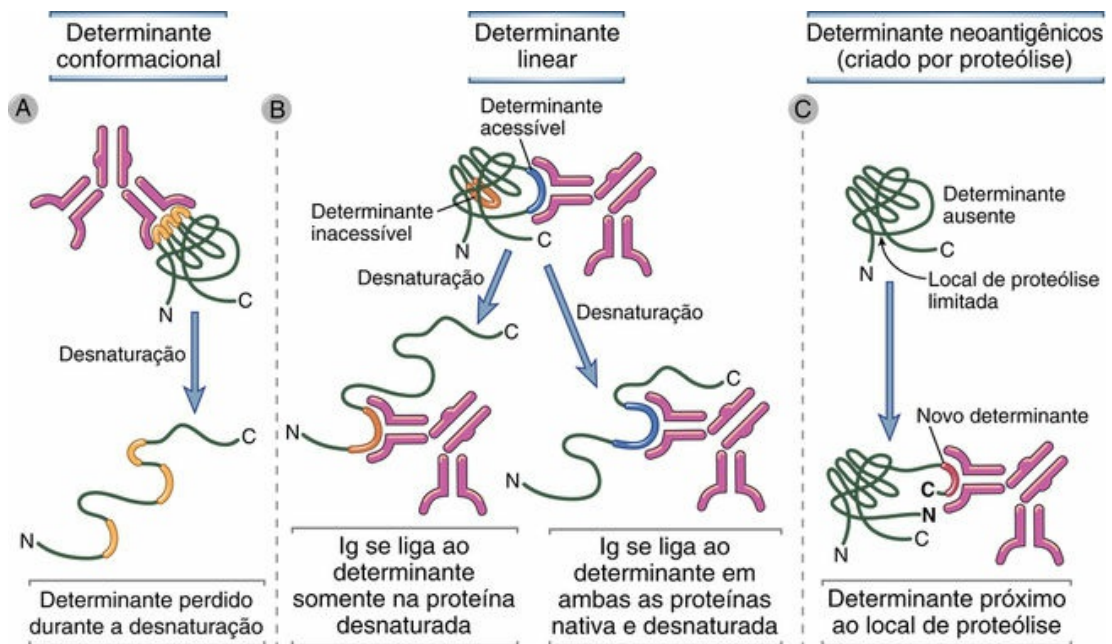
***A organização espacial de diferentes epítomos em uma única molécula de proteína pode influenciar a ligação dos anticorpos de várias maneiras.***

Quando os determinantes estão bem separados, duas ou mais moléculas de anticorpo podem ser ligadas ao mesmo antígeno proteico, sem influenciar cada um; tais determinantes são ditos serem não sobrepostos. Quando dois determinantes estão próximos um do outro, a ligação do anticorpo ao primeiro determinante pode causar uma interferência estérica com a ligação do anticorpo ao segundo; tais determinantes são ditos estarem sobrepostos. Em raros casos, a ligação de um anticorpo pode causar uma alteração conformacional na estrutura do antígeno, influenciando positiva ou negativamente a ligação de um segundo anticorpo a outro local na proteína por outros meios além do impedimento estérico. Essas interações são chamadas de efeitos aloestéricos.

***Qualquer forma ou superfície disponível em uma molécula que possa ser reconhecida por um anticorpo constitui um determinante antigênico ou epítomo.*** Os determinantes antigênicos podem ser delineados em qualquer tipo de composto, incluindo, mas não restrito a, carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. No caso das proteínas, a formação de alguns determinantes depende somente da estrutura primária e a formação de outros determinantes reflete a estrutura terciária ou conformação (forma) (Fig. 5-12). Os epítomos formados pelos vários resíduos adjacentes de aminoácidos são chamados de determinantes lineares. O local de ligação do antígeno de um anticorpo pode normalmente acomodar um determinante linear composto por cerca de seis aminoácidos. Se os determinantes lineares surgem na superfície externa ou em uma região de conformação estendida na proteína dobrada nativa, eles podem ser acessíveis aos anticorpos. Em outros casos, os determinantes lineares podem estar inacessíveis na conformação nativa e aparecem somente quando a proteína é desnaturada. Em contrapartida, os determinantes conformacionais são formados por resíduos de aminoácidos que não estão em sequência, mas se tornam espacialmente justapostos na proteína dobrada. Anticorpos específicos para certos determinantes lineares e anticorpos específicos para determinantes conformacionais podem ser usados para verificar se uma



proteína está desnaturada ou em sua conformação nativa, respectivamente. As proteínas podem estar sujeitas a modificações como glicosilação, fosforilação, ubiquitinação, acetilação e proteólise. Essas modificações, por alteração na estrutura da proteína, podem produzir novos epítomos. Tais epítomos são chamados de determinantes neoantigênicos, e eles também podem ser reconhecidos por anticorpos específicos.



**FIGURA 5-12** A natureza dos determinantes antigênicos.

Os determinantes antigênicos (mostrados em laranja, vermelho e azul) podem depender da dobra da proteína (conformação), bem como da estrutura primária. Alguns determinantes são acessíveis nas proteínas nativas e são perdidos na desnaturação (A), ao passo que outros são expostos somente na proteína não dobrada (B).

Neodeterminantes surgem de modificações pós-síntese, tais como clivagem de ligação peptídica (C).

## Bases Estruturais e Químicas da Ligação do Antígeno

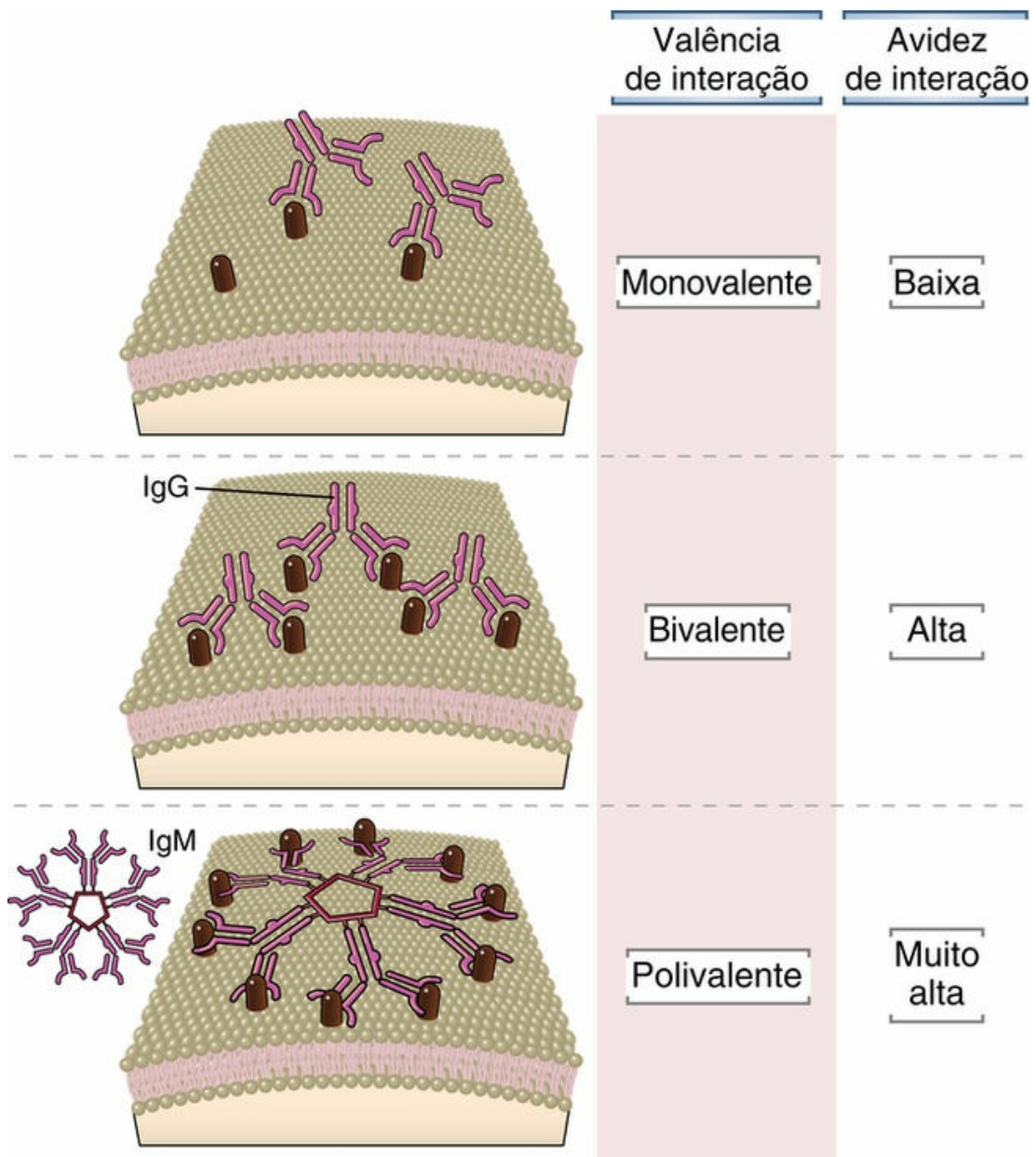
**Os locais de ligação de muitos anticorpos a antígenos são superfícies planares que podem acomodar epítomos conformacionais de macromoléculas, permitindo que os anticorpos se liguem às grandes macromoléculas (Fig. 5-6).** Os seis CDRs, três de cadeia pesada e três de cadeia leve, podem se espalhar para formar uma grande superfície. Em um número de anticorpos específicos para pequenas moléculas, tais como monossacarídeos e



fármacos, o antígeno é ligado a uma fenda gerada pela aposição próxima dos CDRs dos domínios  $V_L$  e  $V_H$ .

**O reconhecimento do antígeno pelo anticorpo envolve ligação não covalente e reversível.** Vários tipos de interações não covalentes podem contribuir para a ligação do anticorpo ao antígeno, incluindo forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals e interações hidrofóbicas. A importância de cada um desses depende das estruturas do local de ligação de um anticorpo individual e de um determinante antigênico. A força da ligação entre um único local de combinação de um anticorpo e um epítipo de um antígeno é chamada de **afinidade** do anticorpo. A afinidade comumente é representada por uma constante de dissociação ( $K_D$ ), que indica como é fácil separar um complexo antígeno-anticorpo em seus constituintes. Um  $K_D$  menor indica uma interação de afinidade mais forte ou maior porque uma menor concentração de antígeno e de um anticorpo é necessária para a formação do complexo. O  $K_D$  dos anticorpos produzidos em respostas imunes humorais típicas normalmente varia de cerca de  $10^{-7}$  M a  $10^{-11}$  M. O soro de um indivíduo imunizado conterá uma mistura de anticorpos com diferentes afinidades para o antígeno, dependendo primariamente das sequências de aminoácidos dos CDRs.

Pelo fato de a região de dobradiça dos anticorpos conferir flexibilidade, um único anticorpo pode se ligar a um único antígeno multivalente em mais de um local de ligação. Para a IgG ou IgE, essa ligação pode envolver, no máximo, dois locais de ligação, um de cada Fab. Para a IgM pentamérica, entretanto, um único anticorpo pode se ligar a até 10 diferentes locais (Fig. 5-13). Antígenos polivalentes terão mais de uma cópia de um determinante em particular. Embora a afinidade de qualquer local de ligação de antígeno seja a mesma para cada epítipo de um antígeno polivalente, a força da ligação do anticorpo ao antígeno deve levar em conta a ligação de todos os locais a todos os epítopos disponíveis. Esta força geral de ligação é chamada de **avidez** e é muito maior do que a afinidade a qualquer local de ligação do antígeno. Assim, a molécula de IgM de baixa afinidade ainda pode se ligar fracamente ao antígeno polivalente porque muitas interações de baixa afinidade (até 10 por molécula de IgM) podem produzir uma interação de alta avidez.

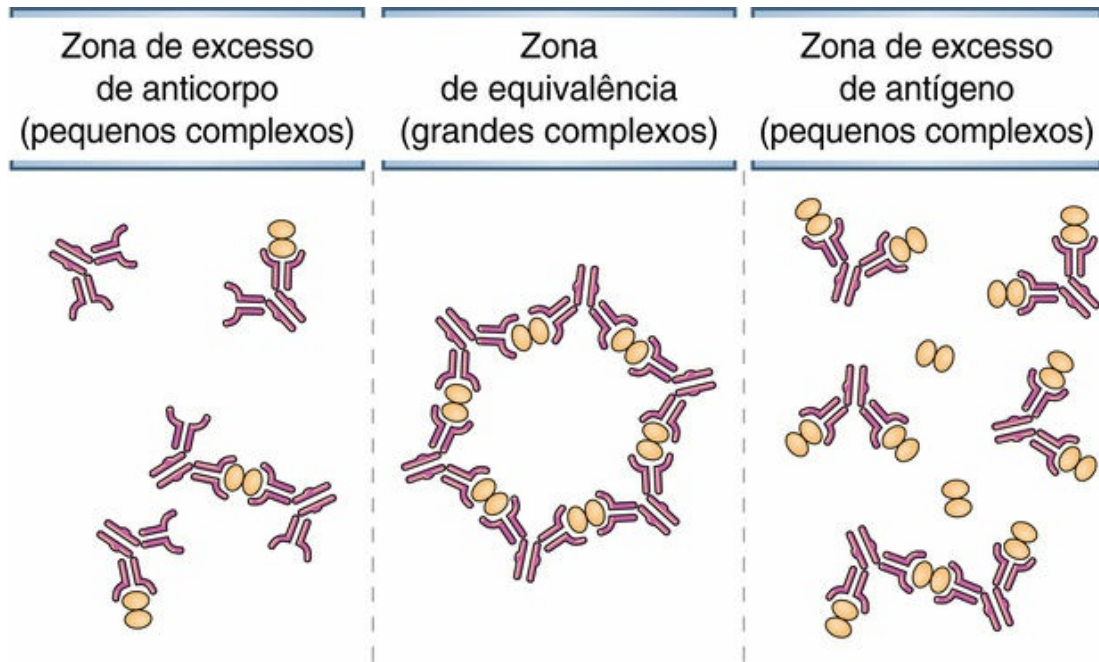


**FIGURA 5-13** Valência e avidéz das interações anticorpo-antígeno.

Antígenos monovalentes, ou epítomos espaçados distantes nas superfícies celulares, irão interagir com um único local de ligação de uma molécula de anticorpo. Embora a afinidade desta interação possa ser alta, a avidéz total pode ser relativamente baixa. Quando determinantes repetidos em uma superfície celular estão próximos o suficiente, ambos os locais de ligação do antígeno de uma única molécula de IgG podem se ligar, levando a uma interação de avidéz bivalente mais alta. A região de dobradiça da molécula de IgG acomoda a alteração na forma necessária para a ocupação simultânea de ambos os locais de ligação. As moléculas de IgM têm 10

locais idênticos de ligação do antígeno que pode se ligar teoricamente simultaneamente com 10 determinantes repetidos na superfície celular, resultando em interação polivalente de alta avidéz.

Antígenos polivalentes são importantes pelo ponto de vista da ativação da célula B, como discutido anteriormente. Interações polivalentes entre o antígeno e o anticorpo também têm significado biológico, uma vez que muitas funções efetoras dos anticorpos são disparadas otimamente quando duas ou mais moléculas de anticorpos são mantidas próximas e juntas pela ligação a um antígeno polivalente. Se um antígeno polivalente é misturado com um anticorpo específico em um tubo de ensaios, os dois interagem para formar **imunocomplexos** (Fig. 5-14). Na concentração correta, denominada zona de equivalência, anticorpo e antígeno formam uma malha extensamente cruzada de moléculas ligadas, de tal forma que a maioria ou todas as moléculas de antígeno e anticorpo estão complexadas em grandes massas. Os imunocomplexos podem ser dissociados em agregados menores pelo aumento da concentração do antígeno, de modo que moléculas de antígeno livre deslocarão o antígeno ligado ao anticorpo (zona de excesso de antígeno), ou pelo aumento da concentração do anticorpo, de modo que as moléculas de anticorpo livre deslocarão o anticorpo ligado aos determinantes antigênicos (zona de excesso de anticorpo). Se uma zona de equivalência é alcançada *in vivo*, grandes imunocomplexos podem se formar na circulação. Os imunocomplexos que são presos ou formados nos tecidos podem iniciar uma reação inflamatória, resultando em doenças de imunocomplexos (Cap. 19).



**FIGURA 5-14** Complexos antígeno-anticorpo. Os tamanhos dos complexos antígeno-anticorpo (imune) são uma função das concentrações relativas do antígeno e do anticorpo. Grandes complexos são formados em concentrações de antígenos e anticorpos multivalentes que são ditos como zona de equivalência; os complexos são menores em antígeno relativo ou excesso de anticorpo.

## Relação estrutura-função nas moléculas de anticorpo

Muitas características estruturais dos anticorpos são críticas para sua habilidade em reconhecer os antígenos e para suas funções efetoras. Na seção a seguir, resumiremos como a estrutura dos anticorpos contribui para suas funções.

## Características Relacionadas com o Reconhecimento do Antígeno

Os anticorpos são capazes de reconhecer especificamente uma grande variedade de antígenos com afinidades variadas. Todas as características do reconhecimento do antígeno refletem as propriedades das regiões V do anticorpo.

### Especificidade

Os anticorpos podem ser notavelmente específicos para os antígenos, diferenciando entre pequenas distinções na estrutura química. Experimentos realizados no início do século XX demonstraram que anticorpos produzidos na presença de um hapteno

aminobenzeno com um grupo sulfonato metassubstituído se ligarão fortemente a este hapteno, mas fracamente ou não a todos os isômeros orto ou parassubstituídos. Esses antígenos são estruturalmente similares e se diferenciam somente na localização do grupo sulfonato do anel benzeno.

A fina especificidade dos anticorpos se aplica ao reconhecimento de todas as classes de moléculas. Por exemplo, os anticorpos podem diferenciar entre dois determinantes proteicos lineares, distinguindo em somente uma única substituição de aminoácidos conservados que tem pouco efeito na estrutura secundária. Este alto grau de especificidade é necessário para que anticorpos gerados em resposta aos antígenos de um microrganismo normalmente não reajam com as próprias moléculas estruturalmente similares ou com os antígenos de outros microrganismos. Entretanto, alguns anticorpos produzidos contra um antígeno podem se ligar a um antígeno diferente, mas estruturalmente relacionado. Isso é conhecido como **reação cruzada**. Os anticorpos que são produzidos em resposta a um antígeno microbiano algumas vezes têm reação cruzada com os próprios antígenos, o que pode ser a base de certas doenças imunológicas ([Cap. 19](#)).

## Diversidade

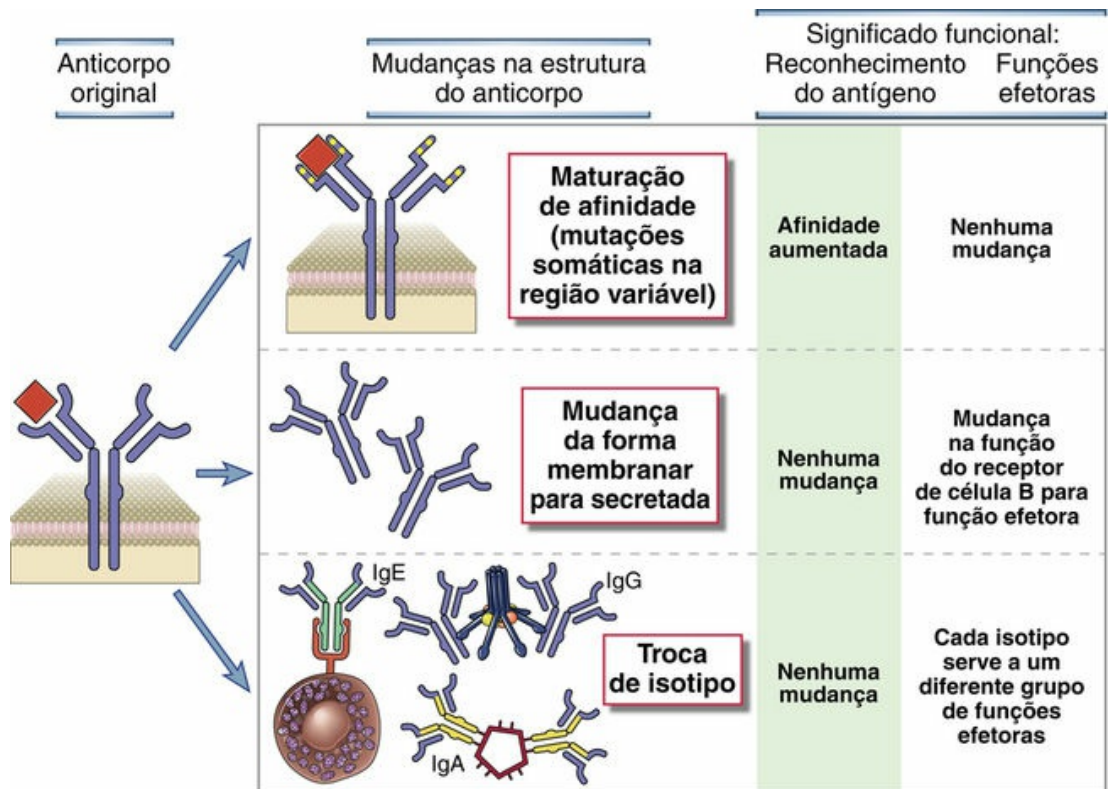
Como discutimos anteriormente neste capítulo, um indivíduo é capaz de produzir um grande número de anticorpos estruturalmente distintos, talvez na ordem dos milhões, cada um com uma especificidade distinta. A habilidade dos anticorpos em qualquer indivíduo de se ligar especificamente a um grande número de diferentes antígenos é um reflexo da **diversidade** do anticorpo, e a coleção total de anticorpos com diferentes especificidades representa o **repertório** do anticorpo. Os mecanismos genéticos que geram repertório tão grande de anticorpos ocorrem exclusivamente em linfócitos. Essa diversidade é gerada pela recombinação randômica de um quadro limitado de sequências de DNA herdadas para formar genes funcionais que codificam as regiões V das cadeias pesadas e leves, abem como pela adição de sequências de nucleotídios durante o processo de recombinação. Discutiremos esses mecanismos em detalhes no [Capítulo 8](#). As inúmeras variações na estrutura estão concentradas nas regiões hipervariáveis de ligação do antígeno de ambas as cadeias pesada e leve e, assim, determinam a especificidade para os antígenos.

## Maturação de Afinidade

A habilidade dos anticorpos em neutralizar toxinas e microrganismos infecciosos é dependente da firme ligação dos anticorpos. Como discutimos, a firme ligação é alcançada pelas interações de alta afinidade e alta avidéz. O mecanismo para a geração de anticorpos de alta afinidade envolve sutis mudanças na estrutura das regiões V dos anticorpos durante as respostas imunes humorais dependentes de célula T aos antígenos proteicos. Essas alterações acontecem por um processo de mutação somática em linfócitos B estimulados pelo antígeno e que gera novas

estruturas no domínio V, algumas das quais se ligam ao antígeno com maior afinidade do que o fazem os domínios originais ([Fig. 5-15](#)). Aquelas células B produzindo anticorpos de maior afinidade se ligam preferencialmente ao antígeno e, como resultado da seleção, se tornam células B dominantes com cada exposição subsequente ao antígeno. Este processo, chamado de **maturação da afinidade**, resulta em um aumento na afinidade média de ligação dos anticorpos para um antígeno à medida que a resposta imune evolui. Dessa maneira, um anticorpo produzido durante uma resposta imune primária a um antígeno proteico frequentemente tem um  $K_D$  na faixa de  $10^{-7}$  a  $10^{-9}$  M; nas respostas secundárias, a afinidade aumenta, com um  $K_D$  de  $10^{-11}$  M ou mesmo menos. Abordaremos os mecanismos da maturação da afinidade no [Capítulo 12](#).





**FIGURA 5-15** Mudanças na estrutura do anticorpo durante as respostas imunes humorais.

A ilustração descreve as mudanças na estrutura dos anticorpos que podem ser produzidos pela progênie de células B ativadas (um clone) e as alterações na função. Durante a maturação da afinidade, mutações na região V (indicada por pontos amarelos) levam a alterações na fina especificidade, sem mudanças nas funções efetoras dependente da região C. Células B ativadas podem modificar a produção de anticorpos grandemente ligados à membrana contendo regiões transmembranares e citoplasmáticas para anticorpos secretados. Os anticorpos secretados podem mostrar ou não mutações no gene V (i.e., de roxo para verde ou amarelo), sem alterações na região V de ligação ao antígeno. A troca de isotipo é vista em anticorpos ligados à membrana e secretados. Discutiremos as bases moleculares para essas alterações no [Capítulo 12](#).

## Características Relacionadas com as Funções Efetoras

**Muitas das funções efetoras das imunoglobulinas são mediadas pelas porções Fc das moléculas, e os isotipos dos anticorpos que diferem nestas regiões Fc realizam funções distintas.** Mencionamos previamente que as funções

efetoras dos anticorpos necessitam da ligação das regiões C da cadeia pesada, que compõem as porções Fc, outras células e proteínas plasmáticas. Por exemplo, a IgG recobre microrganismos e os torna alvo para a fagocitose pelos neutrófilos e macrófagos. Isso ocorre porque a molécula de IgG complexada com o antígeno é capaz de se ligar, através da sua região Fc, aos FcRs específicos da cadeia pesada y que são expressos nos neutrófilos e macrófagos. Em contrapartida, a IgE se liga aos mastócitos e dispara sua desgranulação porque os mastócitos expressam FcRs específicos para a IgE. Outro mecanismo efetor dependente de Fc da imunidade humoral é a ativação da via clássica do sistema complemento. O sistema gera mediadores inflamatórios e promove a fagocitose e lise microbiana. Ambas são iniciadas pela ligação de uma proteína do complemento chamada C1q às porções Fc da IgG ou IgM complexadas com o complemento. Os locais de ligação, FcR e complemento, dos anticorpos são encontrados dentro dos domínios C da cadeia pesada de diferentes isotipos (Fig. 5-1). Discutiremos a estrutura e as funções dos FcRs e proteínas do complemento no [Capítulo 13](#).

***As funções efetoras dos anticorpos são iniciadas somente pelas moléculas de Ig que se ligaram aos antígenos e não pelas Ig livres.*** A razão para somente anticorpos com antígenos ligados ativarem mecanismos efetores é que duas ou mais porções Fc de anticorpos adjacentes são necessárias para se ligar e disparar vários sistemas efetores, tais como proteínas do complemento e fagócitos FcRs (Cap. 13). Essa necessidade de moléculas de anticorpos adjacentes garante que as funções efetoras sejam alvos direcionados especificamente para a eliminação dos antígenos que são reconhecidos pelo anticorpo e que anticorpos livres circulantes não sejam eliminados, e inapropriadamente, disparem respostas efetoras.

***Mudanças nos isotipos dos anticorpos durante as respostas imunes humorais influenciam como as respostas trabalham para erradicar o antígeno.*** Após a estimulação por um antígeno, um único clone das células B produz anticorpos com diferentes isotipos que, não obstante, possuem domínios V idênticos e, portanto, especificidade antigênica idêntica. As células B imaturas produzem simultaneamente IgM e IgD, que agem como receptores de membrana para os antígenos. Quando as células B são ativadas pelos antígenos estranhos, tipicamente de origem microbiana, elas podem passar por um processo chamado de **troca de isotipo (ou classe)** no qual o tipo de região C<sub>H</sub>, e assim o isotipo do anticorpo, produzido pela célula B muda, mas as regiões V e a especificidade não (Fig. 5-15). Como resultado da troca de isotipo, diferentes progênies da célula B original expressando IgM e IgD podem produzir isotipos e subtipos que são mais capazes de eliminar o antígeno. Por exemplo, a resposta do anticorpo a muitas bactérias e vírus é dominada pelos anticorpos IgG, que promovem a fagocitose dos microrganismos, e a resposta aos helmintos consiste principalmente em IgE, que auxilia na destruição dos parasitas. A troca do isotipo de IgG também prolonga a efetividade das respostas imunes humorais por causa da longa meia-vida dos anticorpos IgG. Discutiremos os

mecanismos e significados funcionais da troca de isotipo no [Capítulo 12](#).

**As regiões C da cadeia pesada dos anticorpos também determinam a distribuição tecidual das moléculas de anticorpo.** Como mencionamos anteriormente, após as células B serem ativadas, elas gradualmente perdem a expressão do anticorpo ligado à membrana e o expressam mais como uma proteína secretada ([Fig. 5-15](#)). A IgA pode ser eficientemente secretada através do epitélio mucoso e é a principal classe de anticorpo nas secreções mucosas e no leite ([Cap. 14](#)). Os neonatos são protegidos das infecções pelos anticorpos IgG que eles adquirem das suas mães através da placenta durante a gestação e através do intestino logo após o nascimento. Esta transferência da IgG materna é mediada pelo FcRn, que descrevemos anteriormente como sendo o receptor responsável pela longa meia-vida do anticorpo IgG.

## Resumo

Anticorpos ou imunoglobulinas, são uma família de glicoproteínas estruturalmente relacionadas e produzidas na forma ligada à membrana ou secretadas pelos linfócitos B.

Anticorpos ligados à membrana servem como receptores que medeiam a ativação das células B disparadas pelo antígeno.

Anticorpos secretados funcionam como mediadores da imunidade humoral específica acoplando vários mecanismos efetores que servem para eliminar os antígenos ligados.

As regiões de ligação ao antígeno das moléculas do anticorpo são altamente variáveis, e qualquer indivíduo tem o potencial de produzir milhões de diferentes anticorpos, cada qual com distintas especificidades antigênicas.

Todos os anticorpos têm uma estrutura do núcleo simétrica e comum de duas cadeias pesadas idênticas e ligadas covalentemente e duas cadeias leves idênticas, cada qual ligada a uma das cadeias pesadas. Cada cadeia consiste em dois ou mais domínios Ig independentemente dobrados de cerca de 110 aminoácidos contendo sequências conservadas e pontes dissulfeto intracadeias.

Os domínios N-terminais das cadeias pesadas e leves formam as regiões V das moléculas de anticorpo, que diferem dentre os anticorpos de diferentes especificidades. As regiões V das cadeias pesadas e leves contêm três regiões hipervariáveis separadas de cerca de 10 aminoácidos que são espacialmente montados para formar o local de combinação do antígeno na molécula do anticorpo.

Os anticorpos são classificados em diferentes isotipos e subtipos baseando-se nas diferenças nas regiões C da cadeia pesada, que consiste em três ou quatro domínios C da Ig, e estas classes e subclasses têm diferentes propriedades funcionais. As classes de anticorpos são chamadas de IgM, IgD, IgG, IgE e IgA.

Ambas as cadeias leves de uma única molécula de Ig são do mesmo isotipo de cadeia leve,  $\kappa$  ou  $\lambda$ , que diferem em seus domínios C.

A maioria das funções efetoras dos anticorpos é mediada pelas regiões C das cadeias pesadas, mas essas funções são disparadas pela ligação dos antígenos ao local de combinação na região V.

Os anticorpos monoclonais são produzidos a partir de um único clone de células B e reconhecem um único determinante antigênico. Anticorpos monoclonais podem ser gerados no laboratório e são amplamente usados na pesquisa, diagnóstico e terapia.

Os antígenos são substâncias que se ligam especificamente a anticorpos ou receptores de antígeno no linfócito T. Os antígenos que se ligam aos anticorpos incluem uma grande variedade de moléculas biológicas, entre elas açúcares, lipídios, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos. Isso se contrapõe à maioria dos receptores de antígeno da célula T, que reconhecem somente antígenos peptídicos.

Antígenos macromoleculares contêm múltiplos epítomos, ou determinantes, cada qual pode ser reconhecido por um anticorpo. Epítomos lineares dos antígenos proteicos consistem em uma sequência de aminoácidos adjacentes, e determinantes conformacionais são formados pela dobra da cadeia polipeptídica.

A afinidade da interação entre o local de combinação de uma única molécula de anticorpo e um único epítomo geralmente é representada pela constante de dissociação ( $K_d$ ) calculada a partir de dados de ligação. Antígenos polivalentes contêm múltiplos epítomos idênticos aos quais moléculas de anticorpos idênticos podem se ligar. Os anticorpos podem se ligar a dois ou, no caso da IgM, até 10 epítomos idênticos simultaneamente, levando a aumento na avidéz da interação anticorpo-antígeno.

As concentrações relativas dos antígenos e anticorpos polivalentes podem favorecer a formação de imunocomplexos que podem se depositar nos tecidos e causar dano.

A ligação do anticorpo ao antígeno pode ser altamente específica, distinguindo pequenas diferenças nas estruturas químicas, mas reações cruzadas também podem ocorrer onde dois ou mais antígenos podem se ligar ao mesmo anticorpo.

Várias mudanças na estrutura dos anticorpos feitas por um clone de células B podem ocorrer no curso de uma resposta imune. As células B inicialmente produzem somente Ig ligada à membrana, mas nas células B ativadas e plasmócitos, a Ig com a mesma especificidade de ligação do antígeno do receptor original de Ig ligada à membrana é secretada. Mudanças no uso dos segmentos do gene da região C sem alterações nas regiões V são a bases da troca de isotipo, o que leva a mudanças na função efetora sem uma alteração na especificidade. Mutações pontuais nas regiões V de um anticorpo específico para um antígeno levam à afinidade aumentada para aquele antígeno (maturação de

afinidade).

## Leituras selecionadas

### **Estrutura e Função dos Anticorpos**

Corti, D., Lanzavecchia, A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:705–742.

Danilova, N., Amemiya, C. T. Going adaptive: the saga of antibodies. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009; 1168:130–155.

Fagarasan, S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:170–177.

Law, M., Hengartner, L. Antibodies against viruses: passive and active immunization. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:486–492.

### **Aplicações Terapêuticas dos Anticorpos**

Chan, A. C., Carter, P. J. Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:301–316.

Kohler, G., Milstein, C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predetermined specificity. *Nature*. 1975; 256:495–497.

Lonberg, N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:450–459.

Weiner, L. M., Surana, R., Wang, S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:317–327.

Wilson, P. C., Andrews, S. F. Tools to therapeutically harness the human antibody response. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:709–719.

## CAPÍTULO 6

# Moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade e Apresentação de Antígenos aos Linfócitos T

### PROPRIEDADES DE ANTÍGENOS RECONHECIDAS POR LINFÓCITOS T CAPTURA DE ANTÍGENOS E FUNÇÕES DAS CÉLULAS APRESENTADORAS DE ANTÍGENOS

Papel das Células Dendríticas na Captura e Apresentação de Antígenos

Funções de outras Células Apresentadoras de Antígenos

### COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (MHC)

Descoberta do MHC

Os Genes do MHC

As Moléculas do MHC

Ligação de Peptídios às Moléculas do MHC

### PROCESSAMENTO DE PROTEÍNAS ANTIGÊNICAS

Via de Processamento e Apresentação de Proteínas Citossólicas do MHC da Classe I

Via de Processamento e Apresentação de Proteínas Vesiculares pelo MHC da Classe II

Apresentação Cruzada

Importância Fisiológica da Apresentação de Antígenos Associada ao MHC

### APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS NÃO PROTEICOS A SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS T

### RESUMO

As principais funções dos linfócitos T são erradicar infecções por microrganismos intracelulares e ativar outras células, tais como os macrófagos e os linfócitos B. Para cumprir estas funções, as células T devem superar vários desafios.

- Existem muito poucas células T virgens específicas para determinado antígeno, e este pequeno número deve ser capaz de localizar o antígeno estranho e eliminá-lo. Os microrganismos e outros antígenos podem ser localizados virtualmente em



qualquer local no corpo. É impossível que as poucas células T específicas patrulhem constantemente todos os possíveis tecidos nos quais os antígenos possam entrar ou ser produzidos. A solução para este problema requer um sistema especializado para capturar antígenos e trazê-los aos órgãos linfoides, onde circulam células T e podem ser iniciadas respostas. As células especializadas que capturam e apresentam antígenos e ativam linfócitos T são chamadas **células apresentadoras de antígenos (APCs)**.

- As funções da maioria dos linfócitos T requer que eles interajam com outras células, que podem ser células dendríticas, macrófagos, linfócitos B, ou qualquer célula hospedeira infectada. Para garantir que as células T interajam com outras células e não com os antígenos solúveis, os receptores de antígenos de células T são desenhados de modo a enxergar antígenos apresentados por moléculas de superfície celular e não antígenos em microrganismos ou antígenos que estão livres na circulação ou em fluidos extracelulares. Isto está em forte contraste com os linfócitos B, cujos receptores de antígeno e produtos de secreção, os anticorpos, são capazes de reconhecer antígenos em superfícies microbianas e antígenos solúveis, bem como antígenos associados a células. A tarefa de apresentar os antígenos associados às células hospedeiras para reconhecimento por células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  é realizado por proteínas especializadas denominadas **complexo principal de histocompatibilidade (MHC)**, moléculas que são expressas na superfície das células hospedeiras.
- As diferentes células T devem ser capazes de responder a antígenos microbianos em diferentes compartimentos celulares. Por exemplo, a defesa contra vírus na circulação tem de ser mediada por anticorpos e a produção dos anticorpos mais eficazes requer a participação das células T auxiliares  $CD4^+$ . Mas, se o mesmo vírus infectar uma célula de tecido, ele se torna inacessível ao anticorpo e sua erradicação requer que os linfócitos T citotóxicos  $CD8^+$  (CTLs) matem células infectadas e eliminem o reservatório de infecção. Esta dicotomia existe, pois as APCs lidam com os antígenos derivados de locais extracelulares ou intracelulares e apresentam-nos para as diferentes classes de células T de maneiras diferentes. As moléculas do MHC possuem um papel crítico na segregação de antígenos a partir do exterior *versus* interior das células e na apresentação para as diferentes populações de células T.

Assim, a captura de antígenos e de apresentação para as células T é um processo especializado essencial para desencadear respostas de células T ótimas. A elucidação da biologia celular e da base molecular deste processo complexo foi uma realização impressionante, com base nos experimentos funcionais, análises bioquímicas e biologia estrutural. Neste capítulo, iremos descrever como os antígenos são capturados e apresentados às células T. No [Capítulo 7](#), vamos descrever os receptores de antígeno de células T e, nos [Capítulos 9, 10 e 11](#), vamos discutir as

funções de ativação e de ação de linfócitos T.

## Propriedades de antígenos reconhecidas por linfócitos T

A nossa atual compreensão do reconhecimento de antígenos pelas células T é resultado de uma grande quantidade de pesquisas iniciadas através de estudos sobre a natureza dos antígenos que estimulam a imunidade mediada por células. As primeiras experiências revelaram que as formas físico-químicas dos antígenos reconhecidos por células T são diferentes daquelas reconhecidas por linfócitos B e anticorpos, e este conhecimento conduziu à descoberta de como os antígenos são enxergados pelas células T. Vários recursos de reconhecimento de antígeno são exclusivos aos linfócitos T ([Tabela 6-1](#)).

**Tabela 6-1**

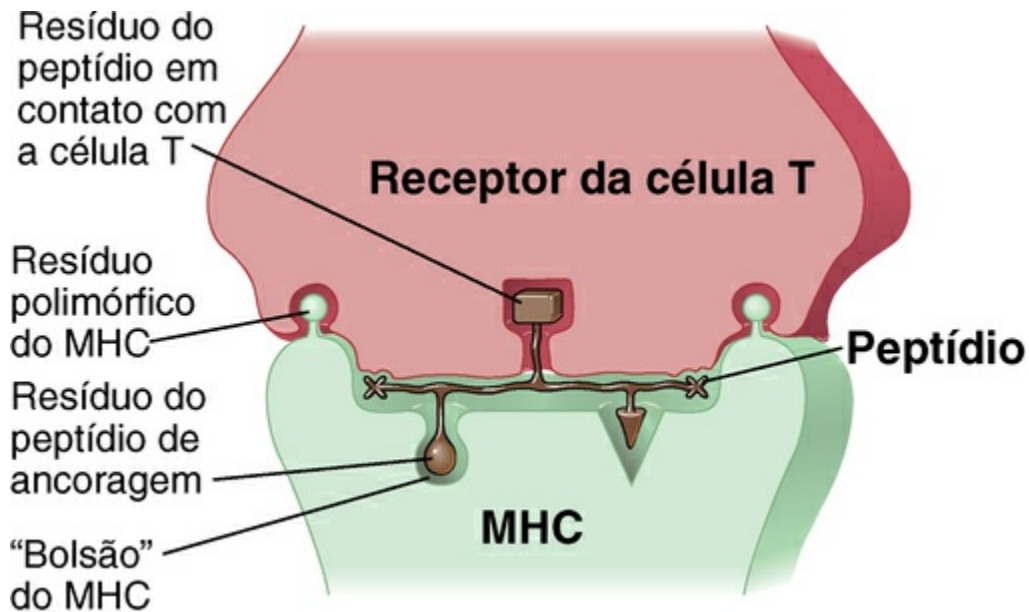
### Características do Reconhecimento de Antígenos Dependente de MHC pelos Linfócitos T

Características dos Antígenos Reconhecidos pelas Células T	Explicação
A maioria das células T reconhece peptídeos e não outras moléculas.	Somente peptídeos ligam a moléculas do MHC.
As células T reconhecem peptídeos lineares e não determinantes conformacionais de antígenos proteicos.	Os peptídeos lineares se ligam às fendas das moléculas do MHC e a conformação da proteína é perdida durante a geração desses peptídeos.
As células T reconhecem antígenos associados às células e não solúveis.	A maioria dos receptores das células T reconhece somente complexos peptídeo-MHC e as moléculas do MHC são proteínas da membrana que apresentam peptídeos ligados de maneira estável nas superfícies celulares.
As células T CD4+ e CD8+ reconhecem preferencialmente antígenos monitorados no ambiente extracelular e citossólico, respectivamente.	As vias de montagem das moléculas do MHC garantem que as moléculas da classe II apresentem os peptídeos derivados de proteínas extracelulares e capturados em vesículas das APCs e que as moléculas da classe I apresentem peptídeos de proteínas citossólicas; o CD4 e o CD8 se ligam a regiões não polimórficas das moléculas do MHC da classe II e da classe I, respectivamente.

**A maior parte dos linfócitos T reconhece apenas peptídeos pequenos**, ao passo que células B são capazes de reconhecer peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos, lipídios e pequenas substâncias químicas. Como resultado, respostas imunes mediadas por células T são normalmente induzidas por antígenos de proteínas exógenas (a fonte natural de peptídeos exógenos), ao passo que as respostas imunes humorais são induzidas por antígenos proteicos e não proteicos. Algumas células T são específicas para substâncias químicas pequenas, tais como

dinitrofenol, urushiol de hera venenosa,  $\beta$ -lactamase de antibióticos de penicilina e até íons de níquel. Nestas situações, é provável que substâncias químicas chamadas haptenos liguem-se a proteínas próprias, incluindo moléculas do MHC, e que células T reconheçam peptídeos hapteno-conjugados ou moléculas do MHC alteradas. A especificidade de células T a peptídeos é verdadeira para as células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$ ; como veremos ao final deste capítulo, existem algumas pequenas populações de células T que são capazes de reconhecer antígenos não proteicos.

***Os receptores de antígenos de células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  são específicos para antígenos peptídicos que são apresentados por moléculas do MHC (Fig. 6-1).*** Os receptores de células T (TCRs) evoluíram para serem específicos para moléculas do MHC, cuja função normal consiste em apresentar peptídeos. Como veremos no [Capítulo 8](#), o reconhecimento do MHC também é necessário para a maturação de células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  e garante que todas as células T maduras sejam restritas apenas ao reconhecimento de moléculas do MHC com antígenos ligados. Moléculas do MHC podem ligar-se e apresentar somente peptídeos, e não outras estruturas químicas, e é por isso que a maioria das células T reconhece apenas peptídeos. Como discutiremos posteriormente, as moléculas do MHC são altamente polimórficas e variações de moléculas do MHC entre indivíduos influenciam a ligação a peptídeos e o reconhecimento de células T. Uma única célula T é capaz de reconhecer um peptídeo específico, apresentado por apenas uma de um grande número de moléculas do MHC diferentes que existem. Este fenômeno é chamado de **restrição do MHC** e sua base molecular será descrita mais adiante neste capítulo.



**FIGURA 6-1** Modelo de reconhecimento de um complexo peptídeo-MHC pelas células T.

Esta ilustração esquemática mostra uma molécula do MHC ligando e apresentando um peptídeo e um receptor de célula T reconhecendo dois resíduos polimórficos da molécula do MHC e um resíduo do peptídeo.

Iniciaremos nossa discussão sobre a apresentação de antígenos descrevendo como as APCs capturam antígenos e transportam-nos para as células T.

## Captura de antígenos e funções das células apresentadoras de antígenos

A constatação de que várias células diferentes das células T são necessárias para apresentar antígenos aos linfócitos T veio inicialmente de estudos em que antígenos proteicos, conhecidos por provocar respostas de células T, foram marcados e injetados em ratos para verificar quais células se ligavam (e, portanto, reconheciam) estes antígenos. O resultado foi que os antígenos injetados se associaram principalmente a células não linfóides, o que foi uma surpresa, uma vez que era conhecido que os linfócitos eram as células que respondiam a antígenos estranhos. Este tipo de experimento foi rapidamente seguido por estudos que mostraram que antígenos de proteínas fisicamente ligados a macrófagos eram muito mais imunogênicos, em uma base molar, que os mesmos antígenos injetados na forma solúvel em camundongos. Nestes experimentos iniciais, as populações de macrófagos estudadas podem ter contido células dendríticas, uma vez que, como veremos na seção seguinte, as células T imaturas são melhor ativadas pelas células dendríticas. Experimentos posteriores com cultura de células mostraram que células T

CD4<sup>+</sup> purificadas não eram capazes de responder a antígenos proteicos, mas elas respondiam muito bem se células não T, tais como células dendríticas ou macrófagos, fossem adicionadas às culturas. Estes resultados levaram ao conhecimento de que uma etapa crítica na indução de respostas em células T é a apresentação do antígeno aos linfócitos T por meio de outras células, que foram denominadas *células apresentadoras de antígenos*. As primeiras APCs identificadas foram os macrófagos, e as células T que respondiam eram as células auxiliares CD4<sup>+</sup>. Logo ficou claro que várias populações de células eram capazes de atuar como APCs em diferentes situações. Por convenção, APC ainda é o termo usado para referir-se a células especializadas que exibem antígenos aos linfócitos T CD4<sup>+</sup>; como veremos mais adiante neste capítulo, todas as células nucleadas podem apresentar antígenos proteicos a linfócitos T CD8<sup>+</sup>, mas nem todas são chamadas APCs.

Iniciaremos com uma discussão sobre algumas das propriedades gerais das APCs para os linfócitos T CD4<sup>+</sup>.

- **Diferentes tipos de células atuam como APCs para ativar as células T imaturas ou células T efetoras previamente diferenciadas** (Fig. 6-2 e Tabela 6-2). As células dendríticas são as APCs mais eficazes para a ativação de células T imaturas e, portanto, para iniciar as respostas de células T. Os macrófagos e os linfócitos B também atuam como APCs, mas principalmente para as células T auxiliares CD4<sup>+</sup> previamente ativadas e não para células T imaturas. Seus papéis como APCs são descritos mais adiante neste capítulo e em mais detalhes nos [Capítulos 10](#) e [12](#). As células dendríticas, macrófagos e linfócitos B expressam moléculas do MHC de classe II e de outras moléculas envolvidas na estimulação das células T e são, portanto, capazes de ativar os linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Por este motivo, estes três tipos de células têm sido chamados APCs profissionais; no entanto, este termo é por vezes utilizado para se referir apenas às células dendríticas, porque este é o único tipo de célula cuja principal função é capturar e apresentar antígenos e única APC capaz de iniciar respostas primárias de células T.

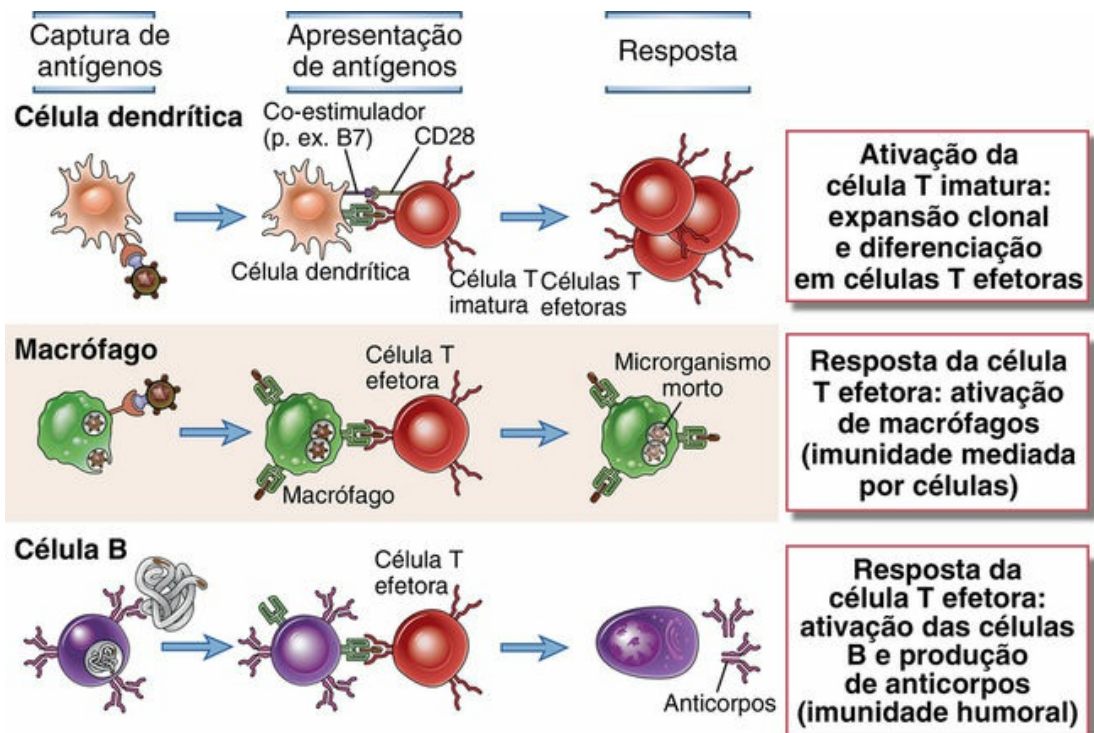
## Tabela 6-2

### Propriedades e Funções das Células Apresentadoras de Antígenos

Tipo de Célula	Expressão de		Função Principal
	MHC da classe II	Coestimuladores	
Células dendríticas	Constitutivo; aumenta com a maturação; aumentado pelo $IFN-\gamma$	Constitutivo; a expressão é aumentada por sinais do TLR, $IFN-\gamma$ , interações CD40-CD40L	Iniciação de respostas de células T contra antígenos proteicos (monitoramento)
Macrófagos	Baixo ou negativo; aumentado pelo $IFN-\gamma$	A expressão é aumentada por sinais do TLR, $IFN-\gamma$ , interações CD40-CD40L	Fase efetora das respostas imunes mediadas por células (aumento da capacidade de células T matarem microrganismos fagocitados)
Linfócitos B	Constitutivo; aumentado pela IL-4	Expressão aumentada pelas células T (interações CD40-CD40L), ligação cruzada do receptor do antígeno	Apresentação de antígenos para células T auxiliares CD4 <sup>+</sup> em respostas imunes humorais (interações células T auxiliares-células B)
Células endoteliais vasculares	Induzível pelo $IFN-\gamma$ ; constitutivo em seres humanos	Baixo; pode ser induzível	Pode promover a ação de células T antígeno-específicas no local da exposição do antígeno
Diversas células mesenquimais e epiteliais	Induzível pelo $IFN-\gamma$	Provavelmente nenhum	Nenhuma função fisiológica conhecida; possível papel em doenças inflamatórias

*IFN- $\gamma$* , interferon- $\gamma$ , *IL-4*, interleucina-4; *LPS*, lipopolissacarídeo.





**FIGURA 6-2** Funções de diferentes de células apresentadoras de antígenos.

Os três principais tipos de APCs para as células T CD4<sup>+</sup> possuem a função de apresentar antígenos em diferentes estágios e tipos de respostas imunes. Observe que as células T efetoras ativam os macrófagos e linfócitos B através da produção de citocinas e expressão de moléculas de superfície; isto será descrito em capítulos posteriores.

- **As APCs apresentam complexos peptídeo-MHC, para o reconhecimento por células T e também proporcionam estímulos adicionais, que são necessários para as respostas completas das células T.** Considerando que o antígeno é o primeiro sinal, estes estímulos adicionais são, por vezes, chamados de *segundos sinais*. Eles são mais importantes para a ativação de células T imaturas que para a reestimulação de células efetoras e de memória previamente ativadas. As moléculas ligadas às membranas das APCs destinadas a ativar as células T são chamadas **coestimuladoras**, pois funcionam em conjunto com o antígeno para estimular as células T. As APCs também secretam citocinas que desempenham papéis críticos na diferenciação de células T em células efetoras. Estes coestimuladores e de citocinas são descritos nos [Capítulos 9 e 10](#).
- **A função de apresentação de antígenos das APCs é aumentada pela exposição a produtos microbianos.** Esta é uma das razões pela qual o sistema imune responde melhor a microrganismos do que a substâncias inofensivas, não microbianas. As células dendríticas e macrófagos expressam receptores tipo Toll e

outros sensores microbianos (Cap. 4) que respondem a microrganismos através do aumento da expressão de moléculas do MHC e de coestimuladores, melhorando a eficiência da apresentação de antígenos e ativando as APCs para produzirem citocinas, todas as quais estimulam respostas de células T. Além disso, as células dendríticas ativadas por microrganismos expressam receptores de quimiocinas, que estimulam a sua migração para os locais onde as células T estão presentes. A indução de respostas ótimas de células T a antígenos de proteínas purificados requer que os antígenos sejam administrados com substâncias chamadas **adjuvantes**. Os adjuvantes são produtos de microrganismos, tais como micobactérias mortas (utilizadas experimentalmente), ou mimetizam microrganismos e aumentam a expressão dos coestimuladores e de citocinas, bem como as funções de apresentação de antígenos das APCs.

- ***As APCs que apresentam antígenos às células T também recebem sinais destes linfócitos que melhoram sua função de apresentação de antígenos.***

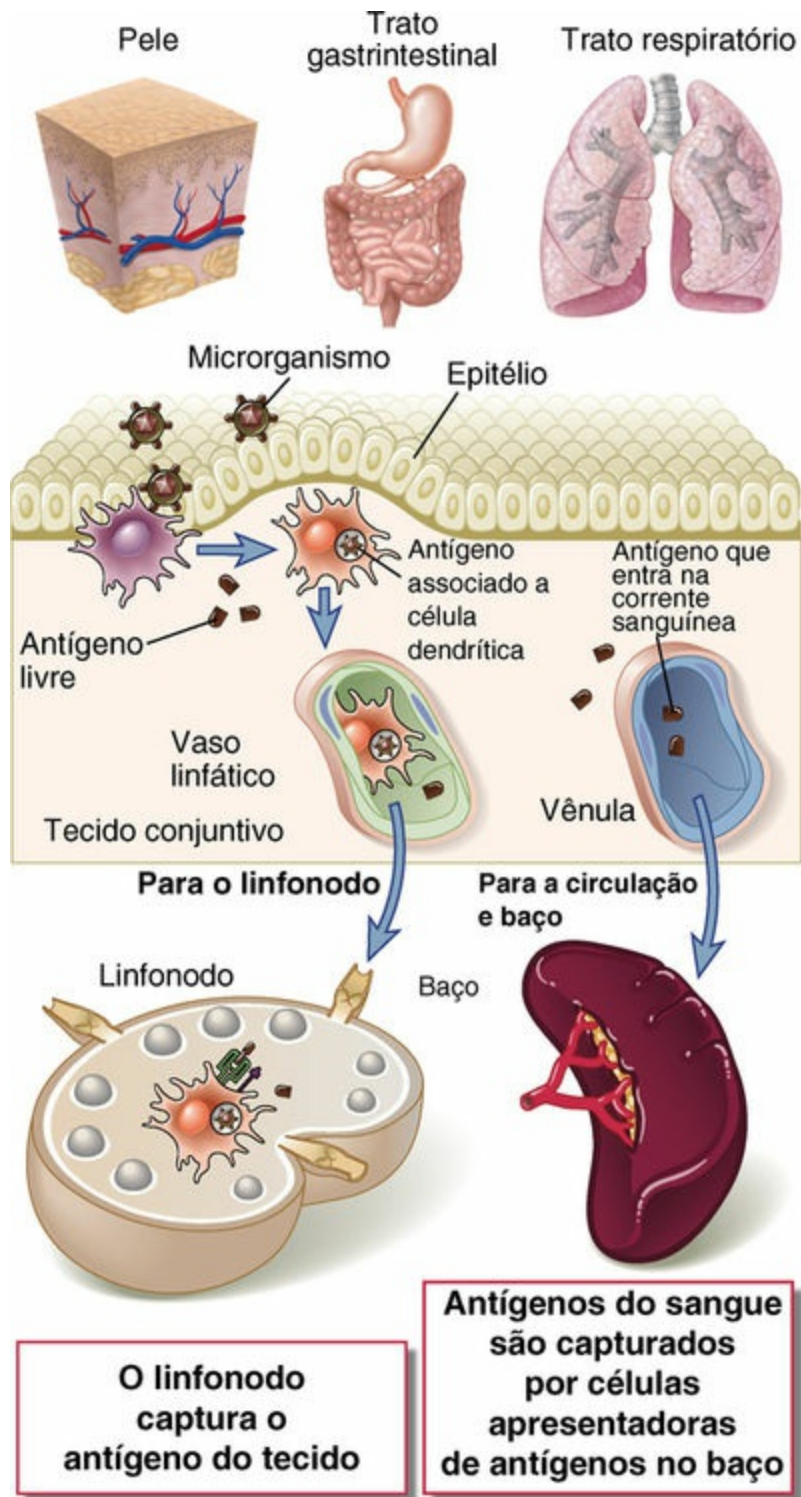
Em particular, as células T CD4<sup>+</sup>, que são ativadas por reconhecimento de antígeno e coestimulação, expressam moléculas de superfície, particularmente uma denominada ligante CD40 (CD154) que se liga à CD40 das células dendríticas e macrófagos, e as células T secretam citocinas tais como interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), que se ligam aos seus receptores nestas APCs. A combinação dos sinais da CD40 e das citocinas ativa as APCs, o que resulta no aumento da capacidade de processar e apresentar antígenos, no aumento da expressão de coestimuladores e na secreção de citocinas que ativam as células T. Esta interação bidirecional entre APCs apresentando o antígeno e os linfócitos T que reconhecem os antígenos atua como uma retroalimentação positiva que desempenha um papel importante na maximização da resposta imune (Cap. 9).

## **Papel das Células Dendríticas na Captura e Apresentação de Antígenos**

***As respostas primárias de células T imaturas são iniciadas nos órgãos linfoides secundários, aos quais microrganismos e antígenos proteicos são transportados após serem recolhidos a partir da sua via de entrada (Fig. 6-3).***

As rotas comuns através das quais os antígenos estranhos, tais como microrganismos, entram em um hospedeiro são a pele e o epitélio do sistema respiratório e gastrointestinal. Além disso, os antígenos microbianos podem ser produzidos em qualquer tecido que tenha sido colonizado ou infectado por um microrganismo. A pele, o epitélio mucoso e os órgãos parenquimatosos contêm grande número de capilares linfáticos que drenam a linfa destes locais para os linfonodos locais. Alguns antígenos são transportados na linfa por APCs (células dendríticas principalmente) que capturam o antígeno e entram nos vasos linfáticos, e outros antígenos penetram nos vasos linfáticos sem estarem ligados a outras células.

Assim, a linfa contém uma amostra de todos os antígenos presentes nos tecidos nas formas solúvel e associados a células. Os antígenos tornam-se concentrados nos linfonodos, que são interpostos ao longo dos vasos linfáticos e atuam como filtros que testam a linfa antes de chegar ao sangue ([Cap. 2](#)). Os antígenos que entram na corrente sanguínea podem ser monitorados de forma semelhante pelo baço.



**FIGURA 6-3** Vias de entrada de antígenos. Os antígenos microbianos geralmente entram através da pele e tratos gastrointestinal e respiratório, onde são capturados pelas células dendríticas e transportados para os nódulos linfáticos regionais. Os antígenos que entram na corrente sanguínea são capturados pelas APCs no baço.

As células mais capazes de captar, transportar e apresentar antígenos para as células T são as células dendríticas. Nós descreveremos a seguir as suas principais características e suas funções na iniciação das respostas por células T.

## Morfologia e Populações de Células Dendríticas

As células dendríticas foram descobertas como uma população de células do baço de ratos que possuía uma morfologia característica, com projeções membranosas marcantes ou tipo espinhosas que se assemelhavam aos dendritos dos neurônios (Fig. 6-4). Estas células estão presentes na maioria dos tecidos e são mais ricas nos órgãos linfoides e nas interfaces com o ambiente externo, tais como na pele e nos tratos gastrintestinal e respiratório. Acredita-se que a maioria das células dendríticas seja proveniente de precursores da medula óssea adultos, com exceção das células de Langerhans na pele, que se desenvolvem a partir de precursores embrionários que se estabelecem na pele antes do nascimento (Fig. 2-4). Atualmente, está claro que existem duas grandes populações de células dendríticas que diferem em propriedades fenotípicas e funções principais (Tabela 6-3).

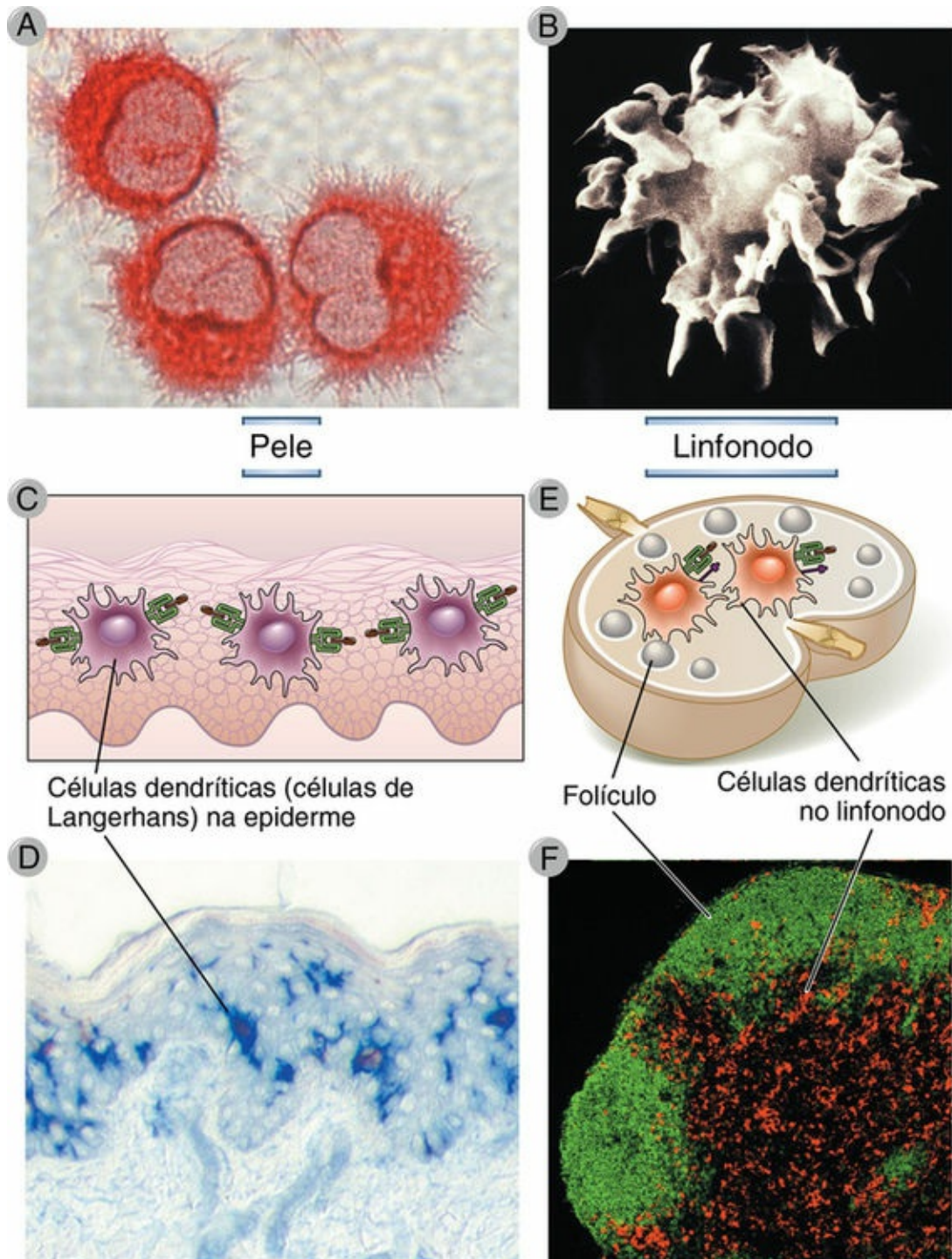
**Tabela 6-3**

### Principais Subpopulações de Células Dendríticas

Característica	CDs Clássicas (Convencionais)		
	Principais	A apresentação cruzada	CDs plasmocitoides
Marcadores de superfície	BDCA-1 <sup>+</sup> CD1c <sup>+</sup> (humanos) CD11c <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> (camundongos)	BDCA-3/CD141 <sup>+</sup> , CLEC9A <sup>+</sup> (humanos) CD11c <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> no timo, CD103 <sup>+</sup> em tecidos periféricos (camundongos)	BDCA-2/CD303 <sup>+</sup> (humanos) CD11c e CD11b baixo ou negativo B220 <sup>+</sup> (camundongos)
TLRs expressos	Altos níveis de TLR 2, 3, 4, 5, 8, 9	TLR3, 11	Altos níveis de TLR7, 9
Principais citocinas produzidas	IL-12, IL-23, TNF, IL-6	IL-12, IL-23, TNF, IL-6	IFN tipo I
Principais funções postuladas	Imunidade inata: fonte de citocinas inflamatórias Imunidade adaptativa: captura e apresentação de antígenos principalmente para células T CD4 <sup>+</sup>	Imunidade adaptativa: captura e apresentação cruzada de antígenos para células T CD8 <sup>+</sup>	Imunidade antiviral: resposta inata precoce; monitoramento de células T antivirais

Outros subgrupos de células dendríticas foram descritos com base na expressão de diversos marcadores de superfície ou migração a partir de locais de tecido (células dendríticas tipo Langerhans de epitélios e células dendríticas de tecidos intersticiais). Observe que todas as CDs expressam moléculas do MHC da classe II. As células dendríticas derivadas de monócitos, que podem ser geradas de monócitos do sangue cultivados com diversas citocinas, expressam CD14 e DC-SIGN, são distintas dos subconjuntos descritos e podem se desenvolver *in vivo* durante as reações inflamatórias. As células dendríticas inativas de todos os tipos podem apresentar antígenos próprios e manter a auto tolerância; esta função postulada não está listada na tabela.





**FIGURA 6-4** Células dendríticas.

**A**, Micrografia de luz de células dendríticas em cultura derivadas de precursores da medula óssea. **B**, Micrografia eletrônica de varrimento de uma célula dendrítica mostrando extensas projeções de membrana. **C**, **D**, Células dendríticas na pele, ilustradas esquematicamente (**C**) e em uma secção de pele (**D**) tingidas com um anticorpo específico para células de Langerhans (visualizados na cor azul nesta coloração imunoenzimática). **E**, **F**, Células dendríticas em um linfonodo,



ilustradas esquematicamente (E) e em uma secção de linfonodo de camundongo (F) tingidas com anticorpos marcados com fluorescência contra células B nos folículos (verde) e células dendríticas na zona de células T (vermelho).

(A, B e D, Cortesia de Dr. Y-J Liu, MD, Anderson Cancer Center, Houston, Texas. F, Cortesia de Drs. Kathryn Pape e Jennifer Walter, University of Minnesota School of Medicine, Minneapolis).

- **As CDs Clássicas** (também chamadas de CDs convencionais) foram inicialmente identificadas por sua morfologia e capacidade de estimular respostas intensas de células T, e constituem o subconjunto de células dendríticas mais numeroso nos órgãos linfoides. A maioria delas é derivada de precursores mieloides, que migram da medula óssea para se diferenciarem localmente em células dendríticas residentes em tecidos linfoides e não linfoides. Semelhante aos macrófagos teciduais, elas estão constantemente monitorando o ambiente em que residem. No intestino, por exemplo, as células dendríticas parecem enviar processos que atravessam as células epiteliais e que se projetam para o lúmen, onde podem atuar na captura de antígenos luminais. As células de Langerhans são células dendríticas que povoam a epiderme; elas atuam da mesma forma em relação aos antígenos encontrados na pele.

Na ausência de infecções ou inflamações, as células dendríticas clássicas capturam antígenos dos tecidos e migram para os linfonodos de drenagem, mas não produzem as citocinas e moléculas da membrana que são necessários para induzir respostas imunes eficazes. A função destas células dendríticas poderia ser de apresentar antígenos próprios a células T autorreativas e, assim, provocar a inativação ou morte das células T ou gerar células T reguladoras. Estes mecanismos são importantes para a manutenção da autotolerância e prevenção de autoimunidade (Cap. 15). No encontro com microrganismos ou citocinas, as células dendríticas se tornam ativadas: elas regulam positivamente moléculas coestimuladoras, produzem citocinas inflamatórias e migram dos tecidos periféricos para os linfonodos de drenagem, onde iniciam as respostas das células T (discutido posteriormente).

As células dendríticas clássicas podem ser divididas em dois grandes subgrupos. Um deles, caracterizado por uma elevada expressão de BDCA-1/CD1c em seres humanos ou da integrina CD11b em camundongos, é mais eficaz em dirigir as respostas das células T CD4<sup>+</sup>. O outro subgrupo, caracterizado pela expressão de BDCA-3 em seres humanos ou, em camundongos, de CD8 em tecidos linfoides ou da integrina CD103 em tecidos periféricos, é particularmente eficiente no processo de apresentação cruzada (descrito mais adiante neste capítulo). Algumas células dendríticas podem ser derivadas de monócitos, especialmente em situações de

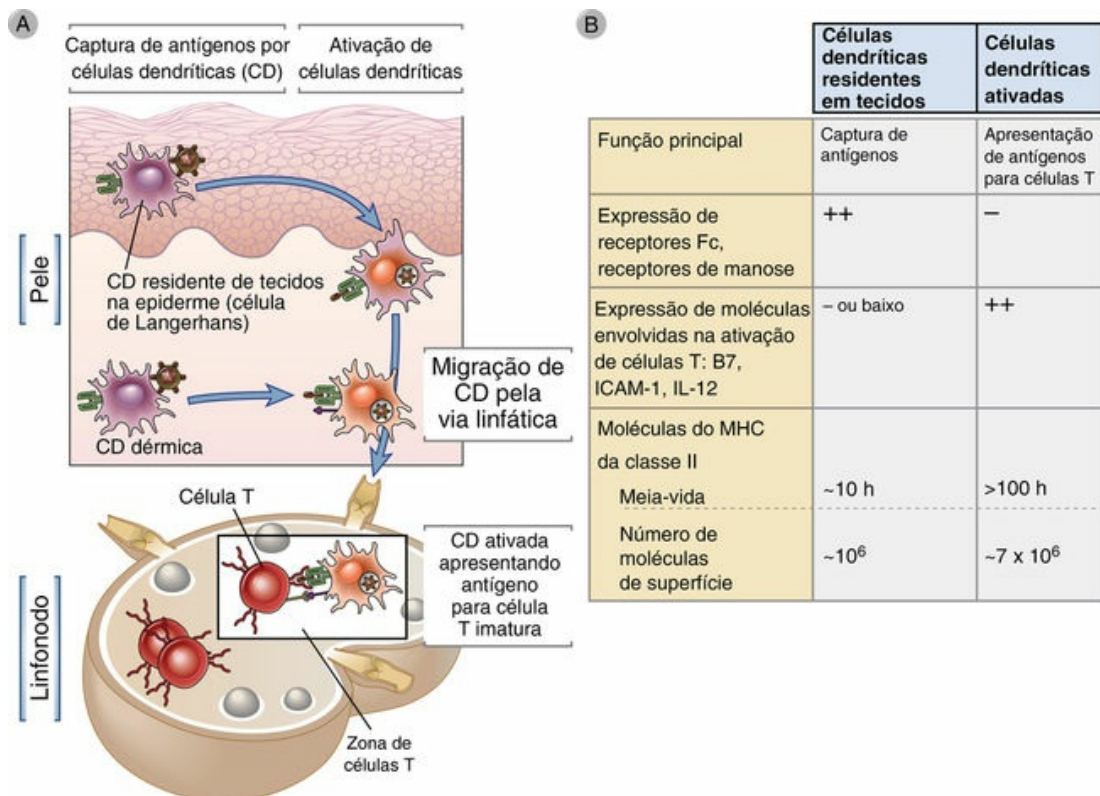
inflamação.

- **As CDs plasmocitoides** assemelham-se morfológicamente às células plasmáticas e adquirem a morfologia e as propriedades funcionais das células dendríticas somente após a ativação. Elas desenvolvem-se na medula óssea a partir de um precursor que também dá origem às células dendríticas clássicas, e são encontradas no sangue e em pequeno número nos órgãos linfoides. Em contraste com as células dendríticas clássicas, as células dendríticas plasmocitoides são pobremente fagocíticas e não monitoram a presença de antígenos ambientais. A principal função de células dendríticas plasmocitoides é a secreção de grandes quantidades de interferons do tipo I em resposta a infecções virais ([Capítulo 4](#)). Nas infecções virais, as células dendríticas plasmocitoides também se diferenciam em células que se assemelham a células dendríticas clássicas e desempenham um papel na apresentação de antígenos a células T específicas para vírus.

### **Captura e Transporte de Antígenos por Células Dendríticas**

***As células dendríticas residentes em epitélios e tecidos captam antígenos proteicos e transportam os antígenos para linfonodos de drenagem (Fig. 6-5).***

As células dendríticas em repouso que residem nos tecidos (por vezes referidas como células dendríticas imaturas) expressam receptores de membrana, como lectinas do tipo C, que se ligam a microrganismos. As células dendríticas utilizam estes receptores para capturar e endocitar microrganismos ou produtos microbianos e, em seguida, processar as proteínas ingeridas em peptídeos capazes de se ligar a moléculas do MHC. Além da endocitose e da fagocitose mediada por receptor, as células dendríticas são capazes de endocitar antígenos por micropinocitose e macropinocitose, processos que não envolvem receptores de reconhecimento específicos, mas capturam tudo que possa estar na fase fluida nas vizinhanças das células dendríticas.



**FIGURA 6-5** Papel das células dendríticas na captura e apresentação de antígenos.

**A**, Células imaturas dendríticas (CDs) na pele (células de Langerhans) ou derme (CDs da derme) capturam antígenos que entram através da epiderme e transportam os antígenos para os linfonodos regionais. Durante esta migração, as células dendríticas amadurecem e se tornam APCs eficientes.

**B**, A tabela resume algumas das alterações durante a maturação das células dendríticas que são importantes para as funções destas células.

No instante em que os antígenos microbianos são capturados, os produtos microbianos são reconhecidos por receptores do tipo Toll e por outros receptores de reconhecimento de padrões inatos das células dendríticas e de outras células, gerando respostas imunes inatas (Cap. 4). As células dendríticas são ativadas por estes sinais e por citocinas, tais como o fator de necrose tumoral (TNF), produzido em resposta aos microrganismos. As células dendríticas ativadas (também chamadas de células dendríticas maduras) perdem a sua capacidade de adesão a epitélios ou tecidos e migram para os linfonodos. As células dendríticas também começam a expressar um receptor de quimiocinas denominado CCR7 que é específico para duas quimiocinas, CCL19 e CCL21, produzidas em vasos linfáticos e nas zonas das células T dos linfonodos. Estas quimiocinas atraem as células dendríticas que carregam antígenos microbianos para vasos linfáticos de drenagem e, finalmente,

para as zonas de células T dos linfonodos regionais. As células T imaturas também expressam o CCR7, e é por isso que as células T imaturas migram para as mesmas regiões de linfonodos onde as células dendríticas carregando antígenos estão concentradas (Cap. 3). A colocação de células dendríticas ativadas carregando antígenos e células T virgens aumenta as chances de que células T com receptores para o antígeno encontrem esse antígeno.

A ativação também converte as células dendríticas, passam de células cuja função principal é de capturar antígenos para células capazes de apresentar antígenos a células T imaturas e de ativar os linfócitos. As células dendríticas ativadas expressam níveis elevados de moléculas do MHC com peptídeos ligados, bem como os coestimuladores necessários para a ativação das células T. Assim, no momento em que estas células chegam aos linfonodos, elas já se desenvolveram em potentes APCs com capacidade de ativar linfócitos T. As células T imaturas que recirculam através dos linfonodos encontram estas APCs, e as células T específicas para os complexos de peptídeo-MHC apresentados são ativadas. Esta é a etapa inicial para a indução de respostas de células T contra antígenos proteicos.

Os antígenos também podem ser transportados para órgãos linfoides na forma solúvel. As células dendríticas residentes nos linfonodos e baço podem capturar os antígenos presentes nos linfonodos e no sangue, respectivamente, e também podem ser tornados maduros por produtos microbianos. Quando a linfa entra em um linfonodo através de um vaso linfático aferente, ela drena para o seio subcapsular e parte da linfa adentra as canalizações das células reticulares de fibroblastos (FRC) que se originam a partir do seio e atravessam o córtex (Cap. 2). Uma vez dentro das canalizações, os antígenos de baixo peso molecular podem ser extraídos pelas células dendríticas, cujos processos interdigitam-se entre as FRCs. Outros antígenos no seio subcapsular são capturados por macrófagos e células dendríticas, que levam os antígenos para o córtex. As células B do nódulo também são capazes de reconhecer e interiorizar os antígenos solúveis. As células dendríticas, os macrófagos e as células B que capturaram os antígenos proteicos podem, então, processar e apresentar esses antígenos às células T virgens e às células T efetoras que foram geradas por prévia estimulação antigênica.

A captura e concentração de antígenos exógenos em linfonodos é complementada por outras adaptações anatômicas de funções similares. As superfícies mucosas dos sistemas gastrointestinal e respiratório, além de serem drenadas pelos capilares linfáticos, contêm porções especializadas de tecido linfóide secundário que podem monitorar diretamente o conteúdo luminal desses órgãos quanto à presença de material antigênico. Destes órgãos linfoides das mucosas, os melhor caracterizados são as placas de Peyer do íleo e da tonsila faríngea (Cap. 14). As APCs no baço monitoram o fluxo de sangue para quaisquer antígenos que chegam à circulação. Tais antígenos podem chegar ao sangue diretamente a partir dos tecidos ou por meio da linfa do ducto torácico.

## Função de Apresentação de Antígenos pelas Células Dendríticas

Diversos estudos realizados *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a indução de respostas imunes primárias dependentes de células T contra proteínas antigênicas requer a presença de células dendríticas para capturar e apresentar antígenos às células T. Isto foi mostrado pela primeira vez para as respostas de células T CD4<sup>+</sup>, mas agora é conhecido verdadeiramente também para as células T CD8<sup>+</sup>.

### ***Diversas propriedades das células dendríticas tornam-nas as APCs mais eficientes para iniciar respostas primárias de células T.***

- As células dendríticas estão estrategicamente localizadas nos locais comuns de entrada de microrganismos e antígenos exógenos (em epitélios) e em tecidos que podem ser colonizados por microrganismos.
- As células dendríticas expressam receptores que lhes permitem capturar e responder aos microrganismos.
- As células dendríticas migram preferencialmente pela via linfática dos epitélios e tecidos para as zonas de células T dos linfonodos, e os linfócitos T virgens também migram da circulação para as mesmas regiões dos linfonodos.
- As células dendríticas maduras expressam altos níveis de complexos peptídeo-MHC, coestimuladores e citocinas, que são necessários para ativar os linfócitos T virgens.

***Células dendríticas são capazes de endocitar células infectadas e apresentar antígenos destas células para os linfócitos T CD8<sup>+</sup>.*** As células dendríticas são as APCs que melhor induzem respostas primárias de células T CD8<sup>+</sup>, mas isto gera um problema especial porque os peptídeos antigênicos que esses linfócitos reconhecem devem ser derivados das proteínas citossólicas das células dendríticas. No entanto, as proteínas virais podem ser produzidas em qualquer tipo de célula infectada por um vírus, não necessariamente em células dendríticas. Algumas células dendríticas especializadas são capazes de endocitar células infectadas com vírus ou fragmentos celulares e de liberar proteínas virais para o citosol, permitindo que eles sejam apresentados aos linfócitos T CD8<sup>+</sup>. Este processo é chamado de apresentação cruzada e será descrito posteriormente neste capítulo.

## Funções de outras Células Apresentadoras de Antígenos

Embora as células dendríticas desempenhem um papel crucial na iniciação das respostas primárias das células T, outros tipos de células também são importantes APCs em diferentes situações (Fig. 6-2 e Tabela 6-2).

- ***Nas respostas imunes mediadas por células, os macrófagos apresentam os antígenos de microrganismos fagocitados para células T efectoras, que respondem ativando os macrófagos para matar os microrganismos.*** Este

processo é fundamental para a imunidade mediada por células e hipersensibilidade do tipo retardada (Cap. 10). Os monócitos circulantes são capazes de migrar para qualquer local de infecção e inflamação, onde se diferenciam em macrófagos e fagocitam e destroem microrganismos. As células T CD4<sup>+</sup> reconhecem os antígenos microbianos apresentados pelos macrófagos e geram sinais que intensificam as atividades microbidas destes macrófagos.

- **Nas respostas imunes humorais, os linfócitos B internalizam as proteínas antigênicas e apresentam peptídios derivados destas proteínas para células T auxiliares.** Esta função de apresentação de antígenos das células B é essencial para a produção de anticorpos dependente de células T auxiliares (Cap. 12).
- **Todas as células nucleadas são capazes de apresentar peptídios derivados de proteínas antigênicas citossólicas para CTL CD8<sup>+</sup>.** Todas as células nucleadas são suscetíveis a infecções virais e mutações que causam câncer. Portanto, é importante que o sistema imune seja capaz de reconhecer antígenos citossólicos, tais como antígenos virais e proteínas mutadas, em qualquer tipo de célula. As CTL CD8<sup>+</sup> são as células que reconhecem estes antígenos e que eliminam as células em que os antígenos são produzidos. As CTL CD8<sup>+</sup> também são capazes de reconhecer microrganismos fagocitados se estes microrganismos ou seus antígenos escapam das vesículas fagocíticas para o citosol.
- **Outros tipos de células que expressam moléculas do MHC de classe II e podem apresentar antígenos a células T incluem as células endoteliais e algumas células epiteliais.** As células endoteliais vasculares podem apresentar antígenos às células T do sangue que aderem às paredes dos vasos, e este processo pode contribuir para o recrutamento e ativação de células T efetoras em reações imunes mediadas por células. As células endoteliais em enxertos também são alvos de células T, que reagem contra os antígenos do enxerto (Cap. 17). Várias células epiteliais e mesenquimais podem expressar moléculas do MHC de classe II em resposta à citocina IFN- $\gamma$ . O significado fisiológico da apresentação de antígenos por essas populações de células não é claro. Devido ao fato de que a maior parte delas não expressa coestimuladores e não é eficaz no processamento de proteínas em peptídios de ligação ao MHC, é pouco provável que contribuam de modo significativo para a maior parte das respostas de células T. As células epiteliais do timo expressam constitutivamente moléculas do MHC e desempenham um papel fundamental na apresentação de complexos peptídio-MHC para o amadurecimento das células T no timo, como parte dos processos de seleção que moldam o repertório de especificidades das células T (Cap. 8).

## Complexo principal de histocompatibilidade (MHC)



A descoberta do papel fundamental do MHC no reconhecimento de antígenos pelas células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> T revolucionou o campo da imunologia e abriu caminho para a nossa atual compreensão da ativação e funções dos linfócitos.

## Descoberta do MHC

### O Camundongo do MHC (Complexo H-2)

O MHC foi descoberto a partir de estudos de transplante de tecidos, e somente muitos anos mais tarde foram elucidadas a estrutura e a função das moléculas do MHC. Era sabido desde o início dos transplantes que tecidos, como a pele, trocados entre indivíduos não idênticos eram rejeitados, enquanto os mesmos enxertos entre gêmeos idênticos eram aceitos. Estes resultados mostraram que os genes herdados deveriam estar envolvidos no processo de rejeição de tecidos. Na década de 1940, para analisar a base genética da rejeição do enxerto, os investigadores produziram linhagens isogênicas de camundongos por acasalamento repetitivo de irmãos. Os camundongos isogênicos são homocigóticos em cada locus genético (isto é, possuem duas cópias do mesmo alelo de cada gene, um de cada pai) e todos os camundongos de uma linhagem isogênica são geneticamente idênticos (singênicos) a outro camundongo de mesma linhagem (ou seja, todos expressam os mesmos alelos). Linhagens diferentes podem expressar alelos diferentes e são referidas como alogênicas umas às outras. Através da criação de linhagens congênitas de camundongos que rejeitavam enxertos de outras linhagens, mas que eram idênticos para todos os outros genes, esses pesquisadores mostraram que uma única região genética é a principal responsável pela rápida rejeição de enxertos de tecidos, e esta região foi chamada de locus principal de histocompatibilidade (*histo*, de tecido). O locus específico identificado em camundongos foi ligado a um gene no cromossomo 17 que codificava um antígeno de grupo sanguíneo chamado antígeno II e, por conseguinte, esta região foi chamada de histocompatibilidade-2 ou, simplesmente, H-2. Inicialmente, acreditava-se que esse locus continha um único gene que controlava a compatibilidade de tecidos. No entanto, eventos ocasionais de recombinação ocorreram no locus H-2 durante o intercruzamento de diferentes linhagens, indicando que, na verdade, ele continha vários genes diferentes mas estreitamente ligados, muitos dos quais estavam envolvidos na rejeição do enxerto. A região genética que controlava a rejeição do enxerto e continha vários genes ligados foi chamada de **complexo principal de histocompatibilidade**. Apesar de não conhecido durante os experimentos iniciais, a rejeição do transplante é, em grande parte, um processo mediado por células T (Cap. 17) e, por conseguinte, não é surpreendente que exista uma relação entre a rejeição do enxerto e os genes do MHC que codificam as moléculas do MHC que ligam a peptídeos, reconhecidas pelas células T.

### O MHC Humano (HLA)

O MHC humano foi descoberto através da procura por moléculas de superfície celular em um indivíduo que seriam reconhecidas como estrangeiras por outro indivíduo. Esta tarefa tornou-se viável quando descobriu-se que os indivíduos que receberam múltiplas transfusões de sangue e pacientes que receberam transplantes de rim continham anticorpos que reconheciam células dos doadores de sangue ou de rins e que as mulheres multíparas tinham anticorpos circulantes que reconheciam células paternas. As proteínas reconhecidas por estes anticorpos foram chamadas de **antígenos de leucócitos humanos (HLA)** (*leucócitos*, porque os anticorpos foram testados pela ligação a leucócitos de outros indivíduos e *antígenos*, porque as moléculas eram reconhecidas por anticorpos). Análises posteriores mostraram que, em camundongos, a herança de determinados alelos HLA é um dos principais determinantes da aceitação ou rejeição de enxertos ([Cap. 17](#)). Estudos bioquímicos deram o satisfatório resultado de que as proteínas H-2 de camundongos e as proteínas HLA tinham estruturas básicas semelhantes. A partir destes resultados, chegou-se à conclusão de que os genes que determinam o destino dos tecidos enxertados estão presentes em todas as espécies de mamíferos e são homólogos aos genes H-2 inicialmente identificados em camundongos; estes são chamados de genes do MHC. Outros genes polimórficos que contribuem para a rejeição do enxerto em menor grau são chamados genes de histocompatibilidade menor; voltaremos a eles no [Capítulo 17](#), quando discutiremos a imunologia do transplante.

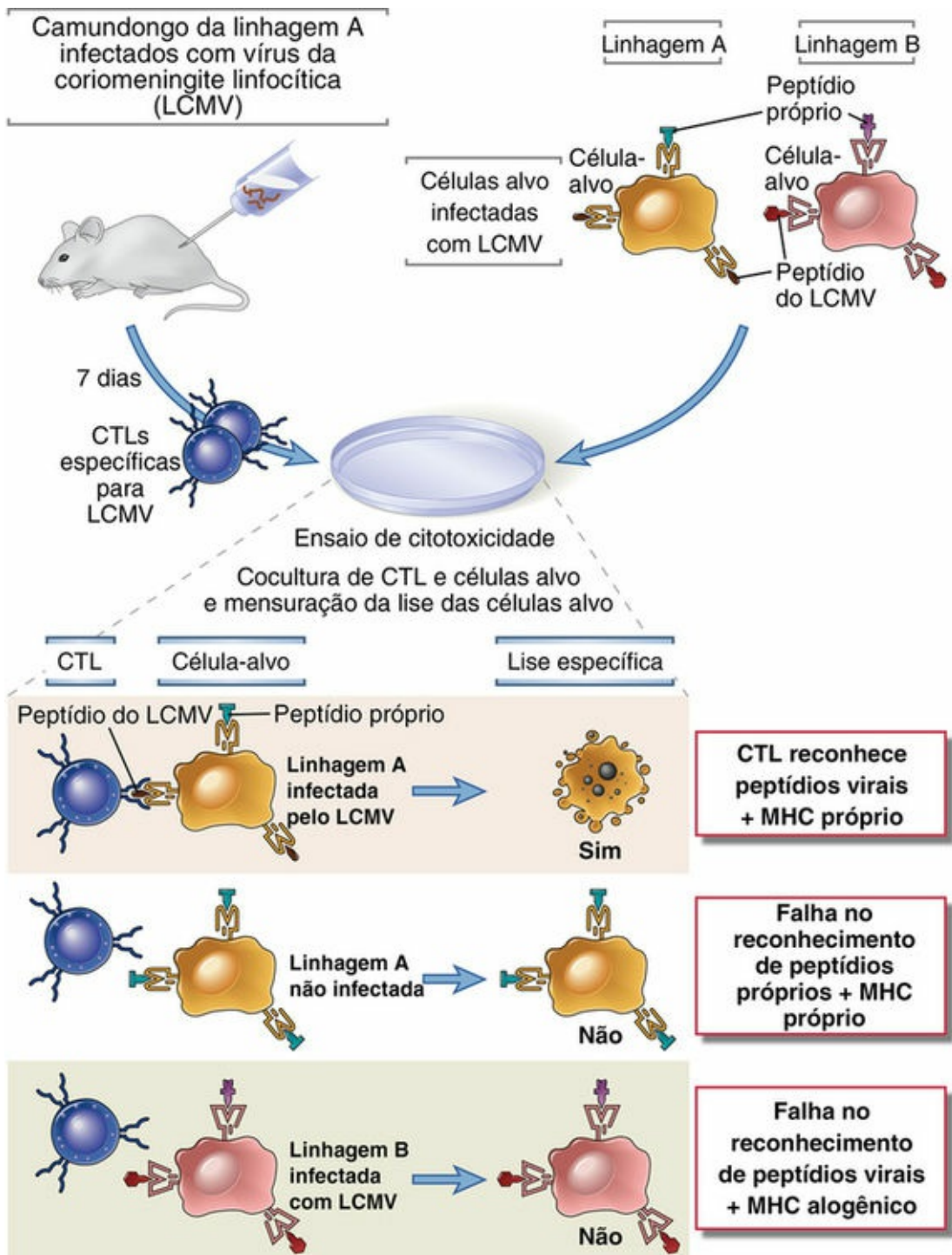
## Genes da Resposta Imune

Durante quase 20 anos após o MHC ter sido descoberto, seu único papel documentado foi na rejeição do enxerto. Este foi um enigma para os imunologistas porque o transplante não é um fenômeno natural, e não havia nenhuma razão para que um conjunto de genes devesse ser preservado através da evolução se a única função dos genes fosse controlar a rejeição de enxertos de tecido externos. Nos anos de 1960 e 1970, descobriu-se que os genes do MHC são de fundamental importância para todas as respostas imunes a proteínas antigênicas. Os imunologistas descobriram que linhagens isogênicas de uma única espécie (cobaias ou camundongos) diferem na sua capacidade de produzir anticorpos contra alguns polipeptídeos sintéticos simples, e a resposta foi herdada como uma característica mendeliana dominante. Os genes relevantes foram chamados de *genes da resposta imune (IR)* e descobriu-se que todos mapeavam para o MHC. Sabemos agora que os genes da Ir são, na verdade, os genes do MHC que codificam moléculas do MHC que diferem na sua capacidade de se ligar e apresentar peptídeos derivados de várias proteínas antigênicas. Linhagens respondedoras, capazes de montar respostas imunes contra um antígeno polipeptídico em particular, herdaram alelos do MHC cujos produtos podem ligar peptídeos derivados destes antígenos, formando complexos peptídeo-MHC que podem ser reconhecidos pelas células T auxiliares. Estas células T, em seguida, auxiliam as células B a produzir anticorpos. Linhagens não

respondedoras expressam moléculas do MHC que não são capazes de se ligar a peptídeos derivados do antígeno polipeptídico e, portanto, estas linhagens não são capazes de gerar células T auxiliares ou anticorpos específicos para o antígeno. Posteriormente também foi descoberto que muitas doenças autoimunes estavam associadas à herança de alelos particulares do MHC, posicionando firmemente esses genes no centro dos mecanismos que controlam as respostas imunes. Esses estudos forneceram o ímpeto para análises mais detalhadas dos genes e proteínas do MHC.

## **O Fenômeno de Restrição do MHC**

A prova formal de que o MHC está envolvido no reconhecimento de antígenos por células T veio da demonstração experimental da restrição do MHC por Rolf Zinkernagel e Peter Doherty. Em seu estudo clássico, relatado em 1974, esses pesquisadores examinaram o reconhecimento de células infectadas por vírus por CTLs específicas para vírus em camundongos isogênicos. Se um camundongo fosse infectado por um vírus, CTLs CD8<sup>+</sup> específicas para o vírus desenvolviam-se no animal. Estas CTLs reconheciam e matavam as células infectadas por vírus somente se as células infectadas expressassem os alelos de moléculas do MHC expressas no animal no qual as CTLs fossem geradas (Fig. 6-6). Através do uso de linhagens isogênicas de camundongos para o MHC, cuja derivação foi descrita anteriormente (camundongos idênticos em cada locus genético exceto para o MHC), foi demonstrado que as CTLs e a célula-alvo infectada deveriam ser derivadas de camundongos que partilhavam um alelo do MHC de classe I. Assim, o reconhecimento de antígenos por células CTLs CD8<sup>+</sup> era restringido pelos alelos próprios do MHC de classe I. Experimentos subsequentes demonstraram que as respostas dos linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> para antígenos eram restringidas por alelos próprios do MHC de classe II.



**FIGURA 6-6** Demonstração experimental do fenômeno da restrição de linfócitos T ao MHC.

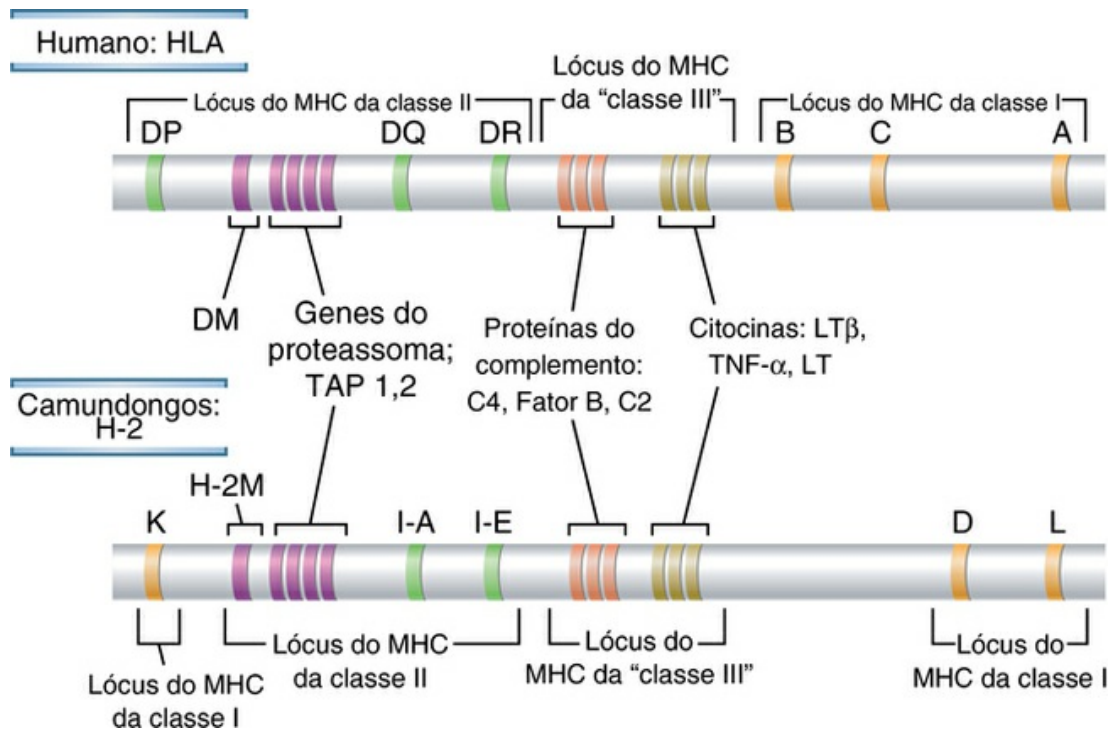
Os linfócitos T citotóxicos vírus-específicos (CTLs) originados a partir de camundongos da linhagem A infectados com vírus matam somente as células alvo singênicas (linhagem A) infectadas com esse vírus. As CTLs não matam alvos da linhagem A não infectados (que expressam peptídeos próprios, mas não peptídeos virais) ou alvos da linhagem B

infectados (que expressam alelos do MHC diferentes daqueles da linhagem A). Através do uso de linhagens isogênicas de camundongos que diferem apenas em relação aos *loci* do MHC da classe I, comprovou-se que o reconhecimento de antígenos por CTLs CD8<sup>+</sup> é restrito ao MHC da classe I próprio.

Continuaremos nossa discussão sobre o MHC descrevendo as propriedades dos genes e, em seguida, as proteínas, e concluiremos descrevendo como estas proteínas se ligam e apresentam os antígenos exógenos.

## Os Genes do MHC

**O locus MHC contém dois tipos de genes polimórficos do MHC, os genes do MHC da classe I da classe II, que codificam dois grupos de proteínas estruturalmente distintas, mas homólogas, e outros genes não polimórficos, cujos produtos estão envolvidos na apresentação de antígenos (Fig. 6-7).** As moléculas do MHC da classe I apresentam peptídeos e são reconhecidos por células T CD8<sup>+</sup>, e as moléculas do MHC da classe II apresentam peptídeos para as células T CD4<sup>+</sup>; estes tipos de células T possuem diferentes funções na proteção contra microrganismos.



**FIGURA 6-7** Mapas esquemáticos de *loci* do MHC humanos e de camundongos.

A organização básica dos genes no locus do MHC é semelhante entre seres humanos e camundongos. Os tamanhos dos genes e os segmentos de DNA intervenientes não são apresentados em escala. Os *loci* da classe II são apresentados como blocos simples, mas cada locus é composto de vários genes. O locus do MHC da "classe III" refere-se aos genes que codificam moléculas diferentes das moléculas peptídicas de apresentação; normalmente, este termo não é usado.

**Os genes do MHC da classe I e classe II são os genes mais polimórficos presentes em qualquer genoma de mamífero.** Os estudos do camundongo MHC foram realizados com um número limitado de linhagens. Embora tenha sido observado que os genes do camundongo do MHC eram polimórficos, somente cerca de 20 alelos de cada gene do MHC foram identificados nas linhagens isogênicas de camundongos. Estudos sorológicos humanos foram conduzidos em populações humanas não isogênicas. Uma característica notável que surgiu a partir dos estudos dos genes do MHC humanos é a extensão inesperada de variação entre os indivíduos, chamada de **polimorfismo**. Na população, o número total de alelos do HLA com diferentes sequências de aminoácidos está estimado em mais de 5.000, com mais de 2.500 alelos somente para o locus HLA-B. As variações nas moléculas do MHC (representando o polimorfismo) resultam da herança de distintas sequências de DNA e não são induzidas por recombinação genética (já que estão em receptores



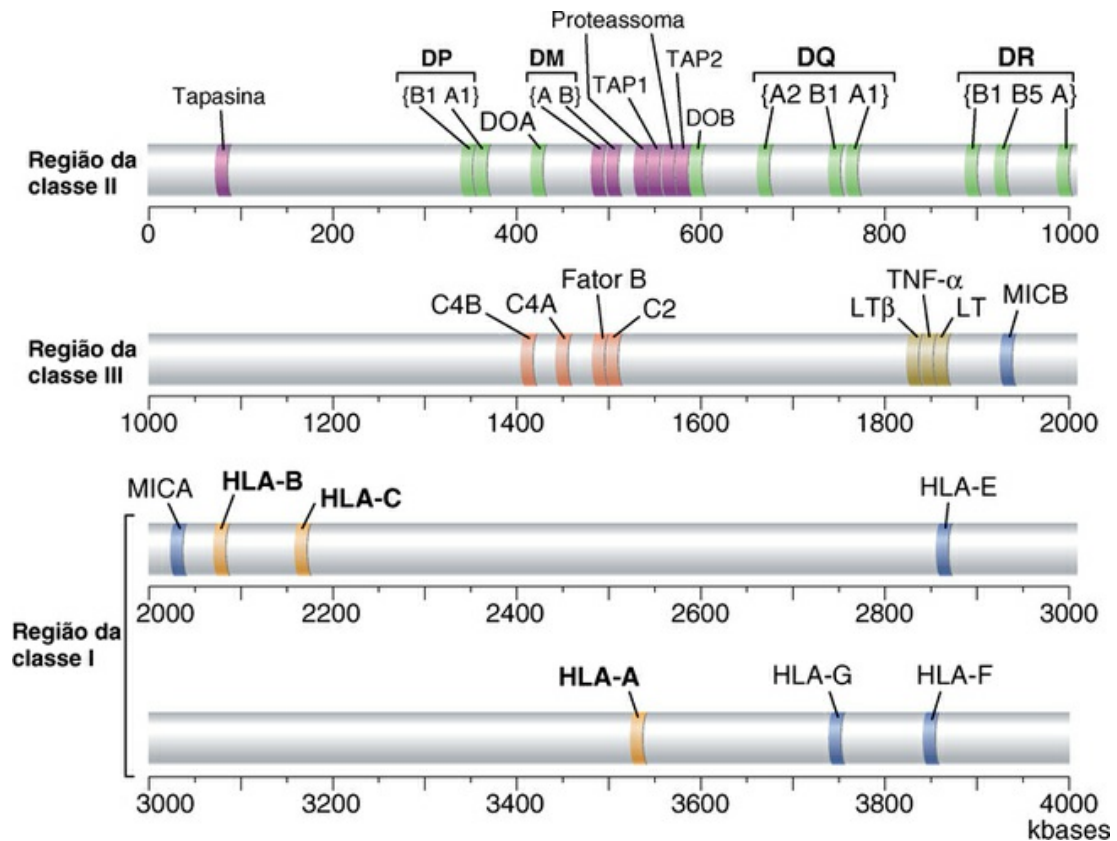
de antígenos; [Capítulo 8](#)). Como discutiremos mais adiante neste capítulo, os resíduos polimórficos de moléculas do MHC determinam a especificidade da ligação de peptídeos e o reconhecimento de antígenos pelas células T, o que levou à questão de por que os genes do MHC são polimórficos. O polimorfismo do MHC pode ter se desenvolvido porque garante que os indivíduos serão capazes de lidar com a diversidade de microrganismos e que as populações serão protegidas contra a perda devastadora da vida devido a infecções emergentes. Mas as pressões seletivas que preservaram um número tão grande de alelos como na população não são compreendidas.

***Os genes do MHC são expressos de modo codominante em cada indivíduo.***

Em outras palavras, para determinado gene do MHC, cada indivíduo expressa os alelos que são herdados de cada um de seus progenitores. Para o indivíduo, isto aumenta o número de moléculas do MHC disponíveis para ligarem-se a peptídeos para apresentação às células T.

### **Locis do MHC Humanos e de Camundongos**

Nos humanos, o MHC está localizado no braço curto do cromossomo 6 e ocupa um grande segmento de DNA, que se estende por cerca de 3.500 quilobases (kb). (Para efeito de comparação, um gene humano grande pode estender-se até 50 a 100 kb e o tamanho da totalidade do genoma da bactéria *Escherichia coli* é de aproximadamente 4500 kb.) Em termos genéticos clássicos, o locus do MHC se estende por cerca de 4 centimorgans, o que significa que cruzamentos no MHC ocorrem em cerca de 4% das meioses. Um mapa molecular do MHC humano é mostrado na [Figura 6-8](#).



**FIGURA 6-8** Mapa do MHC humano.

Os genes localizados no interior do lócus do MHC humano foram ilustrados. Além dos genes do MHC da classe I e classe II, o *HLA-E*, o *HLA-F* e o *HLA-G* e os genes *MIC* codificam moléculas semelhantes à classe I, muitas das quais são reconhecidas por células NK; os genes *C4*, *C2*, e do *Fator B* codificam proteínas do complemento; a *tapasina*, *DM*, *DO*, *TAP* e *proteassoma* codificam proteínas envolvidas no processamento de antígenos; *LTα*, *LTβ*, e *TNF* codificam citocinas. Muitos pseudogenes e genes cujos papéis na resposta imune não foram estabelecidos estão localizados no complexo do HLA, mas eles não foram ilustrados para simplificar o mapa.

Os genes do HLA de classe I humanos foram definidos pela primeira vez por abordagens sorológicas (ligação de anticorpos). Há três genes do MHC da classe I chamados de *HLA-A*, *HLA-B* e *HLA-C* que codificam para três tipos de moléculas do MHC da classe I com os mesmos nomes. Os genes do MHC da classe II foram identificados pela primeira vez através de ensaios nos quais as células T de um indivíduo seriam ativadas pelas células de outro indivíduo (chamado de reação mista de linfócitos; [Capítulo 17](#)). Existem três *loci* de HLA da classe II chamados de *HLA-DP*, *HLA-DQ* e *HLA-DR*. Cada molécula do MHC de classe II é composta por um heterodímero de polipeptídios  $\alpha$  e  $\beta$ , e cada um dos *loci DP*, *DQ* e *DR* e contém genes

separados designados *A* ou *B* que codificam as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ , respectivamente, em cada cópia do cromossomo 6. Cada indivíduo possui dois genes *HLA-DP* (chamados de *DPA1* e *DPB1* que codificam cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ ), dois genes *HLA-DQ $\alpha$*  (*DQA1*, 2), um gene *HLA-DQ $\beta$*  (*DQB1*), um gene *HLA-DR $\alpha$*  (*DRA1*) e um ou dois genes *HLA-DR $\beta$*  (*DRB1* e *DRB3*, 4 ou 5). A nomenclatura do locus do HLA leva em conta o enorme polimorfismo identificado por métodos sorológicos e moleculares. Assim, com base na tipagem molecular moderna, os alelos individuais podem ser chamados de *HLA-A\*0201*, referindo-se ao subtipo 01 do *HLA-A2*, ou *HLA-DRB1\*0401*, referindo-se subtipo 01 do gene *DR4B1*, e assim por diante.

O camundongo do MHC, localizado no cromossomo 17, ocupa cerca de 2000 kb de DNA, e os genes são organizados em uma ordem ligeiramente diferente do gene do MHC humano. Um dos genes da classe I do camundongo (*H-2K*) é centromérico em relação à região da classe II, mas os outros genes da classe I são teloméricos em relação à região da classe II. Existem três genes do MHC da classe I de camundongo chamados *H-2K*, *H-2D*, e *H-2L* que codificam três proteínas do MHC de classe I diferentes, K, D, e L. Esses genes são homólogos aos genes humanos *HLA-A*, *-B*, e *-C*. Os alelos do MHC de determinadas linhagens isogênicas de camundongos são designados por letras minúsculas (p. ex., *a*, *b*), levando o nome de todo o conjunto de genes do MHC da linhagem de camundongos em que foram identificados pela primeira vez. Na linguagem dos geneticistas de camundongos, o alelo do gene *H-2K* em uma linhagem com o MHC tipo k é chamado de  $K^k$  (pronunciado K de k), enquanto o alelo do gene *H-2K* em uma linhagem com MHC tipo d é chamado  $K^d$  (K de d). Semelhante terminologia é usada para alelos *H-2D* e *H-2L*. Os camundongos possuem dois loci do MHC de classe II chamados de *I-A* e *I-E*, que codificam as moléculas I-A e I-E, respectivamente. Estes estão localizados nas sub-regiões A e E da região de Ir do MHC e descobriu-se que correspondiam aos genes Ir discutidos anteriormente. Os genes da classe II do camundongo são homólogos aos genes humanos *HLA-DP*, *DQ* e *DR*. O alelo *I-A* descoberto na linhagem isogênica de camundongo com os alelos  $K^k$  e  $D^k$  é chamado de  $I-A^k$  (pronuncia I A de k). Semelhante terminologia é utilizada para o alelo *I-E*. Tal qual nos seres humanos, na verdade existem dois genes distintos, denominados *A* e *B*, nos loci *I-A* e *I-E* que codificam as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  de cada molécula do MHC da classe II.

O conjunto de alelos do MHC presentes em cada cromossomo é chamado de **haplótipo** do MHC. Por exemplo, um haplótipo do HLA de um indivíduo pode ser a *HLA-A2*, *B5*, *DR3*, e assim por diante. Todos os indivíduos heterozigotos, é claro, possuem dois haplótipos do HLA. Camundongos isogênicos, sendo homozigotos, possuem um único haplótipo. Assim, o haplótipo de um camundongo  $H-2^d$  é  $H-2K^d$   $I-A^d$   $I-E^d$   $D^d$   $L^d$ .

## Expressão de Moléculas do MHC

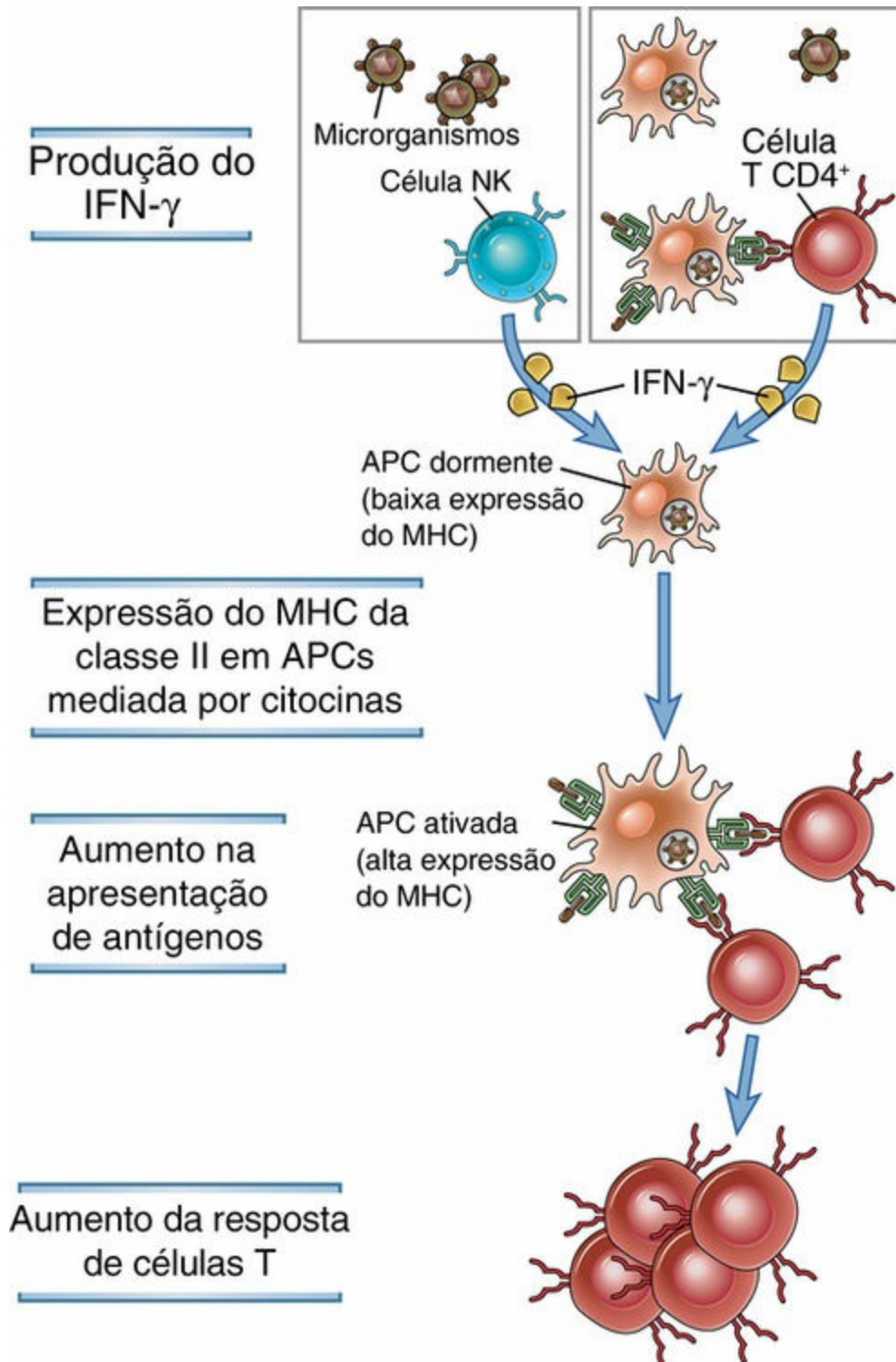
Devido às moléculas do MHC serem necessárias para apresentar antígenos aos linfócitos T, a expressão destas proteínas em uma célula determina se antígenos exógenos (p. ex., microbianos) nesta célula serão reconhecidos por células T. Existem várias características importantes da expressão de moléculas do MHC que contribuem para o seu papel na proteção dos indivíduos contra diversas infecções microbianas.

***As moléculas da classe I são expressas em virtualmente todas as células nucleadas, enquanto as moléculas da classe II são expressas apenas em células dendríticas, linfócitos B, macrófagos e alguns outros tipos de células.*** Este padrão de expressão do MHC está ligado às funções das células T restritas à classe I e restritas à classe II. Tal como discutido anteriormente, as CTL CD8<sup>+</sup> restritas à classe I matam células infectadas com microrganismos intracelulares, tais como vírus, e tumores que expressam antígenos tumorais, e qualquer célula nucleada pode abrigar um vírus ou evoluir para um câncer. Assim, a expressão de moléculas do MHC da classe I em células nucleadas fornece um essencial sistema de apresentação de antígenos virais e tumorais. Em contraste, os linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> restritos à classe II possuem um conjunto de funções que requer o reconhecimento de antígenos apresentados por um número mais reduzido de tipos celulares. As células T CD4<sup>+</sup> virgens, particularmente, precisam reconhecer que os antígenos são capturados e apresentados por células dendríticas em órgãos linfoides. Os linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> diferenciados atuam principalmente na ativação (ou no auxílio) de macrófagos para a eliminação dos microrganismos extracelulares que foram fagocitados, e no auxílio dos linfócitos B na produção de anticorpos que também eliminam microrganismos extracelulares. As moléculas de classe II são expressas principalmente nestes tipos de células e promovem um sistema de apresentação de peptídeos derivados de microrganismos e proteínas extracelulares.

***A expressão de moléculas do MHC é aumentada pelas citocinas produzidas durante as respostas imunes inata e adaptativa.*** Apesar de moléculas da classe I serem expressas constitutivamente em células nucleadas, sua expressão é aumentada pelos interferons IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IFN- $\gamma$ . Os interferons são citocinas produzidas durante a resposta imune inata inicial contra muitos vírus (Cap. 4). Assim, as respostas imunes inatas contra vírus aumentam a expressão das moléculas do MHC que apresentam antígenos virais para as células T específicas para vírus. Este é um dos mecanismos pelos quais a imunidade inata estimula as respostas imunes adaptativas.

A expressão de moléculas da classe II também é regulada por citocinas e outros sinais em diferentes células. O IFN- $\gamma$  é a principal citocina envolvida no estímulo da expressão de moléculas da classe II em APCs tais como as células dendríticas e macrófagos (Fig. 6-9). O IFN- $\gamma$  pode ser produzido por células NK nas reações

imunes inatas e por células T ativadas por antígenos durante as reações imunes adaptativas. A capacidade do IFN- $\gamma$  de aumentar a expressão do MHC da classe II nas APCs corresponde a um mecanismo de amplificação na imunidade adaptativa. Como mencionado anteriormente, a expressão de moléculas da classe II também aumenta em resposta aos sinais emitidos pelos receptores do tipo Toll como resposta a componentes microbianos, promovendo desta forma a apresentação de antígenos microbianos. Os linfócitos B expressam constitutivamente moléculas da classe II e podem aumentar a expressão em resposta ao reconhecimento de antígenos e citocinas produzidas pelas células T auxiliares, aumentando assim a apresentação de antígenos para células auxiliares (Cap. 12). O IFN- $\gamma$  também pode aumentar a expressão de moléculas do MHC nas células endoteliais vasculares e em outros tipos de células não imunes; o papel destas células na apresentação de antígenos aos linfócitos T não está claro, tal como mencionado anteriormente. Algumas células, tais como os neurônios, não parecem expressar moléculas da classe II. Após serem ativadas, as células T humanas, mas não de camundongos, expressam moléculas da classe II; no entanto, nenhuma citocina foi identificada nesta resposta e seu significado funcional é desconhecido.



**FIGURA 6-9** Aumento da expressão do MHC da classe II pelo IFN- $\gamma$ .

O IFN- $\gamma$ , produzido pelas células NK e por outros tipos de células nas reações imunes inatas a microrganismos ou por células T nas reações imunes adaptativas, estimula a expressão do MHC da classe II nas APCs e, desta forma, aumenta a ativação de células T CD4<sup>+</sup>. O IFN- $\gamma$  e interferons



do tipo I têm efeito semelhante na expressão de moléculas do MHC da classe I e na ativação de células T CD8<sup>+</sup>.

**A taxa de transcrição é o principal determinante do nível da síntese de moléculas do MHC e expressão na superfície da célula.** As citocinas aumentam a expressão do MHC estimulando a transcrição dos genes da classe I e da classe II em uma grande variedade de tipos de células. Estes efeitos são mediados pela ligação de fatores de transcrição ativados por citocinas às regiões promotoras de genes do MHC nas sequências de DNA. Vários fatores de transcrição podem ser construídos; eles se ligam a uma proteína chamada ativador de transcrição da classe II (CIITA) e todo o complexo se liga ao promotor da classe II, promovendo uma transcrição eficiente. Ao manter o complexo de fatores de transcrição unido, o CIITA atua como o principal regulador da expressão do gene da classe II. Mutações em vários destes fatores de transcrição foram identificadas como a causa de doenças da imunodeficiência humana, associada à expressão deficiente de moléculas do MHC. Destas, a doença mais bem estudada é a **síndrome do linfócito nu** (Cap. 21). Camundongos *knockouts* sem CIITA mostram também redução ou ausência da expressão da classe II em células dendríticas e linfócitos B e IFN- $\gamma$  incapaz de induzir a expressão da classe II em todos os tipos de células.

A expressão de muitas proteínas envolvidas no processamento e apresentação de antígenos é coordenadamente regulada. Por exemplo, o IFN- $\gamma$  aumenta a transcrição de genes não somente da classe I e da classe II, mas também de vários genes cujos produtos são necessários para a montagem do MHC da classe I e apresentação de peptídeos, tais como genes que codificam o transportador TAP e de algumas das subunidades de proteossomas, discutido mais adiante neste capítulo.

## As Moléculas do MHC

Estudos bioquímicos de moléculas do MHC solucionaram as estruturas cristalinas das porções extracelulares de moléculas da classe I e classe II humanas. Posteriormente, muitas moléculas do MHC ligadas a peptídeos foram cristalizadas e analisadas em detalhes. Este conhecimento tem sido extremamente informativo e, por causa disso, agora entendemos como as moléculas do MHC se ligam e apresentam peptídeos. Nesta seção, resumiremos inicialmente as características bioquímicas funcionalmente importantes comuns às moléculas do MHC da classe I e classe II. Descreveremos, então, a estrutura das proteínas da classe I e classe II, destacando suas significativas semelhanças e diferenças (Tabela 6-4).

**Tabela 6-4****Características das Moléculas do MHC da Classe I e da Classe II**

Característica	MHC da Classe I	MHC da Classe II
Cadeias polipeptídicas	$\alpha$ microglobulina $\beta_2$	$\alpha$ e $\beta$
Localização dos resíduos polimórficos	Domínios $\alpha_1$ e $\alpha_2$	Domínios $\alpha_1$ e $\beta_1$
Local de ligação do correceptor da célula T	CD8 se liga principalmente ao domínio $\alpha_3$	CD4 se liga a um bolsão criado por partes dos domínios $\alpha_2$ e $\beta_2$
Tamanho da fenda de ligação do peptídeo	Acomoda peptídeos de 8-11 resíduos	Acomoda peptídeos de 10-30 resíduos ou mais
Nomenclatura		
Humanos	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
Camundongos	H-2K, H-2D, H-2L	I-A, I-E

**Propriedades Gerais das Moléculas do MHC**

Todas as moléculas do MHC partilham determinadas características estruturais que são críticas para o seu papel na apresentação de peptídeos e para o reconhecimento de antígenos por linfócitos T.

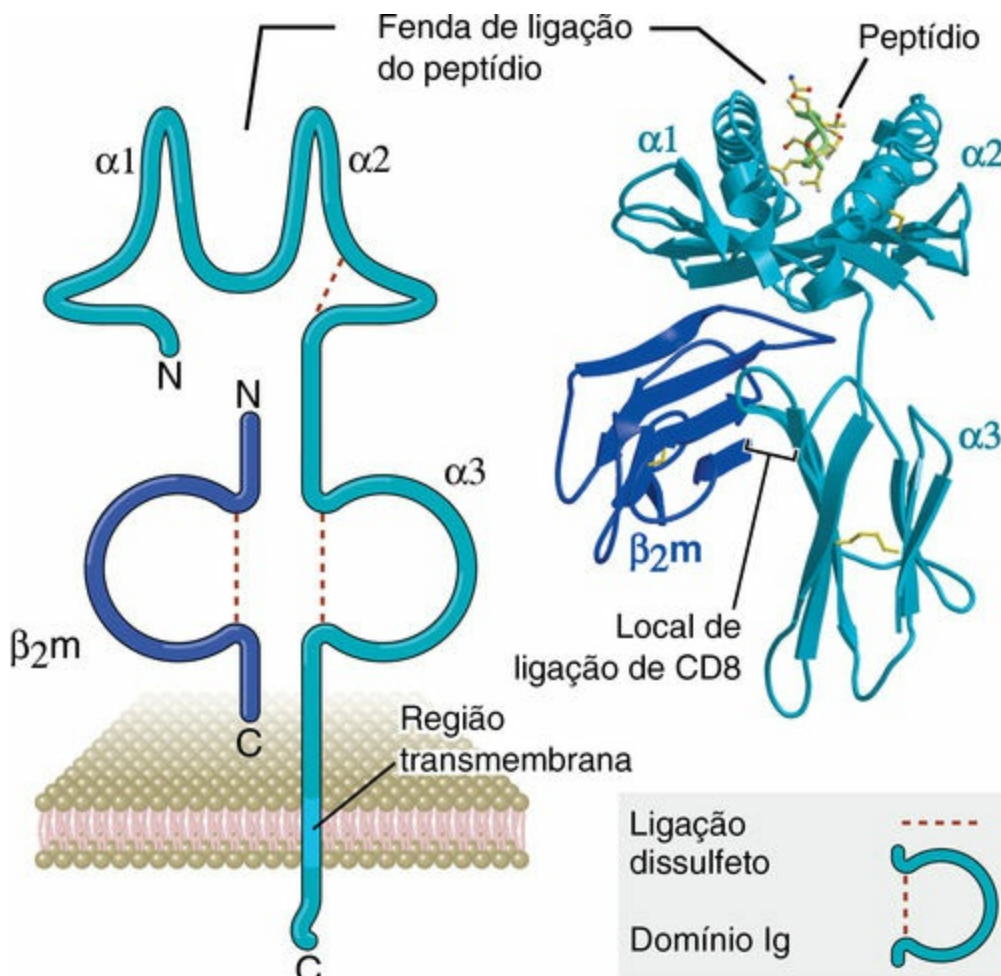
- **Cada molécula do MHC é constituída por uma fenda de ligação a peptídeos extracelulares, seguida de domínios tipo imunoglobulina (Ig) e domínios transmembrana e citoplasmáticos.** As moléculas da classe I são compostas por uma cadeia de polipeptídeos codificada no MHC e por uma segunda cadeia não codificada no MHC, enquanto as moléculas da classe II são constituídas por duas cadeias polipeptídicas codificadas no MHC. Apesar desta diferença, as estruturas tridimensionais globais das moléculas da classe I e classe II são semelhantes.
- **Os resíduos de aminoácidos polimórficos de moléculas do MHC estão localizados no interior e nas adjacências da fenda de ligação do peptídeo.** Esta fenda (também chamada de sulco) é formada pelo dobramento dos terminais amina das proteínas codificadas no MHC e é composta por  $\alpha$ -hélices pareadas que formam as duas paredes da fenda, que repousa sobre uma base de oito cadeias de folhas  $\beta$ -pregueadas. Os resíduos polimórficos, que correspondem aos aminoácidos variantes dentre os diferentes alelos do MHC, estão localizados na base e nas paredes desta fenda. Esta porção da molécula do MHC se liga aos peptídeos para apresentá-los às células T e os receptores de antígenos das células T interagem com o peptídeo apresentado e também com as  $\alpha$ -hélices das moléculas do MHC (Fig. 6-1). Devido à variabilidade dos aminoácidos nesta região, diferentes moléculas do MHC se ligam e apresentam peptídeos diferentes e são reconhecidas especificamente pelos receptores de antígenos de diferentes células T.
- **Os domínios tipo Ig não polimórficos das moléculas do MHC contêm locais de ligação para as moléculas CD4 e CD8 das células T.** O CD4 e o CD8 são

expressos em subpopulações distintas de linfócitos T maduros e participam, junto aos receptores de antígenos, no reconhecimento do antígeno; ou seja, o CD4 e o CD8 são os correceptores das células T (Cap. 7). O CD4 se liga seletivamente a moléculas do MHC da classe II e o CD8 se liga a moléculas da classe I. É por isso que **as células T auxiliares CD4<sup>+</sup> reconhecem moléculas do MHC da classe II que apresentam peptídios, ao passo que as células T CD8<sup>+</sup> reconhecem moléculas do MHC da classe I com peptídios ligados**. Em outras palavras, as células T CD4<sup>+</sup> são restritas ao MHC da classe II e as células T CD8<sup>+</sup> são restritas ao MHC da classe I, porque os locais de ligação do CD4 e do CD8 estão sobre as moléculas do MHC da classe II e da classe I, respectivamente.

### As Moléculas do MHC da Classe I

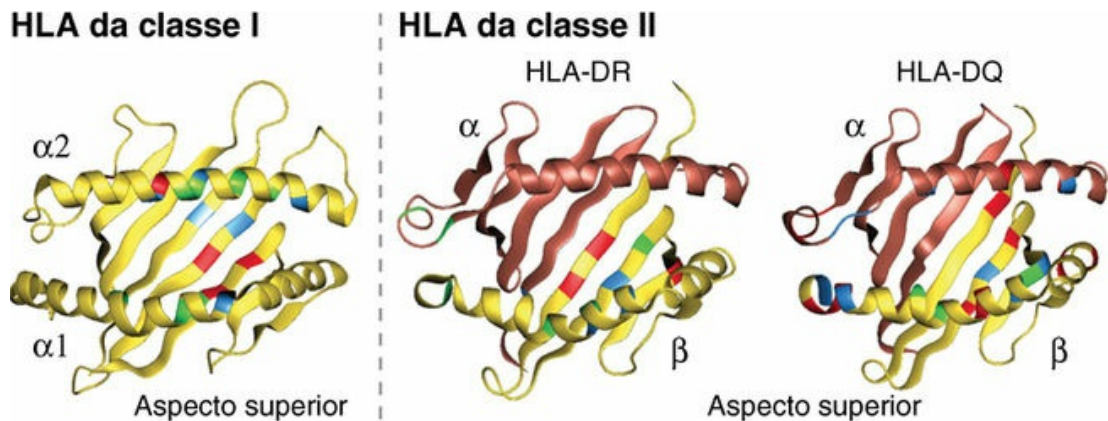
As moléculas da classe I são compostas por duas cadeias polipeptídicas ligadas de forma não covalente, por uma cadeia  $\alpha$  (ou cadeia pesada) de 44 a 47 kD codificada no MHC e uma por uma subunidade de 12 kD não codificada no MHC chamada de microglobulina  $\beta_2$  (Fig. 6-10). Cada cadeia  $\alpha$  está orientada de modo que cerca de três quartos do polipeptídeo é extracelular, um curto segmento hidrofóbico atravessa a membrana plasmática e os resíduos carboxiterminais ficam localizados no citoplasma. Os segmentos aminoterminais  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  da cadeia  $\alpha$ , cada um com aproximadamente 90 resíduos de comprimento, interagem de modo a formar uma base de oito cadeias de folhas  $\beta$ -pregueadas antiparalelas de que sustentam duas cadeias paralelas de  $\alpha$ -hélice. Isto constitui a fenda de ligação do peptídeo das moléculas da classe I. Seu tamanho é grande o suficiente ( $\sim 25 \text{ \AA} \times 10 \text{ \AA} \times 11 \text{ \AA}$ ) para ligar-se a peptídios de 8 a 11 aminoácidos em uma conformação flexível e estendida. As extremidades da fenda de ligação do peptídeo da classe I são fechadas, de modo que peptídios maiores não podem ser acomodados. Portanto, as proteínas globulares nativas devem ser convertidas em fragmentos suficientemente pequenos, em forma linear prolongada, para que possam ligar-se a moléculas do MHC e ser reconhecidas pelas células T (descrito mais adiante). Os resíduos polimórficos das moléculas da classe I são limitados aos domínios  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , onde contribuem para variações entre os diferentes alelos da classe I quanto à ligação de peptídios e ao reconhecimento das células T (Fig. 6-11). O segmento  $\alpha_3$  da cadeia  $\alpha$  se dobra em um domínio de Ig cuja sequência de aminoácidos está conservada entre todas as moléculas da classe I. Este segmento contém a maior parte do local de ligação ao CD8, mas o domínio  $\beta_2m$  e uma pequena parte da porção inferior do domínio  $\alpha_2$  também contribuem. Na extremidade carboxiterminal do segmento  $\alpha_3$  existe uma cadeia de cerca de 25 aminoácidos hidrofóbicos que atravessam a bicamada lipídica da membrana plasmática. Imediatamente após, há aproximadamente 30 resíduos localizados no citoplasma que incluem um conjunto de aminoácidos básicos, que interagem com os grupos de cabeças de fosfolipídios do folheto interno da bicamada

lipídica e ancoram a molécula do MHC na membrana plasmática.



**FIGURA 6-10** Estrutura de uma molécula do MHC da classe I.

O diagrama esquemático (*esquerda*) ilustra as diferentes regiões da molécula do MHC (não apresentado em escala). As moléculas da classe I são compostas por uma cadeia  $\alpha$  polimórfica não covalentemente ligada à microglobulina  $\beta 2$  não polimórfica ( $\beta 2m$ ). A cadeia  $\alpha$  é glicosilada; os resíduos de carboidratos não foram ilustrados. O diagrama de fitas (*direita*) apresenta a estrutura da porção extracelular da molécula HLA-B27 ligada a um peptídeo, elucidada por cristalografia de raios X. (Cortesia de Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology Pasadena.)



**FIGURA 6-11** Resíduos polimórficos de moléculas do MHC. Os resíduos polimórficos das moléculas do MHC da classe I e classe II estão localizados nas fendas de ligação do peptídeo e as  $\alpha$ -hélices ao redor das fendas. As regiões de maior variabilidade entre os diferentes alelos do HLA foram indicadas em vermelho, de variabilidade intermediária em verde e de menor variabilidade em azul. (Reproduzido com a permissão de Margulies DH, Natarajan K, J Rossjohn, McCluskey J: Major histocompatibility complex [MHC] molecules: structure, function, and genetics. In Paul WE [ed]: Fundamental immunology, 6th ed, Philadelphia, 2008, Lippincott Williams & Wilkins).

A microglobulina  $\beta 2$ , a cadeia leve das moléculas da classe I, é codificada por um gene não presente no MHC e é nomeada desta forma devido à sua mobilidade eletroforética ( $\beta 2$ ), tamanho (micro) e solubilidade (globulina). A microglobulina  $\beta 2$  interage de maneira não covalente com o domínio  $\alpha 3$  da cadeia  $\alpha$ . Tal como o segmento  $\alpha 3$ , a microglobulina  $\beta 2$  é estruturalmente homóloga a um domínio Ig e é invariante entre todas as moléculas da classe I.

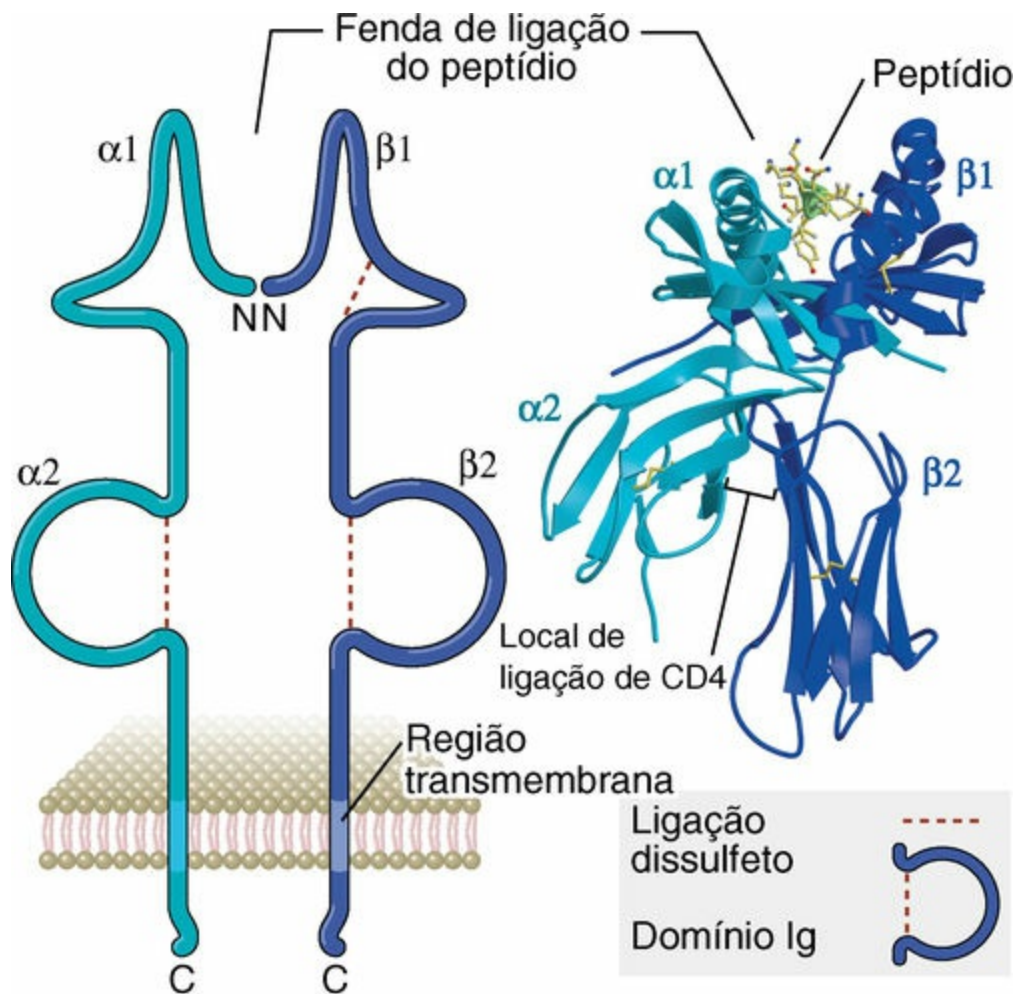
***A molécula da classe I totalmente montada corresponde a um trímero constituído por uma cadeia  $\alpha$ , uma microglobulina  $\beta 2$  e um peptídeo ligado, e a expressão estável das moléculas da classe I nas superfícies celulares requer a presença dos três componentes do complexo trimérico.*** A razão para isto é que a interação entre a cadeia  $\alpha$  e a microglobulina  $\beta 2$  é estabilizada pela ligação de peptídeos antigénicos à fenda formada pelos segmentos  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$  e, reciprocamente, a ligação do peptídeo é reforçada pela interação entre a microglobulina  $\beta 2$  e a cadeia  $\alpha$ . Como os peptídeos são necessários para estabilizar moléculas do MHC e complexos instáveis são degradados, somente as moléculas do MHC carregadas com peptídeos e potencialmente úteis são expressas na superfície das células.

A maioria dos indivíduos são heterozigóticos para os genes do MHC e, portanto, expressam seis moléculas de classe I distintas em cada célula, as quais contêm cadeias  $\alpha$  codificadas pelos dois alelos herdados dos genes *HLA-A*, *B* e *C*.

## **Moléculas do MHC da Classe II**

As moléculas do MHC da classe II são compostas por duas cadeias polipeptídicas não covalentemente associadas, uma cadeia  $\alpha$  de 32 a 34 kD e uma cadeia  $\beta$  de 29 a 32 kD (Fig. 6-12). Ao contrário das moléculas da classe I, os genes que codificam ambas as cadeias de moléculas da classe II são polimórficos e estão presentes no locus do MHC.





**FIGURA 6-12** Estrutura de uma molécula do MHC da classe II.

O diagrama esquemático (*esquerda*) ilustra as diferentes regiões da molécula do MHC (não apresentado em escala). As moléculas da classe II são compostas por uma cadeia  $\alpha$  polimórfica não covalentemente ligada a uma cadeia  $\beta$  polimórfica. Ambas as cadeias são glicosiladas; os resíduos de carboidratos não foram mostrados. O diagrama em fitas (*direita*) mostra a estrutura da porção extracelular da molécula do HLA-DR1 com um peptídeo ligado, elucidada por cristalografia de raios-X. (Cortesia de Dr. P. Bjorkman, California Institute of Technology, Pasadena.)

Os segmentos amino-terminais  $\alpha 1$  e  $\beta 1$  das cadeias da classe II interagem de maneira a formar a fenda de ligação do peptídeo, estruturalmente semelhante à fenda das moléculas da classe I. Quatro cadeias da base da fenda e uma das paredes de  $\alpha$ -hélice são formadas pelo segmento  $\alpha 1$ , e as outras quatro cadeias da base e a segunda parede são formadas pelo segmento  $\beta 1$ . Os resíduos polimórficos estão localizados nos segmentos  $\alpha 1$  e  $\beta 1$ , dentro e em torno da fenda de ligação do

peptídeo, tal como nas moléculas da classe I (Fig. 6-11). Em moléculas humanas da classe II, a maior parte dos polimorfismos se encontra na cadeia  $\beta$ . Em moléculas da classe II, as extremidades da fenda de ligação do peptídeo estão abertas, de modo que peptídios de 30 resíduos ou mais conseguem se encaixar.

Os segmentos  $\alpha 2$  e  $\beta 2$  das moléculas da classe II, como o  $\alpha 3$  e a microglobulina  $\beta 2$  da classe I, são dobrados em domínios de Ig e são não polimórficos, isto é, não variam entre alelos de um gene particular da classe II. Os domínios  $\alpha 2$  e  $\beta 2$  das moléculas da classe II formam uma concavidade que acomoda uma protrusão da proteína CD4, permitindo assim que ocorra a ligação. As extremidades carboxiterminais dos segmentos  $\alpha 2$  e  $\beta 2$  continuam como curtas regiões de ligação seguidas por porções de cerca de 25 aminoácidos de resíduos transmembranares hidrofóbicos. Em ambas as cadeias, as regiões transmembranares terminam com grupos de resíduos de aminoácidos básicos, seguidos por curtas caudas citoplasmáticas hidrofílicas.

***A molécula da classe II totalmente montada corresponde a um trímero constituído por uma cadeia  $\alpha$ , uma cadeia  $\beta$  e um peptídeo antigénico ligado, e a expressão estável das moléculas da classe II na superfície das células requer a presença de todos os três componentes do trímero.*** Tal como nas moléculas da classe I, isto garante que as moléculas do MHC que terminam na superfície da célula sejam as moléculas que estão cumprindo sua função normal de apresentação de peptídios.

Os seres humanos herdam de cada progenitor um gene *DPA* e um gene *DPB* que codifica, respectivamente, as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  de uma molécula do HLA-DP; um gene *DQA* funcional e um gene *DQB*; um gene *DRA* e um ou dois genes *DRB* funcionais. Assim, cada indivíduo heterozigoto herda de seis a oito alelos do MHC da classe II, de três ou quatro de cada progenitor (um conjunto de cada de *DP* e *DQ*, e um ou dois de *DR*). Normalmente, não ocorrem muitos emparelhamentos de proteínas do MHC de *loci* diferentes (ou seja, *DR $\alpha$*  com *DQ $\beta$* , e assim por diante) e cada haplótipo tende a ser herdado como uma única unidade. No entanto, como alguns haplótipos contêm *loci* de *DRB* extras que produzem cadeias  $\beta$  que se combinam com *DR $\alpha$*  e algumas moléculas *DQ $\alpha$*  codificadas em um cromossomo podem ser combinadas com as moléculas *DQ $\beta$*  produzidas a partir de outro cromossomo, o número total de moléculas de classe II expressas pode ser superior a oito.

## Ligação de Peptídios às Moléculas do MHC

Após a constatação de que a imunogenicidade das proteínas depende da capacidade de seus peptídios de serem exibidos por moléculas do MHC, um esforço considerável tem sido dedicado a elucidar a base molecular das interações peptídeo-MHC e as características dos peptídios que lhes permitem ligar-se a moléculas do MHC. Estes estudos basearam-se, inicialmente, em ensaios funcionais com células T

auxiliares e CTLs que respondem a APCs, as quais foram incubadas com diferentes peptídeos. A ligação direta entre as moléculas do MHC e peptídeos foi estudada com moléculas do MHC purificadas e peptídeos em solução marcados com fluorescência ou radioativamente, utilizando métodos como diálise de equilíbrio e filtração em gel. A análise cristalográfica por raio X de complexos peptídeo-MHC forneceu informações definitivas sobre como os peptídeos se encaixam nas fendas das moléculas do MHC e quais resíduos de cada um participam nesta ligação. Na seção a seguir, resumiremos as principais características das interações entre os peptídeos e as moléculas do MHC da classe I ou da classe II.

## **Características de Moléculas de Peptídeo-MHC**

***As moléculas do MHC mostram uma ampla especificidade de ligação a peptídeos, em contraste com a fina especificidade de reconhecimento de antígenos dos receptores de antígenos dos linfócitos.*** Em outras palavras, um único alelo do MHC, por exemplo HLA-A2, pode apresentar qualquer um dos muitos peptídeos diferentes para as células T, mas uma única célula T irá reconhecer apenas um dos muitos complexos HLA-A2/peptídeo possíveis. Existem diversas características importantes nas interações entre moléculas do MHC com peptídeos antigênicos.

- ***Cada molécula do MHC da classe I ou da classe II tem uma única fenda de ligação do peptídeo que se liga a um peptídeo de cada vez, mas cada molécula do MHC pode se ligar a diversos peptídeos diferentes.*** Uma das primeiras linhas de evidência que sustentaram esta conclusão foi o resultado experimental de que os diferentes peptídeos que se ligam à mesma molécula do MHC são capazes de inibir competitivamente a apresentação do outro, o que implica que existe apenas uma única fenda de ligação do peptídeo em cada molécula do MHC. A elucidação da estrutura cristalina das moléculas do MHC da classe I e da classe II confirmou a presença de uma única fenda de ligação do peptídeo nestas moléculas (Figs. 6-10 e 6-12). Não é surpreendente que uma única molécula do MHC possa se ligar a diferentes peptídeos porque cada indivíduo possui apenas algumas moléculas do MHC diferentes (6 da classe I e cerca de 8 a 10 moléculas da classe II em um indivíduo heterozigoto), que devem ser capazes de apresentar peptídeos da enorme quantidade de proteínas antigênicas que seria possível encontrar.
- ***Os peptídeos que se ligam a moléculas do MHC possuem características estruturais semelhantes que promovem esta interação.*** Uma dessas características é o tamanho do peptídeo – as moléculas da classe I são capazes de acomodar peptídeos com 8 a 11 resíduos de comprimento e as moléculas da classe II podem ligar-se a peptídeos de 10 a 30 resíduos de comprimento ou mais, sendo 12-16 resíduos o comprimento ideal. Além disso, os peptídeos que se ligam a uma forma alélica específica da molécula do MHC contêm resíduos de aminoácidos que permitem interações complementares entre os peptídeos e este

alelo da molécula do MHC. Alguns resíduos de aminoácidos que promovem a ligação a moléculas do MHC serão descritos posteriormente, quando discutiremos a base estrutural das interações peptídeo-MHC. Os resíduos de um peptídeo que se liga às moléculas do MHC são distintos daqueles reconhecidos pelas células T.

- **As moléculas do MHC adquirem sua carga peptídica durante a sua biossíntese e montagem no interior das células.** Consequentemente, as moléculas do MHC apresentam peptídios derivados de microrganismos localizados no interior das células hospedeiras, e é por isso que as células T MHC-restritas reconhecem microrganismos associados a células e são mediadoras da imunidade contra microrganismos intracelulares. É importante destacar que as moléculas do MHC da classe I adquirem peptídios principalmente a partir das proteínas citossólicas e as moléculas da classe II a partir das proteínas presentes nas vesículas intracelulares. Os mecanismos e o significado destes processos serão discutidos mais adiante neste capítulo.
- **A associação de peptídios e moléculas do MHC é uma interação saturável com uma taxa de dissociação muito lenta.** Em uma célula, diversos chaperones e enzimas facilitam a ligação dos peptídios a moléculas do MHC (descrito posteriormente). Uma vez formados, a maioria dos complexos peptídeo-MHC são estáveis e as constantes cinéticas de dissociação são indicativas de meias-vidas longas que variam de horas a muitos dias. Esta taxa extraordinariamente lenta da dissociação de peptídios e moléculas do MHC garante que, após uma molécula do MHC ter adquirido um peptídeo, ela apresenta o peptídeo tempo suficiente para aumentar as chances de que uma célula T em particular encontre o peptídeo que é capaz de reconhecer e inicie uma resposta.
- **Um número muito pequeno de complexos peptídeo-MHC é capaz de ativar linfócitos T específicos.** Como as APCs apresentam continuamente peptídios derivados de todas as proteínas que encontram, apenas uma fração muito pequena de complexos peptídeo-MHC da superfície celular irá conter o mesmo peptídeo. Estimou-se que somente 100 complexos de um determinado peptídeo com uma molécula do MHC da classe II na superfície de uma APC são capazes de iniciar uma resposta específica das células T. Isto representa menos de 0,1% do número total de moléculas da classe II que poderiam estar presentes na superfície da APC.
- **As moléculas do MHC de um indivíduo não discriminam entre peptídios exógenos (p. ex., aqueles derivados de proteínas microbianas) e peptídios derivados de proteínas do próprio indivíduo (autoantígenos).** Desta forma, as moléculas do MHC apresentam tanto peptídios próprios como peptídios exógenos, e as células T monitoram estes peptídios apresentados para a presença de antígenos estranhos. Na verdade, se os peptídios normalmente apresentados pelas APCs fossem purificados, a maioria deles seria derivada de proteínas próprias. A incapacidade das moléculas do MHC de discriminar entre peptídios

próprios e estranhos levanta duas questões. Em primeiro lugar, como uma célula T é capaz de reconhecer e ser ativada por qualquer antígeno estranho se, normalmente, todas as APCs apresentam principalmente complexos peptídeo próprio-MHC? A resposta, como mencionado anteriormente, é que as células T são muito sensíveis e precisam reconhecer especificamente poucos complexos peptídeo-MHC para serem ativadas. Desta forma, um antígeno recentemente introduzido pode ser processado em peptídios que se associarão a um número suficiente de moléculas do MHC das APCs para ativar as células T específicas para esse antígeno, embora a maioria das moléculas do MHC esteja ocupada com os peptídios próprios. Além disso, os microrganismos (a fonte natural da maioria dos antígenos estranhos) aumentam a eficiência da apresentação de antígenos e induzem a expressão dos sinais secundários. Em segundo lugar, se os indivíduos processam suas próprias proteínas e apresentam-nas em associação a suas próprias moléculas do MHC, por que nós não desenvolvemos normalmente respostas imunes contra as proteínas próprias? A resposta a esta pergunta é que embora os complexos de peptídeo próprio-MHC sejam formados, eles não induzem a autoimunidade, porque as células T específicas para tais complexos são mortas ou inativadas. Portanto, as células T não podem responder normalmente a antígenos próprios (Cap. 15).

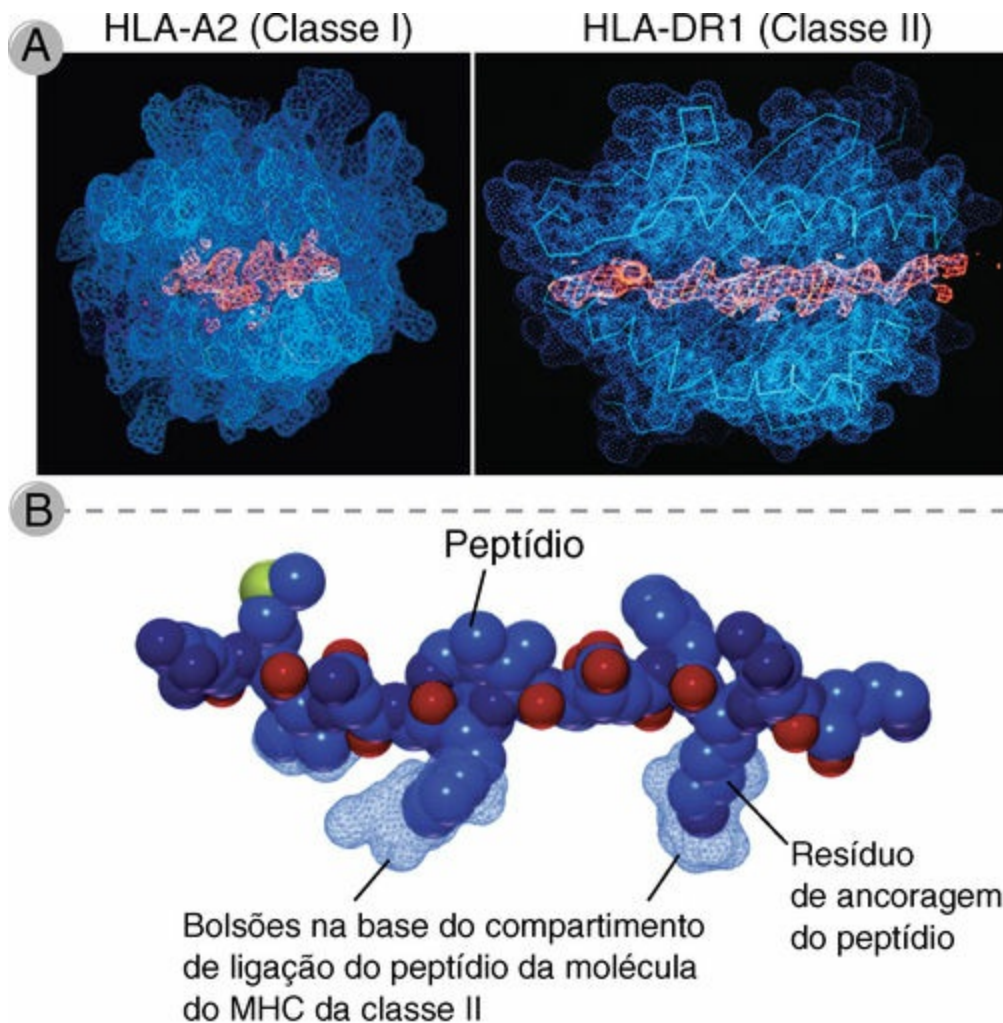
### **Base estrutural da ligação de peptídios a moléculas do MHC**

***A ligação dos peptídios às moléculas do MHC corresponde a uma interação não covalente mediada pelos resíduos dos peptídios e da fenda das moléculas do MHC.***

Como veremos posteriormente, os antígenos proteicos são proteoliticamente clivados nas APCs para gerar os peptídios que serão ligados e apresentados por moléculas do MHC. Estes peptídios ligam-se às fendas das moléculas do MHC sob conformação estendida. Uma vez ligados, os peptídios e suas moléculas de água associadas preenchem as fissuras, fazendo contatos com os resíduos de aminoácidos que formam as cadeias  $\beta$  da base e as  $\alpha$ -hélices das paredes da fenda (Fig. 6-13). No caso das moléculas do MHC de classe I, a associação de um peptídeo à fenda do MHC depende da ligação do terminal amina (N) carregado positivamente e do terminal carboxila (C) carregado negativamente do peptídeo à molécula do MHC por interações eletrostáticas. Na maioria das moléculas do MHC, as cadeias  $\beta$  da base da fenda contêm bolsões onde os resíduos peptídicos se ligam. Muitas moléculas da classe I possuem um bolso hidrofóbico que reconhece um dos seguintes aminoácidos hidrofóbicos — valina, isoleucina, leucina, ou metionina — na extremidade C-terminal do peptídeo. Algumas moléculas da classe I têm predileção por resíduos básicos (lisina ou arginina) no terminal C. Além disso, outros resíduos de aminoácidos de um peptídeo podem conter cadeias laterais que se encaixam em bolsões específicos e se ligam aos aminoácidos complementares na molécula do MHC por meio de interações eletrostáticas (pontes iônicas), ligações de

hidrogênio ou interações de van der Waals. Estes resíduos peptídicos são chamados de resíduos de ancoragem, porque contribuem com a maior parte das interações favoráveis da ligação (isto é, ancoram o peptídeo na fenda da molécula do MHC). Geralmente, cada peptídeo ligado ao MHC contém apenas um ou dois resíduos de ancoragem, e isto presumivelmente permite uma maior variabilidade dos outros resíduos do peptídeo, que são resíduos reconhecidos por células T específicas. No caso de alguns peptídeos que se ligam a moléculas do MHC, especialmente moléculas da classe II, as interações específicas dos peptídeos com as porções  $\alpha$ -hélices da fenda do MHC também contribuem para a ligação dos peptídeos através da formação de pontes de hidrogênio ou interações iônicas. As moléculas do MHC da classe II acomodam peptídeos maiores que as moléculas do MHC da classe I. Esses peptídeos mais longos prolongam-se para além de cada extremidade da base de fenda. Como muitos resíduos do interior e entorno da fenda de ligação do peptídeo das moléculas do MHC são polimórficos (isto é, diferem entre os diferentes alelos do MHC), diferentes alelos favorecem a ligação de diferentes peptídeos. Esta é a base estrutural para a função de genes do MHC como genes da resposta imune; somente os indivíduos que expressam alelos do MHC capazes de se associar a um peptídeo específico e exibi-lo às células T podem responder a esse peptídeo.





**FIGURA 6-13** Peptídio ligado a moléculas do MHC.

**A**, Estas ilustrações do aspecto superior das estruturas cristalinas das moléculas do MHC mostram como peptídios se ligam às fendas de ligação do peptídio. A molécula da classe I apresentada é o HLA-A2 e a molécula da classe II é o HLA-DR1. A fenda da molécula da classe I está fechada, enquanto a fenda da molécula da classe II está aberta. Como resultado, as moléculas da classe II acomodam peptídios mais longos que as moléculas da classe I. **B**, O aspecto lateral de um recorte de um peptídio ligado a uma molécula do MHC da classe II mostra como os resíduos de ancoragem do peptídio seguram-no nos bolsões da fenda da molécula do MHC. (A, Reproduzido com permissão de Macmillan Publishers Ltd. da Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC: Structure of the human class I histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature* 329:506-512, 1987 e Brown J, Jardetzky TS, Gorga JC, Stern LJ, RG Urban, Strominger JL, Wiley DC: Estrutura tridimensional do antígeno de

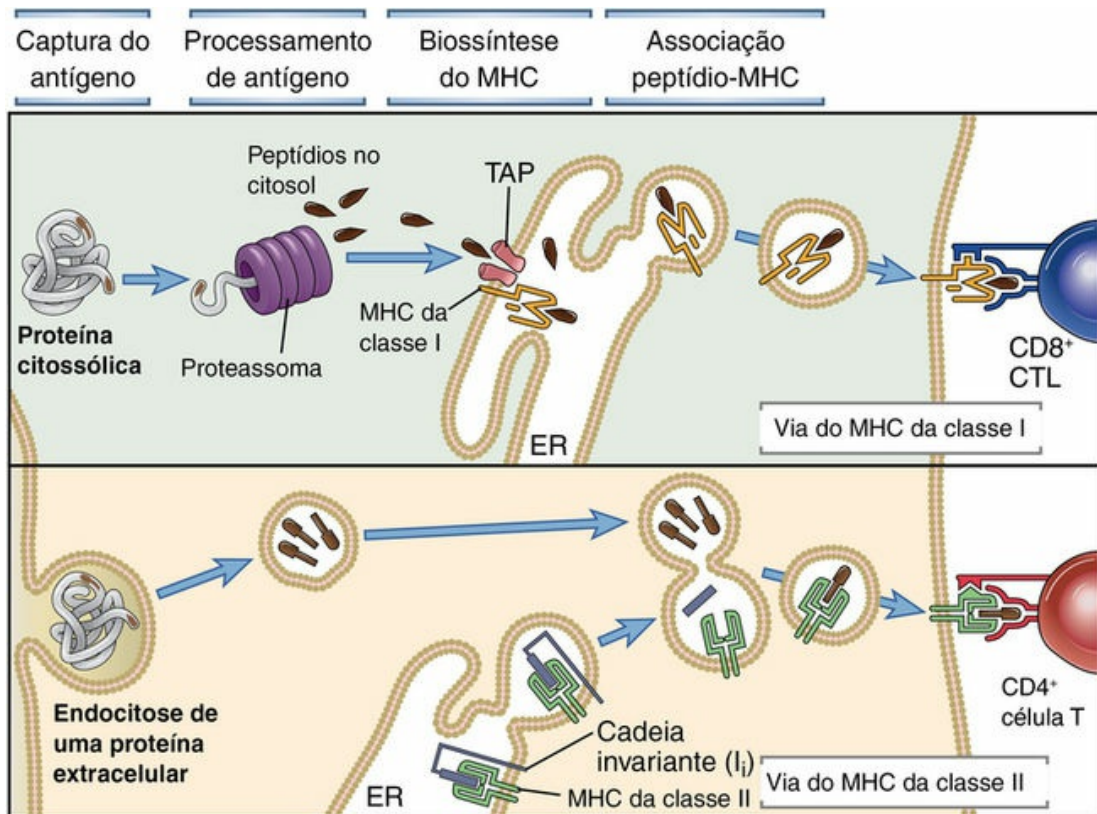
histocompatibilidade da classe II humano HLA-DR1 *Nature* 364:33-39, 1993. B, De Scott CA, Peterson PA, Teyton L, Wilson IA: Estruturas cristalinas de dois complexos I-A<sup>d</sup>-peptídio revelam que uma elevada afinidade pode ser alcançada sem resíduos de ancoragem grandes. *Immunity* 8:319-329, 1998. Copyright © 1998, com a permissão da Elsevier Science.)

***Os receptores de antígenos das células T reconhecem o peptídio antigênico e as moléculas do MHC, sendo o peptídio responsável pela fina especificidade do reconhecimento do antígeno e os resíduos do MHC contribuindo para restrição das células T ao MHC.*** Uma porção do peptídio ligado é exposta na abertura da fenda da molécula do MHC, e as cadeias laterais de aminoácidos desta porção do peptídio são reconhecidas pelos receptores de antígenos de células T específicos. O mesmo receptor de células T também interage com os resíduos polimórficos das  $\alpha$ -hélices da molécula do MHC (Fig. 6-1). Previsivelmente, variações no peptídio antigênico ou nas fendas de ligação do peptídio das moléculas do MHC irão alterar a apresentação deste peptídio ou seu reconhecimento pelas células T. Na verdade, pode-se aumentar a imunogenicidade de um peptídio incorporando-lhe um resíduo que reforça a sua ligação a moléculas do MHC geralmente herdadas em uma população.

Como as moléculas do MHC são capazes de ligar-se apenas aos peptídios, mas a maioria dos antígenos são proteínas grandes, deve haver maneiras pelas quais estas proteínas são transformadas em peptídios. A conversão é chamada de **processamento do antígeno** e é o foco do restante do capítulo.

## **Processamento de proteínas antigênicas**

***As vias de processamento de antígenos convertem antígenos de proteínas presentes no citosol ou internalizadas a partir do meio extracelular em peptídios e ligam estes peptídios a moléculas do MHC para apresentação aos linfócitos T (Fig. 6-14).*** Os mecanismos do processamento de antígenos têm por objetivo produzir peptídios que possuem as características estruturais necessárias para a associação com moléculas do MHC e colocar esses peptídios na mesma localização celular que as moléculas do MHC recém-formadas com fendas de ligação dos peptídios disponíveis. A ligação de peptídios a moléculas do MHC ocorre antes de expressão na superfície das células e é um componente integral da biossíntese e montagem de moléculas do MHC. De fato, tal como mencionado anteriormente, a associação de peptídios é necessária para a montagem estável e expressão de moléculas do MHC da classe I e da classe II na superfície.



**FIGURA 6-14** Vias de processamento e apresentação de antígenos.



Na via do MHC da classe I (*painel superior*), os antígenos de proteínas no citosol são processados por proteassomas e os peptídeos são transportados para o retículo endoplasmático (ER), onde se ligam a moléculas do MHC da classe I. Na via do MHC da classe II (*painel inferior*), os antígenos de proteínas extracelulares são endocitados em vesículas, onde os antígenos são processados e os peptídeos se ligam a moléculas do MHC da classe II. Os detalhes destas vias de processamento são ilustrados nas Figuras 6-16 e 6-17.

**Os antígenos de proteínas presentes no citosol (geralmente sintetizados na célula) dão origem a peptídeos associados à classe I que são reconhecidos por células T CD8<sup>+</sup>, ao passo que os antígenos interiorizados do meio extracelular para as vesículas das APCs geralmente dão origem a peptídeos apresentados pelas moléculas do MHC da classe II e reconhecidos pelas células T CD4<sup>+</sup>.** Os diferentes destinos dos antígenos citossólicos e vesiculares são devidos à segregação das vias de biossíntese e montagem de moléculas do MHC da classe I e da classe II (Fig. 6-14 e Tabela 6-5). A diferença fundamental entre as vias do MHC da classe I e do MHC da classe II reside principalmente no local da degradação do peptídeo. As proteínas degradadas em proteassomas, muitas das

quais provêm do citosol, fornecem principalmente peptídios para moléculas do MHC da classe I. Somente as proteínas degradadas em endolisossomos fornecem peptídios para moléculas do MHC da classe II. A diferença entre os antígenos citossólicos e vesiculares foi demonstrada experimentalmente por meio da análise da apresentação do mesmo antígeno introduzido nas APCs de maneiras diferentes (Fig. 6-15). Se um antígeno de proteína é produzido no citoplasma de APCs como produto de um gene transfectado (modificado de modo que seu produto proteico não seja capaz de entrar na via de secreção) ou introduzido diretamente no citoplasma das APCs por choque osmótico, os peptídios derivados da proteína são apresentados por moléculas do MHC da classe I e são reconhecidos pelas células T CD8<sup>+</sup>. Em contraste, se a mesma proteína for adicionada na forma solúvel em APCs e endocitada nas vesículas das APCs, os peptídios (que podem ser diferentes daqueles apresentados pela classe I) são, subseqüentemente, apresentados por moléculas da classe II e reconhecidos por células T CD4<sup>+</sup> antígeno-específicas.

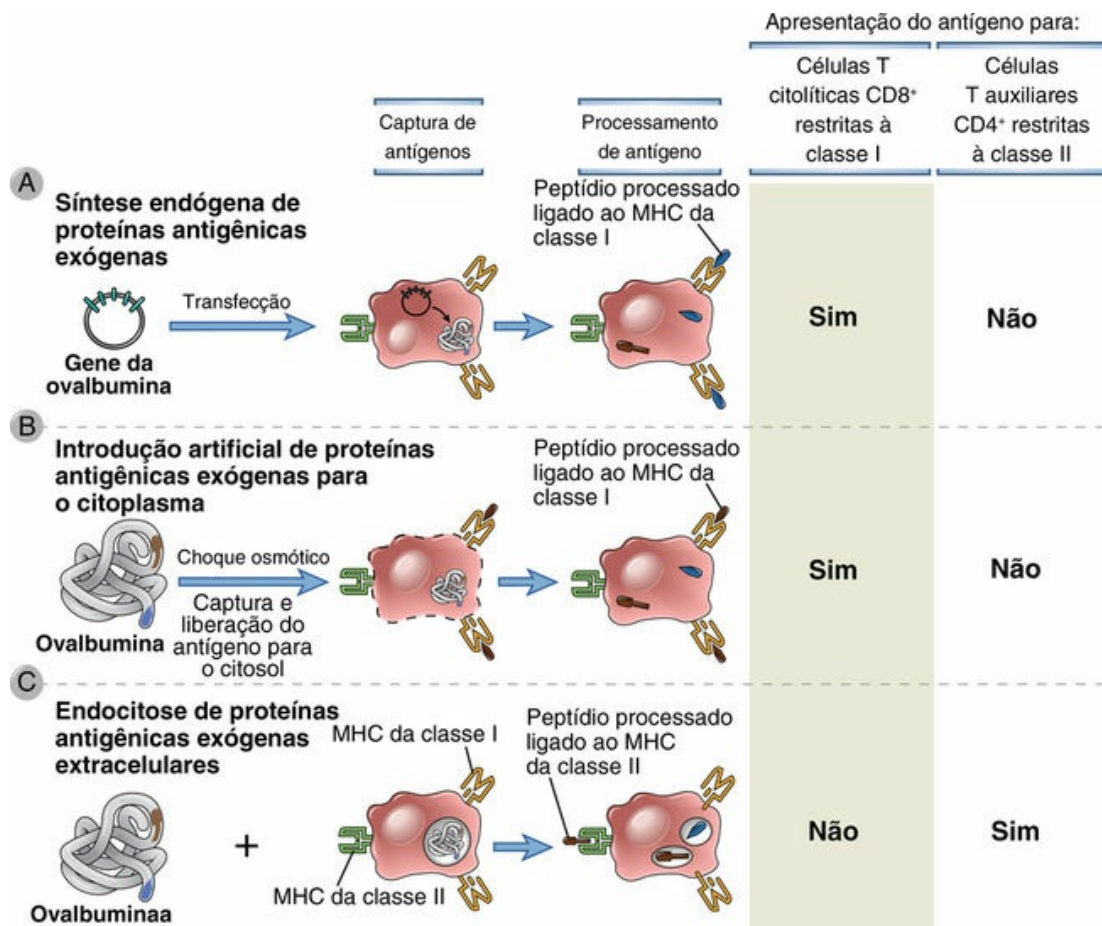
**Tabela 6-5**

**Características Comparativas das Vias do MHC da Classe I e da Classe II para Processamento e Apresentação de Antígenos**

Característica	Via do MHC da Classe I	Via do MHC da Classe II
Composição do complexo peptídeo-MHC estável	Cadeia $\alpha$ polimórfica, microglobulina $\beta_2$ , peptídeo 	Cadeias $\alpha$ e $\beta$ polimórficas, peptídeo 
Tipos de APCs	Todas as células nucleadas	Células dendríticas, fagócitos mononucleares, linfócitos B; células endoteliais, epitélio tímico
Células T responsivas	Células T CD8 <sup>+</sup>	Células T CD4 <sup>+</sup>
Fonte de antígenos proteicos	Principalmente proteínas citossólicas (geralmente sintetizadas na célula; podem entrar no citosol através de fagossomos); também proteínas nucleares e de membrana	Proteínas endossomais e lisossômicas (principalmente internalizadas a partir do ambiente extracelular)
Enzimas responsáveis pela ligação do peptídeo ao MHC	Proteassomas	Proteases endossomais e lisossômicas (p. ex. catipsinas)
Local da ligação do peptídeo ao MHC	Retículo endoplasmático	Compartimento vesicular especializado
Moléculas envolvidas no transporte de peptídios e ligação a moléculas do MHC	Chaperonas, TAP no RE	Chaperonas no RE; cadeia invariante no RE, Golgi e MHC/CIIV; DM

APC; célula apresentadora de antígenos; CIIV, vesícula da classe II; RE, retículo endoplasmático; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; MIIC, compartimento do MHC da classe II; TAP, transportador associado ao processamento de peptídios





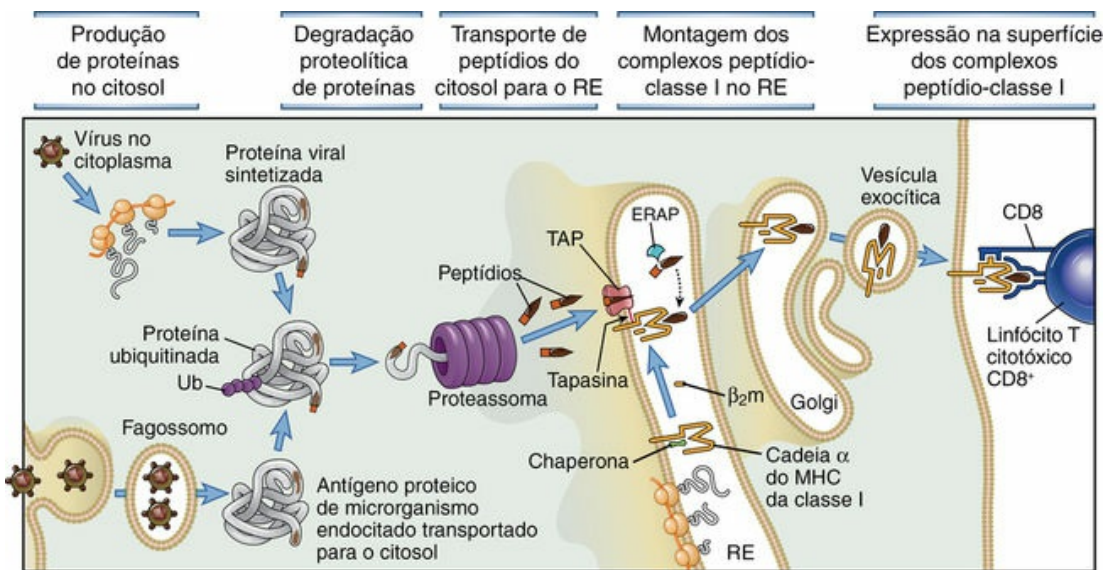
**FIGURA 6-15** Demonstração experimental da apresentação de antígenos citossólicos e extracelulares.

Quando um modelo de antígeno proteico, a ovalbumina, é sintetizado intracelularmente como resultado da transfecção de seu gene modificado para a ausência das sequências de sinais N-terminais **(A)**, ou quando o mesmo é introduzido no citoplasma através de membranas com vazamento devido a choque osmótico **(B)**, os peptídeos derivados da ovalbumina são apresentados em associação a moléculas do MHC da classe I. Quando a ovalbumina é apresentada como um antígeno extracelular para uma APC que expressa tanto moléculas do MHC da classe I como da classe II, os peptídeos derivados da ovalbumina são apresentados somente em associação a moléculas da classe II **(C)**. A resposta das CTLs I é a morte das APCs, e a resposta das células T auxiliares restritas à classe II é a secreção de citocinas.

Inicialmente, descreveremos essas duas vias de processamento de antígenos e, em seguida, o seu significado funcional.

## Via de Processamento e Apresentação de Proteínas Citossólicas do MHC da Classe I

Os peptídeos associados ao MHC da classe I são produzidos pela degradação proteolítica em proteassomas principalmente das proteínas citossólicas, e os peptídeos produzidos são transportados para o retículo endoplasmático (ER), onde se ligam a moléculas da classe I recém-sintetizadas. Esta sequência de acontecimentos é ilustrada na [Figura 6-16](#) e as etapas individuais serão descritas a seguir.



**FIGURA 6-16** Via de apresentação de antígenos do MHC da classe I.

As etapas do processamento de proteínas citossólicas foram descritas no texto. *ERAP*, peptidase associada ao retículo endoplasmático; *ER*, retículo endoplasmático;  $\beta_2m$ , microglobulina  $\beta_2$ ; *TAP*, transportador associado ao processamento de antígenos; *Ub*, ubiquitina.

### Fontes de Antígenos de Proteínas Citossólicas

**A maioria dos antígenos de proteínas citossólicas é sintetizada dentro das células, alguns são injetados no citosol através mecanismos secretores bacterianos e outros são fagocitados e transportados de vesículas para o citosol.** Os antígenos exógenos no citosol podem ser produtos de vírus, bactérias ou outros microrganismos intracelulares que infectam essas células. Em células tumorais, vários genes mutados ou superexpressados podem produzir antígenos de proteínas reconhecidas por CTLs restritas à classe I ([Cap. 18](#)). Os peptídeos apresentados em associação a moléculas da classe I também podem ser derivados



de microrganismos e outros antígenos particulados que são internalizados em fagossomas, mas escapam para o citosol. Alguns microrganismos são capazes de danificar membranas de fagossomas e criar poros através dos quais os microrganismos e os seus antígenos entram no citosol. Por exemplo, as linhagens patogênicas de *Listeria monocytogenes* produzem uma proteína chamada de listeriolisina que permite que as bactérias escapem de vesículas para o citosol. (Esta fuga é um mecanismo que as bactérias podem ter desenvolvido para resistir à morte pelos mecanismos microbicidas dos fagócitos, a maioria dos quais estão concentrados em fagolisossomas.) Uma vez que os antígenos dos microrganismos fagocitados estão no citosol, são processados como outros antígenos citossólicos. Nas células dendríticas, alguns antígenos ingeridos em vesículas entram na via citossólica da classe I, como parte do processo chamado de apresentação cruzada que será descrito posteriormente.

Embora as proteínas microbianas apresentadas por moléculas do MHC da classe I sejam tipicamente citossólicas, as proteínas de outros compartimentos celulares também podem entrar na via de processamento de antígenos do MHC da classe I. As sequências de sinais da membrana e as proteínas secretadas são geralmente clivadas pela peptidase de sinal e degradadas proteoliticamente logo após a síntese e a translocação para o RE. Este processamento pelo RE dá origem a peptídios de ligação à classe I, sem a necessidade de proteólise no citosol. Adicionalmente, as proteínas nucleares podem ser processadas por proteassomas no núcleo e apresentadas em moléculas do MHC da classe I.

## **Digestão de Proteínas em Proteassomas**

***O mecanismo principal para a produção de peptídios a partir de proteínas antigênicas citossólicas e nucleares é a proteólise pelo proteassoma.*** Os proteassomas são grandes complexos enzimáticos multiproteicos com uma ampla faixa de atividade proteolítica encontrados no citoplasma e núcleo da maioria das células. O proteassoma é visualizado como um cilindro composto por um conjunto empilhado de dois anéis  $\beta$  interiores e dois anéis  $\alpha$  exteriores, sendo cada anel composto por sete subunidades, com uma estrutura tipo tampa em cada extremidade do cilindro. As proteínas nos anéis  $\alpha$  exteriores são estruturais e não possuem atividade proteolítica; nos anéis  $\beta$  interiores, três das sete subunidades ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ , e  $\beta 5$ ) são os locais catalíticos para a proteólise.

O proteassoma desempenha uma função de limpeza básica nas células degradando muitas proteínas danificadas ou mal dobradas. A síntese de proteínas normalmente ocorre em uma velocidade rápida, cerca de seis a oito resíduos de aminoácidos sendo incorporados na elongação de cadeias a cada segundo. O processo é propenso a erros, e estima-se que aproximadamente 20% de proteínas recentemente sintetizadas são erroneamente dobradas. Estes polipeptídios recém-traduzidos, mas defeituosos, bem como as proteínas danificadas por estresse celular,

são direcionados para a degradação proteossômica por ligação covalente a muitas cópias de um pequeno polipeptídeo chamado ubiquitina. Proteínas ubiquitinadas, com cadeias de quatro ou mais ubiquitinas, são reconhecidas pela tampa proteossômica e, em seguida, são desdobradas, a ubiquitina é removida, e as proteínas são introduzidas nos proteassomas, onde são degradadas em peptídeos. O proteassoma tem uma ampla especificidade pelo substrato e pode gerar uma grande variedade de peptídeos a partir de proteínas citossólicas (mas normalmente não os degrada completamente até aminoácidos individuais). Interessantemente, em células tratadas com a citocina IFN- $\gamma$ , há um aumento da transcrição e síntese de três novas subunidades catalíticas do proteassoma conhecido como  $\beta$ 1i,  $\beta$ 2i e  $\beta$ 5i, que substituem as três subunidades catalíticas do anel  $\beta$  do proteassoma. Isto resulta em uma mudança na especificidade do proteassoma para o substrato, de modo que os peptídeos produzidos geralmente contêm aminoácidos hidrofóbicos carboxiterminais, tais como leucina, valina, isoleucina e metionina, ou resíduos básicos, tais como lisina ou arginina. Estes tipos de terminais C são típicos dos peptídeos transportados para a via da classe I que se associam a moléculas da classe I. Este é um dos mecanismos pelos quais o IFN- $\gamma$  aumenta a apresentação de antígenos, sendo o outro mecanismo o aumento da expressão de moléculas do MHC (Fig. 6-9). Assim, os proteassomas são organelas celulares cuja função básica foi adaptada para um papel especializado na apresentação de antígenos.

### **Transporte de Peptídeos do Citosol para o Retículo Endoplasmático**

***Peptídeos gerados em proteassomas são translocados por um transportador especializado para o RE, onde as moléculas do MHC da classe I recentemente sintetizadas estão disponíveis para ligar aos peptídeos.*** Como os peptídeos antigênicos para a via da classe I são gerados por proteases citossólicas ou nucleares, enquanto as moléculas do MHC da classe I são sintetizadas no RE, é necessário um mecanismo para levar os peptídeos citossólicos ao RE. Este transporte é mediado por uma proteína dimérica denominada **transportador associado ao processamento de antígenos (TAP)**, que é um membro da família de proteínas transportadoras ABC, muitas das quais medeiam o transporte dependente de ATP de compostos de baixo peso molecular através das membranas celulares. A proteína TAP está localizada na membrana do RE, onde medeia o transporte dependente de ATP ativo de peptídeos do citosol para o lúmen do RE. Embora o heterodímero do TAP possua uma vasta gama de especificidades, ele transporta de forma ótima os peptídeos variando de 8 a 16 aminoácidos de comprimento e contendo terminais carboxila básicos (em seres humanos) ou hidrofóbicos (em seres humanos e camundongos). Como mencionado anteriormente, estas são as características dos peptídeos gerados no proteassoma e capazes de se ligar a moléculas do MHC da classe I.

Na face luminal da membrana do RE, a proteína TAP se associa com uma proteína

denominada tapasina que também possui afinidade pelas moléculas do MHC da classe I recém-sintetizadas e não associadas a peptídeos. Desta forma, a tapasina traz o transportador TAP para um complexo com as moléculas do MHC da classe I aguardando a chegada de peptídeos.

## **Montagem dos Complexos Peptídeo-MHC da Classe I no Retículo Endoplasmático**

***Os peptídeos translocados para o RE se associam a moléculas do MHC da classe I ligadas ao dímero TAP através da tapasina.*** A síntese e montagem das moléculas da classe I envolve um processo de várias etapas, onde a ligação de peptídeos desempenha um papel fundamental. As cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ 2-microglobulinas da classe I são sintetizadas no RE. O dobramento adequado das cadeias  $\alpha$  nascentes é assistido por proteínas chaperonas, tais como a chaperona de membrana calnexina e a chaperona luminal calreticulina. Dentro do RE, os dímeros da classe I recém-formados e não associados a peptídeos permanecem ligados ao complexo TAP. As moléculas do MHC da classe I não associadas a peptídeos, a tapasina e o TAP são parte de um complexo de carregamento de peptídeos maior no RE, que também inclui a calnexina, a calreticulina e outros componentes que contribuem para a montagem e a ligação do MHC da classe I. Peptídeos inseridos no RE pelo TAP e peptídeos produzidos no RE, tais como os peptídeos de sinal, são geralmente clivados no tamanho apropriado para ligação ao MHC pela aminopeptidase RE-residente (ERAP). O peptídeo é então capaz de se ligar à fenda de moléculas da classe I adjacentes. Uma vez que as moléculas do MHC da classe I são associadas a um peptídeo, elas já não possuem afinidade com a tapasina, de modo que o complexo peptídeo-classe I é liberado, sendo capaz de sair do RE e ser transportado para a superfície celular. Na ausência de peptídeo ligado, muitos dos dímeros de cadeia  $\alpha$ -microglobulina- $\beta$ 2 recém-formados são instáveis e não podem ser transportados de maneira eficaz do RE para o complexo de Golgi. Estes complexos do MHC da classe I não associados a peptídeos e dobrados de forma errônea são transportados para o citosol e degradados nos proteossomas.

***Os peptídeos transportados para o RE ligam-se preferencialmente às moléculas do MHC da classe I, mas não classe II, por duas razões.***

Primeiramente, moléculas da classe I recém-sintetizadas são ligadas ao aspecto luminal do complexo TAP e capturam peptídeos rapidamente conforme os peptídeos são transportados ao RE pelo TAP. Em segundo lugar, como será discutido posteriormente no RE as fendas de ligação do peptídeo das moléculas da classe II recém-sintetizadas são bloqueadas por uma proteína denominada cadeia invariante.

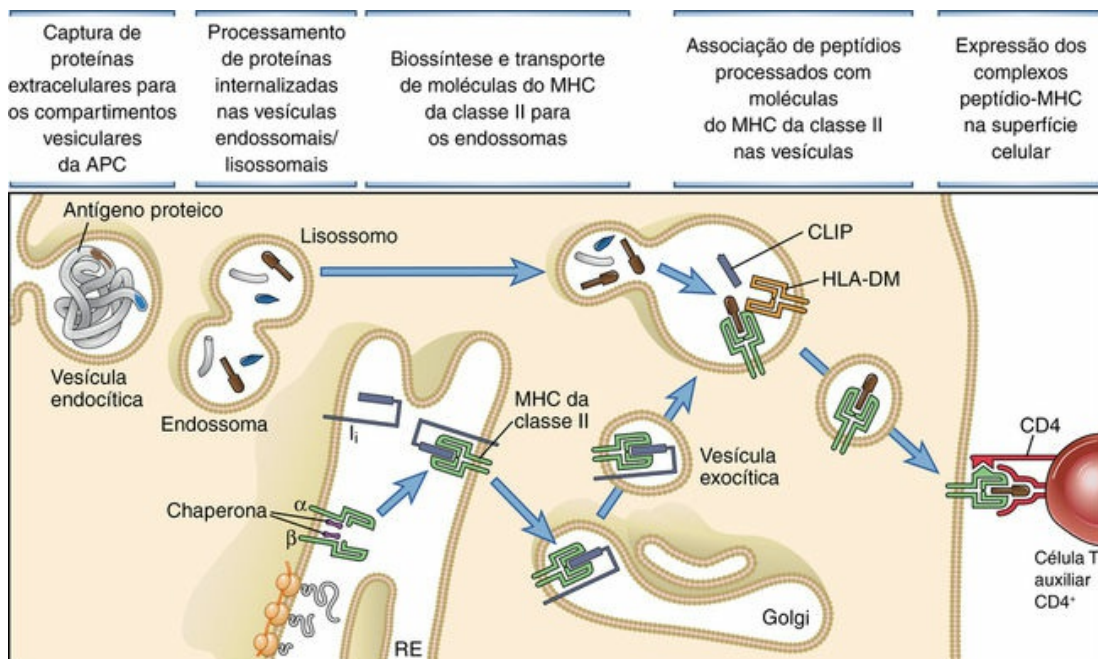
## **Expressão na Superfície de Complexos Peptídeo-MHC da Classe I**

***As moléculas do MHC da classe I ligadas a peptídeos são estruturalmente estáveis e são expressas na superfície da célula.*** Complexos peptídeo-MHC da

classe I estáveis que foram produzidos no RE se movimentam através do complexo de Golgi e são transportados para a superfície celular por vesículas exocíticas. Uma vez expressados na superfície da célula, os complexos peptídeo-classe I podem ser reconhecidos por células T CD8<sup>+</sup> específicas para peptídeos antigênicos, com o correceptor CD8 desempenhando um papel essencial na ligação a regiões não polimórficas das moléculas da classe I. Diversos vírus desenvolveram mecanismos que interferem na montagem da classe I e na associação de peptídeos, enfatizando a importância desta via para a imunidade antiviral (Cap. 16).

## Via de Processamento e Apresentação de Proteínas Vesiculares pelo MHC da Classe II

A geração de peptídeos associados ao MHC da classe II a partir de antígenos endocitados envolve a degradação proteolítica das proteínas internalizadas em vesículas endocíticas e ligação de peptídeos a moléculas do MHC da classe II nas vesículas. Esta sequência de eventos é ilustrada na Figura 6-17 e as etapas individuais são descritas a seguir.



**FIGURA 6-17** Via de apresentação de antígenos do MHC da classe II.

As etapas do processamento de antígenos extracelulares foram descritas no texto. *CLIP*, peptídeo de cadeia invariante associado à classe II; *ER*, retículo endoplasmático; *I<sub>i</sub>*, cadeia invariante.

## Geração de Proteínas Vesiculares

***A maioria dos peptídeos associados ao MHC da classe II é derivada de proteínas antigênicas capturadas do meio extracelular e internalizadas em endossomas por APCs especializadas.*** As etapas iniciais na apresentação de um antígeno proteico extracelular são a ligação do antígeno nativo a uma APC e a internalização do antígeno. Diferentes APCs são capazes de se ligar a antígenos proteicos de várias formas e diferentes eficiências e especificidades. As células dendríticas e macrófagos expressam diversos receptores de superfície que reconhecem estruturas partilhadas por muitos microrganismos (Cap. 4). Estas APCs utilizam receptores para ligar-se aos microrganismos e internalizá-los eficientemente. Os macrófagos também expressam receptores para as porções Fc dos anticorpos e receptores para a proteína do complemento C3b, que se ligam a antígenos ligados a anticorpos ou complementam de proteínas e melhoram sua internalização. Outro exemplo de receptor específico nas APCs é a imunoglobulina da superfície das células B, que devido à sua elevada afinidade para antígenos é capaz de mediar de maneira eficaz a internalização de proteínas presentes em concentrações muito baixas no fluido extracelular (Cap. 12).

Após sua internalização, os antígenos proteicos ficam localizados em vesículas ligadas à membrana intracelular chamadas de endossomas. A via endossomal do tráfego intracelular de proteínas se comunica com os lisossomos, que são vesículas contendo enzimas ligadas a membranas densas. Um subconjunto de endossomas tardios ricos em MHC da classe II desempenha um papel especial no processamento e apresentação de antígenos pela via da classe II; isto será descrito posteriormente. Microrganismos particulados são internalizados em vesículas chamadas de fagossomos, que podem se fundir a lisossomos produzindo vesículas denominadas fagolisossomos ou lisossomos secundários. Alguns microrganismos, tais como as micobactérias e *Leishmania*, são capazes de sobreviver e até mesmo se replicar dentro de fagossomos ou endossomos, proporcionando uma fonte persistente de antígenos em compartimentos vesiculares.

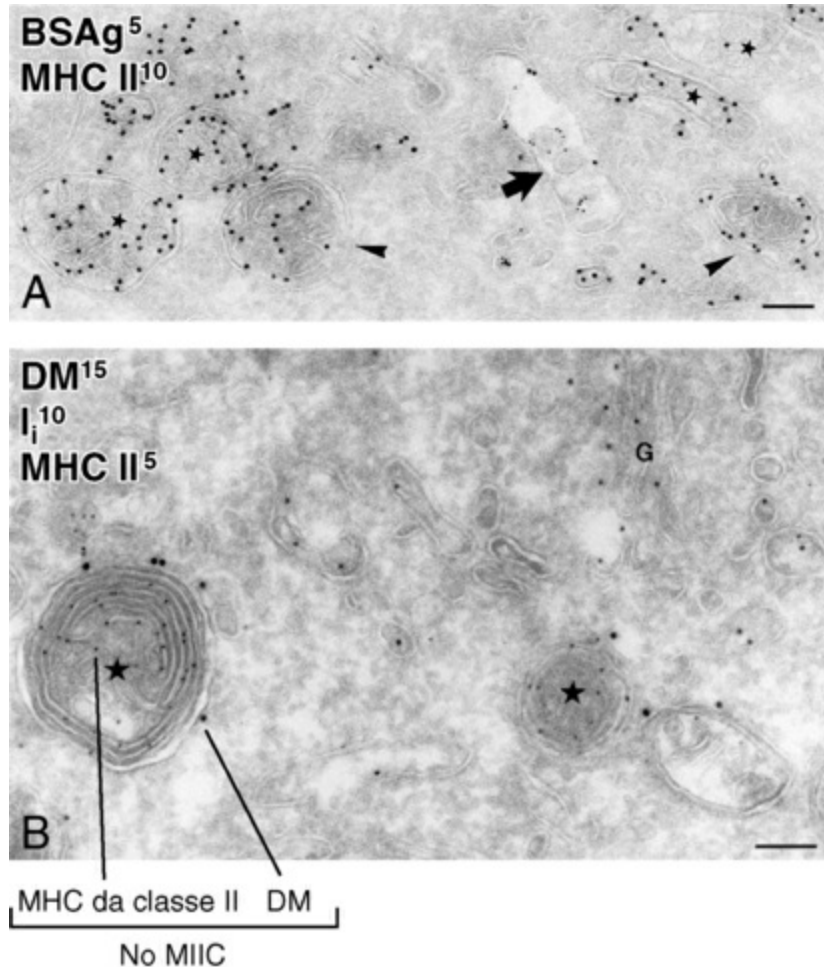
Proteínas diferentes daquelas ingeridas do meio extracelular também podem entrar na via do MHC da classe II. Algumas moléculas de proteínas destinadas à secreção podem acabar nas mesmas vesículas das moléculas do MHC da classe II e serem processadas em vez de secretadas. Menos frequentemente, as proteínas citoplasmáticas e de membrana podem ser processadas e apresentadas por moléculas da classe II. Em alguns casos, isto pode resultar da digestão enzimática de conteúdos citoplasmáticos, referido como **autofagia**. Nesta via, as proteínas citossólicas são aprisionadas no interior de vesículas ligadas à membrana chamadas de autofagossomos; estas vesículas fundem-se com os lisossomos e as proteínas citoplasmáticas são degradadas proteoliticamente. Os peptídeos gerados por esta via podem ser entregues ao mesmo compartimento vesicular contendo a classe II, pois são peptídeos derivados de antígenos ingeridos. A autofagia é essencialmente um

mecanismo de degradação de proteínas celulares e reciclagem de seus produtos como fontes de nutrientes durante períodos de estresse. Participa também na destruição de microrganismos intracelulares, que são aprisionados em vesículas e entregues aos lisossomos. Por conseguinte, é previsível que os peptídeos gerados pela autofagia sejam exibidos para o reconhecimento das células T. Alguns peptídeos que se associam a moléculas da classe II são derivados de proteínas de membrana, que podem ser recicladas na mesma via endocítica uma vez que são proteínas extracelulares. Deste modo, até mesmo vírus que se replicam no citoplasma de células infectadas podem produzir proteínas que são degradadas a peptídeos que entram na via de apresentação de antígenos do MHC da classe II. Este pode ser um mecanismo de ativação das células T CD4<sup>+</sup> auxiliares antígeno-específicas virais.

### **Digestão Proteolítica das Proteínas nas Vesículas**

***Proteínas internalizadas são degradadas enzimaticamente em endossomos e lisossomos tardios para gerar peptídeos capazes de se ligar às fendas de ligação do peptídeo das moléculas do MHC da classe II.*** A degradação de antígenos proteicos em vesículas é um processo ativo mediado por proteases que possuem pH ótimo ácido. As proteases mais abundantes de endossomas tardios são as catepsinas, que correspondem a proteases tiol e aspartil com ampla especificidade aos substratos. Várias catepsinas contribuem para a geração de peptídeos para a via da classe II. Proteínas parcialmente degradadas ou clivadas se ligam às fendas abertas de moléculas do MHC da classe II e são, então, clivadas enzimaticamente ao seu tamanho final. A imunomicroscopia eletrônica e estudos de fracionamento subcelulares conseguiram definir um subconjunto de endossomas tardios ricos em MHC da classe II que desempenham um papel importante na apresentação de antígenos (Fig. 6-18). Em macrófagos e células B humanas, ele é chamado de compartimento do MHC da classe II, ou MIIC. (Em algumas células B de camundongos, uma organela similar contendo moléculas do MHC da classe II foi identificada e chamada de vesícula da classe II.) O MIIC possui um aspecto multilamelar característico na microscopia eletrônica. É importante destacar que ele contém todos os componentes necessários para a associação peptídeo-MHC da classe II, incluindo as enzimas que degradam proteínas antigênicas, moléculas do MHC da classe II e duas moléculas envolvidas na ligação de peptídeos a moléculas do MHC da classe II, a cadeia invariante e o HLA-DM, cujas funções serão descritas posteriormente.





**FIGURA 6-18** Morfologia das vesículas endossomais ricas em MHC da classe II.

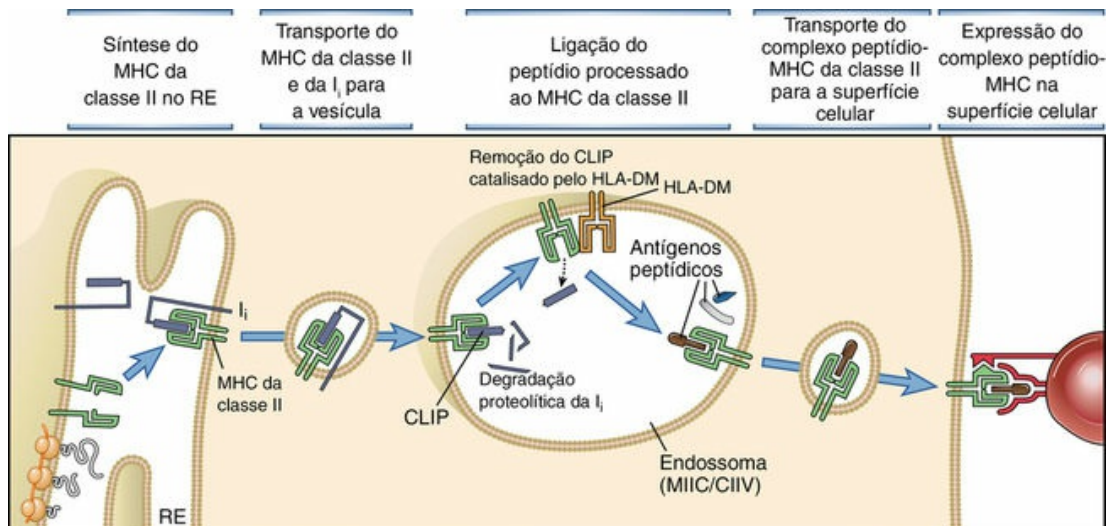
**A**, Micrografia imunoelétrica de um linfócito B após internalização de albumina sérica bovina em endossomas precoces (marcados com partículas de ouro de 5 nm, *seta*) e que contém moléculas do MHC da classe II (marcadas com partículas de ouro de 10 nm, *pontas de seta*) em MIICs. A albumina internalizada chegará em última instância aos MIICs.

**B**, Micrografia imunoelétrica de uma célula B apresentando a localização das moléculas do MHC da classe II e do DM em MIICs (*estrelas*) e a cadeia invariante concentrada no complexo de Golgi (G). Neste exemplo, não há praticamente nenhuma cadeia invariante detectada no MIIC, presumivelmente porque foi clivada para gerar CLIP. (A, De Kleijmeer MJ, Morkowski S, Griffith JM, Rudensky AY, Geuze HJ: Major histocompatibility complex class II compartments in human and mouse B lymphoblasts represent conventional endocytic compartments.. Reproduzido de *The Journal of Cell Biology* 139:639-649, 1997, com a permissão de direitos

autorais de The Rockefeller University Press. B, Cortesia de Drs. HJ Geuze e M. Kleijmeer, Department of Cell Biology, Utrecht University, The Netherlands..)

## **Biossíntese e Transporte de Moléculas do MHC da Classe II para Endossomas**

***As moléculas do MHC da classe II estão sintetizadas no RE e transportadas para os endossomas associadas a uma proteína, a cadeia invariante, que ocupa as fendas de ligação do peptídeo das moléculas do MHC da classe II recém-sintetizadas (Fig. 6-19).*** As cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  das moléculas do MHC da classe II são coordenadamente sintetizadas e associadas uma à outra no RE. Os dímeros nascentes do MHC da classe II são estruturalmente instáveis e seu dobramento e montagem são auxiliados por chaperonas residentes no RE, tais como a calnexina. A cadeia invariante (I<sub>i</sub>) promove o dobramento e a montagem de moléculas do MHC da classe II e direciona as moléculas do MHC da classe II recém-formadas para os endossomas e lisossomas tardios, onde as proteínas internalizadas proteoliticamente foram degradadas em peptídeos. A cadeia invariante corresponde a um trímero composto por três subunidades de 30 kDa, as quais se ligam individualmente a um heterodímero  $\alpha\beta$  do MHC da classe II recém-sintetizado de forma a bloquear a fenda de ligação do peptídeo e impedi-la de aceitar peptídeos. Como resultado, as moléculas do MHC da classe II perdem a capacidade de se ligar e apresentar peptídeos que encontram no RE, possibilitando que tais peptídeos se associem a moléculas da classe I (descrito anteriormente). As moléculas do MHC da classe II são transportadas para vesículas exocíticas em relação à superfície da célula. Durante esta passagem, as vesículas que retiram as moléculas do MHC da classe II do RE encontram-se e fundem-se com vesículas endocíticas contendo antígenos internalizados e processados. Assim, as moléculas do MHC da classe II encontram-se com peptídeos antigênicos gerados pela proteólise de proteínas endocitadas, e a associação peptídeo-MHC ocorre nas vesículas.



**FIGURA 6-19** Funções da cadeia invariante associada ao MHC da classe II e do HLA-DM.

As moléculas da classe II ligadas à cadeia invariante, ou CLIP, são transportadas até vesículas, onde a I<sub>i</sub> é degradada e o CLIP remanescente é removido pela ação do DM. Os peptídeos antigénicos gerados nas vesículas são então capazes de ligar às moléculas de classe II. Outra proteína semelhante à da classe II, chamada de HLA-DO, pode regular a remoção catalisada por DM do CLIP (*não ilustrado*).  
*CIIV*, vesícula da classe II.

## Associação de Peptídeos Processados a Moléculas do MHC da Classe II em Vesículas

**No interior das vesículas endossomais, a cadeia invariante se dissocia das moléculas do MHC da classe II através da ação combinada entre as enzimas proteolíticas e a molécula do HLA-DM, e os peptídeos antigénicos tornam-se, então, capazes de ligar-se às fendas de ligação do peptídeo disponíveis nas moléculas da classe II (Fig. 6-19).** Como a cadeia invariante bloqueia o acesso à fenda de ligação do peptídeo das moléculas do MHC da classe II, ela precisa ser removida antes que os complexos de peptídeos e moléculas do MHC da classe II possam se formar. As mesmas enzimas proteolíticas que dão origem a peptídeos a partir de proteínas internalizadas, tais como as catepsinas, também atuam sobre a cadeia invariante, degradando-a e deixando apenas um remanescente de 24 aminoácidos chamado de peptídeo de cadeia invariante associado à classe II (CLIP), que se liga à fenda de ligação do peptídeo de maneira semelhante àquela com que outros peptídeos se ligam às moléculas do MHC da classe II. Em seguida, o CLIP deve ser removido para que a fenda se torne acessível a peptídeos antigénicos produzidos a partir de proteínas extracelulares. Esta remoção é conseguida através da ação de

uma molécula chamada de **HLA-DM** (ou H-2M no camundongo), que é codificada no MHC, tem uma estrutura semelhante àquela das moléculas do MHC da classe II e se localiza, juntamente com as moléculas do MHC da classe II, no compartimento endossomal do MHC. Ao contrário das moléculas do MHC da classe II, as moléculas do HLA-DM não são polimórficas e não são expressas na superfície da célula. O HLA-DM atua como um permutador de peptídeos, facilitando a remoção do CLIP e a adição de outros peptídeos às moléculas do MHC da classe II.

Se peptídeos com maior afinidade para a fenda do MHC da classe II em relação ao CLIP estiverem disponíveis nos endossomas, eles serão capazes de deslocar o CLIP devido ao mecanismo de permutação mediado pelo HLA-DM. Se peptídeos com maior afinidade não estiverem disponíveis, o CLIP permanecerá na fenda do MHC da classe II e estas moléculas não sofrerão a alteração e estabilização conformacional presumida, que são necessárias para que possam se deslocar de forma eficiente até a superfície celular. Como as extremidades da fenda de ligação do peptídeo do MHC da classe II estão abertas, peptídeos grandes podem ligar-se, sendo, então, clivados por enzimas proteolíticas ao tamanho apropriado para o reconhecimento das células T. Como resultado, os peptídeos realmente apresentados ligados à superfície celular das moléculas do MHC da classe II possuem, normalmente, de 10 a 30 aminoácidos de comprimento e, geralmente, foram gerados por esta etapa de clivagem.

## **Expressão de Complexos Peptídeo-MHC da Classe II na Superfície Celular**

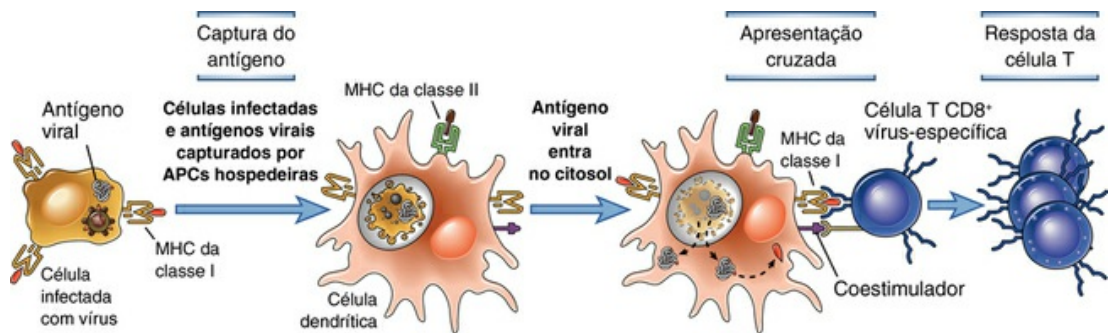
***As moléculas do MHC da classe II são estabilizadas pelos peptídeos ligados e os complexos peptídeo-classe II estáveis são apresentados na superfície da***

***APC, onde são apresentados para reconhecimento pelas células T CD4<sup>+</sup>.***

Acredita-se que o transporte dos complexos peptídeo-MHC da classe II à superfície celular ocorre por meio da fusão das extensões vesiculotubulares do lisossomo à membrana plasmática, resultando na apresentação dos complexos do MHC da classe II carregados na superfície da célula. Uma vez expressos na superfície da APC, os complexos peptídeo-classe II são reconhecidos por células T CD4<sup>+</sup> específicas para peptídeos antigênicos, com o correceptor CD4 desempenhando um papel essencial, ligando-se a regiões não polimórficas das moléculas da classe II. Curiosamente, enquanto as moléculas da classe II carregadas com peptídeos trafegam dos endossomas e lisossomas tardios para a superfície celular, outras moléculas envolvidas na apresentação de antígenos, tais como o DM, permanecem nas vesículas e não são expressas na membrana plasmática. O mecanismo que explica este tráfego seletivo é desconhecido.

## **Apresentação Cruzada**

**Algumas células dendríticas possuem a capacidade de captar e endocitar células infectadas por vírus ou células tumorais e apresentar os antígenos virais ou tumorais aos linfócitos T CD8<sup>+</sup> virgens (Fig. 6-20).** Nesta via, os antígenos endocitados são transportados das vesículas para o citosol, onde os peptídeos entram na via da classe I. Como discutimos anteriormente, a maioria das proteínas endocitadas não entra na via citossólica de apresentação de antígenos da classe I. Esta permissividade para o tráfego de proteínas das vesículas endossomais para o citosol é exclusividade das células dendríticas. (Ao mesmo tempo, as células dendríticas são capazes de apresentar os peptídeos associados ao MHC da classe II gerados em vesículas para as células T auxiliares CD4<sup>+</sup>, que são muitas vezes necessárias para induzir respostas completas em células T CD8<sup>+</sup> [Cap. 11].) Este processo é chamado de **apresentação cruzada**, ou **cross-priming**, para indicar que um tipo de célula (a célula dendrítica) é capaz de apresentar antígenos de outra célula (a célula infectada com vírus ou células tumorais) e prepara, ou ativa, as células T específicas para estes antígenos. Embora possa parecer que o processo de apresentação cruzada viola a regra de que antígenos endocitados devem ser apresentados ligados a moléculas do MHC da classe II, nesta situação os antígenos endocitados são degradados em proteossomas e entram na via da classe I.



**FIGURA 6-20** Apresentação cruzada de antígenos para células T CD8<sup>+</sup>.

As células infectadas com microrganismos intracelulares, tais como vírus, são endocitadas pelas células dendríticas e os antígenos dos microrganismos infecciosos são transportados para o citosol e processados e apresentados em associação com moléculas do MHC da classe I às células T CD8<sup>+</sup> (Fig. 6-16). Desta forma, as células dendríticas são capazes de apresentar antígenos vesiculares endocitados pela via da classe I. Observe que as mesmas APCs de apresentação cruzada podem apresentar antígenos associados ao MHC da classe II de microrganismos para o reconhecimento pelas células T auxiliares CD4<sup>+</sup>.

A apresentação cruzada envolve a fusão dos fagossomas contendo os antígenos endocitados com o RE. As proteínas endocitadas são, então, translocadas do RE para o citosol por vias mal definidas, que provavelmente estão envolvidas na apresentação de proteínas degradadas no RE. As proteínas que foram inicialmente internalizadas no fagossoma, por conseguinte, são liberadas para o compartimento (citosol) onde a proteólise para a via da classe I ocorre normalmente. Estas proteínas fagocitadas, então, sofrem uma degradação proteossômica e os peptídios derivados delas são transportados pela TAP para o RE, onde são ligados a moléculas do MHC da classe I recém-sintetizadas, tal como descrito para a via de classe I convencional.

## Importância Fisiológica da Apresentação de Antígenos Associada ao MHC

Até agora, discutimos a especificidade dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> a antígenos de proteínas exógenas associadas ao MHC e os mecanismos pelos quais os complexos de peptídios e moléculas do MHC são produzidos. Nesta seção, vamos discutir de que maneira o papel central do MHC na apresentação de antígenos influencia a natureza das respostas das células T aos diferentes antígenos e os tipos

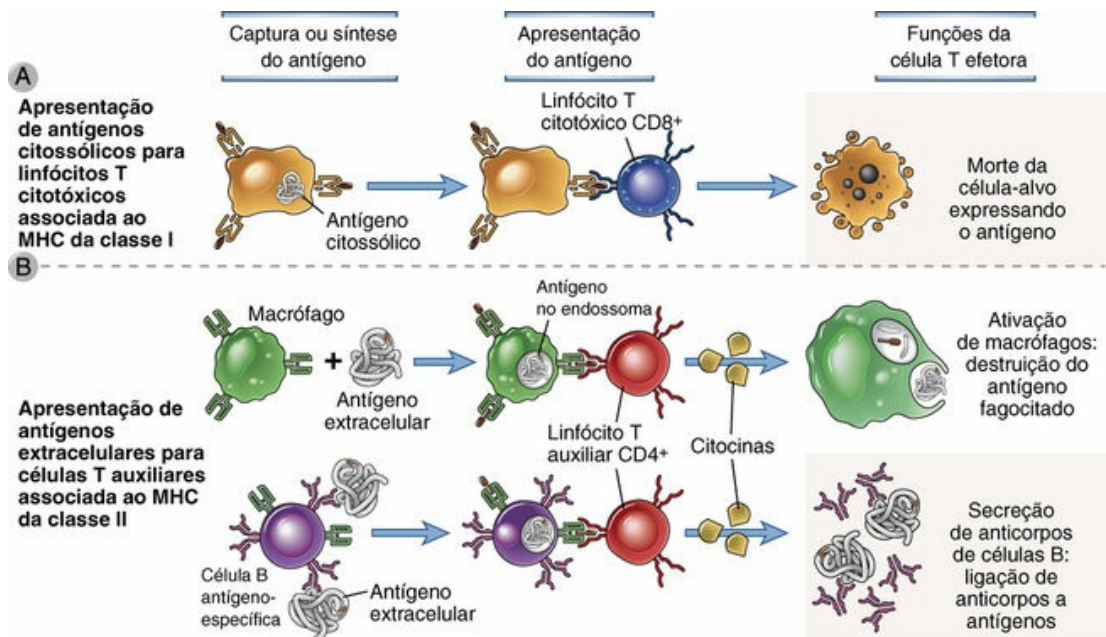


de antígenos que as células T reconhecem.

## **Natureza das Respostas das Células T**

***A apresentação de proteínas citossólicas contra vesiculares pelas vias do MHC da classe I ou da classe II, respectivamente, determina qual subconjunto de células T irá responder aos antígenos encontrados nesses dois conjuntos de proteínas e está intimamente ligado às funções dessas células T (Fig. 6-21).***

Os antígenos sintetizados endogenamente, tais como as proteínas virais e tumorais, estão localizados no citosol e são reconhecidos pelas CTL CD8<sup>+</sup> restritas ao MHC da classe I, que matam as células que produzem os antígenos intracelulares. Por outro lado, os antígenos extracelulares normalmente ficam localizados em vesículas endossomais e ativam as células T CD4<sup>+</sup> restritas ao MHC da classe II, porque as proteínas vesiculares são processadas em peptídios de ligação à classe II. As células T CD4<sup>+</sup> atuam como auxiliares para estimular as células B a produzirem anticorpos e ativarem macrófagos para que suas funções fagocíticas aumentem, mecanismos estes que servem para eliminar antígenos extracelulares. Desta forma, antígenos de microrganismos que residem em diferentes locais celulares estimulam seletivamente as respostas das células T, que são mais eficazes para eliminar esse tipo de microrganismo. Isto é especialmente importante porque os receptores de antígenos das CTL e células T auxiliares não são capazes de distinguir entre os microrganismos extracelulares e intracelulares. Segregando os peptídios derivados destes tipos de microrganismos, as moléculas do MHC orientam os subconjuntos de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> a responderem aos microrganismos que cada subconjunto combate melhor.



**FIGURA 6-21** Apresentação de antígenos extracelulares e citossólicos para diferentes subconjuntos de células T.

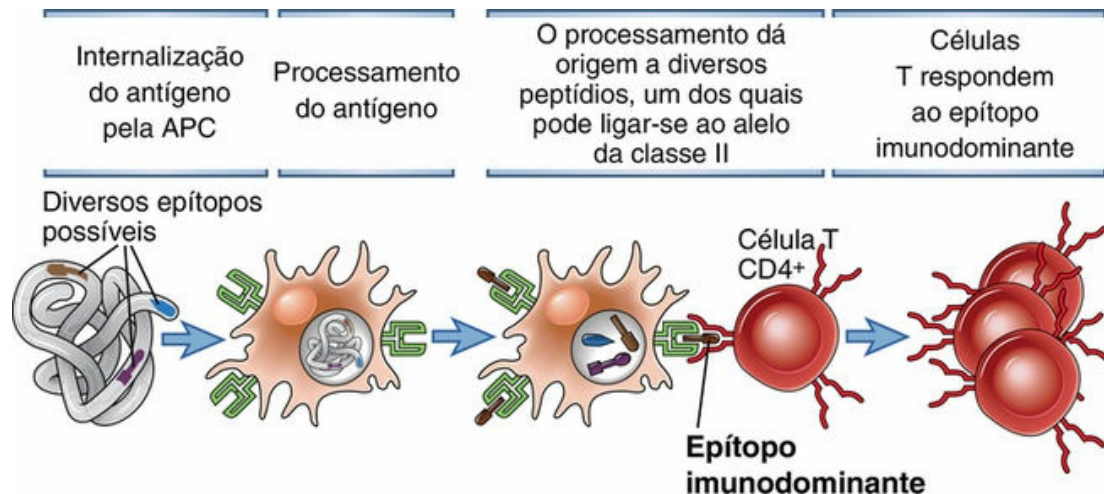
**A,** Antígenos citossólicos são apresentados por células nucleadas para CTLs  $CD8^+$ , que matam (lisam) as células que expressam o antígeno. **B,** Antígenos extracelulares são apresentados por macrófagos ou linfócitos B para linfócitos T auxiliares  $CD4^+$ , que ativam os macrófagos ou as células B e eliminam os antígenos extracelulares.

## A Imunogenicidade de Proteínas Antigênicas

As moléculas do MHC de determinam a imunogenicidade de proteínas antigênicas através de duas maneiras inter-relacionadas.

- **Os epítomos de proteínas complexas que provocam respostas mais fortes em células T são os peptídeos gerados por proteólise em APCs e que se ligam com maior avidéz às moléculas do MHC.** Se um indivíduo for imunizado com uma proteína antigênica, em muitos casos, a maioria das células T que respondem são específicas para apenas uma ou algumas sequências de aminoácidos lineares do antígeno. Estes são chamados de epítomos **imunodominantes** ou determinantes. As proteases envolvidas no processamento de antígenos produz uma variedade de peptídeos de proteínas naturais, e apenas alguns destes peptídeos possuem características que lhes permitem ligar-se às moléculas do MHC presentes em cada indivíduo (Fig. 6-22). É importante definir a base estrutural da imunodominância, porque isto pode permitir a manipulação eficiente do sistema imune com peptídeos sintéticos. Uma aplicação de tal conhecimento é o desenho de vacinas. Por exemplo, uma proteína viral poderia

ser analisada para a presença de sequências de aminoácidos que formam epítomos imunodominantes típicos, capazes de ligar-se a moléculas do MHC com elevada afinidade. Os peptídios sintéticos que contêm esses epítomos podem tornar-se vacinas eficazes para desencadear respostas de células T contra o peptídio viral expresso em uma célula infectada.



**FIGURA 6-22** Imunodominância de peptídios.

Os antígenos proteicos são processados para gerar diversos peptídios; os peptídios imunodominantes são aqueles que melhor se ligam às moléculas do MHC da classe I e classe II disponíveis. A ilustração mostra um antígeno extracelular gerando um peptídio de ligação à classe II, mas isto também se aplica aos peptídios de antígenos citossólicos apresentados pelas moléculas do MHC da classe I.

- **A expressão de determinados alelos do MHC da classe II em indivíduo determina a capacidade que o indivíduo possui para responder a antígenos específicos.** Como discutido anteriormente, os genes da resposta imune (I<sub>r</sub>) que controlam as respostas dos anticorpos são os genes do MHC da classe II. Eles influenciam a capacidade de provocar uma resposta imune porque diversos alelos de moléculas do MHC da classe II diferem na capacidade de ligação a diferentes peptídios antigênicos e, por conseguinte, na estimulação de células T auxiliares específicas. A consequência de herdar um determinado alelo do MHC depende da natureza dos peptídios antigênicos que se ligam à molécula do MHC codificada por esse alelo. Por exemplo, se o antígeno for um peptídio de pólen de ambrósia, o indivíduo que expressa moléculas da classe II capazes de se ligarem ao peptídio seria geneticamente propenso a reações alérgicas contra pólen. Por outro lado, alguns indivíduos não respondem a vacinas (tais como a vacina do antígeno de superfície do vírus da hepatite B), presumivelmente porque as moléculas do HLA

não são capazes de se ligar e apresentar os peptídeos mais importantes do antígeno.

## Apresentação de antígenos não proteicos a subconjuntos de células T

Várias populações pequenas de células T são capazes de reconhecer antígenos não proteicos sem o envolvimento de moléculas do MHC da classe I ou da classe II. Assim, estas populações são exceções à regra de que células T são capazes de ver somente peptídeos MHC-associados. Destas populações, as melhor definidas são as células T NK e células T  $\gamma\delta$ .

As NKT expressam marcadores característicos de células *natural killer* (NK) e linfócitos T e expressam receptores de células T  $\alpha\beta$  com diversidade muito limitada (Cap. 10). As NKT reconhecem lipídios e glicolipídios apresentados pela molécula do MHC tipo classe I não clássica chamada de **CD1**. Existem várias proteínas CD1 expressas em humanos e camundongos. Apesar de suas vias de tráfego intracelulares diferirem de maneiras sutis, todas as moléculas CD1 se ligam e apresentam lipídios através de um mecanismo único. Moléculas CD1 recém-sintetizadas capturam lipídios celulares e levam-nos para a superfície da célula. Ali, os complexos lipídio-CD1 são endocitados em endossomas ou lisossomas, onde os lipídios que foram endocitados a partir do ambiente externo são capturados e novos complexos lipídio-CD1 são devolvidos para a superfície celular. Assim, as moléculas CD1 adquirem antígenos lipídicos endocitados durante a reciclagem e apresentam esses antígenos sem transformação aparente. As células NKT que reconhecem os antígenos lipídicos podem desempenhar um papel na defesa contra microrganismos, especialmente micobactérias (que são ricas em componentes lipídicos).

As células T  $\gamma\delta$  são uma pequena população de células T que expressam proteínas receptoras de antígeno semelhantes, mas não idênticas às células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> (Cap. 10). As células T  $\gamma\delta$  reconhecem diversos tipos diferentes de antígenos, incluindo algumas proteínas e lipídios, bem como pequenas moléculas fosforiladas e alquilaminas. Esses antígenos não são apresentados pelas moléculas do MHC, e as células  $\gamma\delta$  não são restritas ao MHC. Não se sabe se um determinado tipo de célula ou de sistema de apresentação de antígenos é necessário para a apresentação de antígenos a estas células.

## Resumo

A maioria das células T reconhece antígenos somente na forma de peptídeos apresentados pelos produtos de genes do MHC próprios na superfície das APCs.

Os linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> reconhecem antígenos associados a produtos do

gene do MHC da classe II (reconhecimento restrito ao MHC da classe II) e CTLs  $CD8^+$  reconhecem antígenos associados a produtos do gene do MHC da classe I (reconhecimento restrito ao MHC da classe I).

As APCs especializadas, tais como as células dendríticas, macrófagos e linfócitos B, capturam antígenos proteicos extracelulares, internalizam e processam-nos, e apresentam peptídios associados à classe II para as células T  $CD4^+$ . As células dendríticas são as APC mais eficazes para iniciar respostas primárias através da ativação de células T virgens, e os macrófagos e linfócitos B apresentam antígenos para células T auxiliares diferenciadas na fase efetora da imunidade mediada por células e em respostas imunes humorais, respectivamente. Todas as células nucleadas são capazes de apresentar peptídios associados à classe I derivados de proteínas citossólicas, tais como antígenos virais e tumorais, para as células T  $CD8^+$ .

O MHC é uma grande região genética que codifica as moléculas do MHC da classe I e da classe II, expressas de modo codominante e altamente polimórficas.

As moléculas do MHC da classe I são compostas por uma cadeia  $\alpha$  (ou pesada) que forma um complexo não covalente com um polipeptídio não polimórfico chamado de microglobulina  $\beta_2$ . As moléculas do MHC da classe II contêm duas cadeias polimórficas que codificam o MHC, uma cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$ . Ambas as classes de moléculas do MHC consistem em uma fenda de ligação do peptídio extracelular, uma região tipo Ig não polimórfica, uma região transmembrana e uma região citoplasmática. A fenda de ligação do peptídio das moléculas do MHC tem paredes  $\alpha$ -helicoidais e uma base de oito cadeias de folhas  $\beta$ -pregueadas antiparalelas. Os domínios tipo Ig das moléculas do MHC da classe I e da classe II contêm os locais de ligação para os correceptores das células T  $CD8$  e  $CD4$ , respectivamente. Os resíduos polimórficos das moléculas do MHC estão localizados no domínio de ligação do peptídio.

As moléculas do MHC da classe I e da classe II exercem a função de se ligarem aos antígenos peptídicos e apresentá-los para o reconhecimento por linfócitos T específicos para antígenos. Os antígenos peptídicos associados a moléculas do MHC da classe I são reconhecidos pelas células T  $CD8^+$ , ao passo que os antígenos peptídicos associados ao MHC da classe II são reconhecidos por células T  $CD4^+$ . As moléculas do MHC ligam-se a apenas um peptídio por vez, e todos os peptídios que se ligam a uma determinada molécula do MHC compartilham padrões estruturais comuns. Cada molécula do MHC possui uma ampla especificidade aos peptídios e é capaz de ligar-se a diversos peptídios com características estruturais em comum, tais como resíduos de ancoragem.

A fenda de ligação do peptídio das moléculas do MHC da classe I pode acomodar peptídios de 6 a 16 resíduos de aminoácidos de comprimento, enquanto a fenda das moléculas do MHC da classe II admite a ligação de peptídios maiores (até 30

resíduos de aminoácidos de comprimento, ou mais). Alguns resíduos polimórficos do MHC determinam a especificidade de ligação a peptídeos através da formação de estruturas chamadas bolsos que interagem com os resíduos complementares do peptídeo ligado, chamados resíduos de ancoragem. Outros resíduos polimórficos do MHC e alguns resíduos dos peptídeos não estão envolvidos na ligação a moléculas do MHC mas, em vez disso, formam a estrutura reconhecida pelas células T.

As moléculas do MHC da classe I são expressas em todas as células nucleadas, enquanto as moléculas do MHC da classe II são expressas principalmente nas APCs especializadas, tais como células dendríticas, macrófagos e linfócitos B e alguns outros tipos de células, incluindo células endoteliais e células epiteliais do timo. A expressão dos produtos dos genes do MHC é aumentada por estímulos inflamatórios e imunes, em particular as citocinas como o IFN- $\gamma$ , que estimulam a transcrição de genes do MHC.

O processamento do antígeno é a conversão das proteínas nativas em peptídeos associados ao MHC. Este processo consiste na introdução de antígenos proteicos exógenos nas vesículas das APCs ou síntese de antígenos no citosol, na degradação proteolítica destas proteínas em peptídeos, na ligação dos peptídeos a moléculas do MHC e na apresentação dos complexos peptídeo-MHC na superfície da APC para o reconhecimento pelas células T. Assim, tanto as proteínas extracelulares como as intracelulares são monitoradas por estas vias de processamento de antígenos, e os peptídeos derivados tanto de proteínas próprias normais como de proteínas estranhas são apresentadas por moléculas do MHC para a vigilância por linfócitos T.

Na via do MHC da classe I, as proteínas citossólicas são proteoliticamente degradadas no proteossoma, dando origem a peptídeos que se ligam a moléculas do MHC da classe I. Estes peptídeos são levados do citosol para o RE por um transportador dependente de ATP, chamado de TAP. Dímeros de microglobulina- $\beta$ 2 do MHC da classe I recém-sintetizados no RE estão associados ao complexo TAP e recebem peptídeos transportados para o RE. Complexos estáveis de moléculas do MHC da classe I ligadas a peptídeos saem do ER, através do complexo de Golgi, para a superfície celular.

Na via do MHC da classe II, as proteínas extracelulares são internalizadas em endossomas, onde estas proteínas são proteoliticamente clivadas por enzimas que funcionam em pH ácido. As moléculas do MHC da classe II recém-sintetizadas associadas ao I $\alpha$  são transportadas do RE para as vesículas endossomais. Ali, o I $\alpha$  é clivado proteoliticamente e um pequeno peptídeo remanescente do I $\alpha$ , chamado de CLIP, é removido da fenda de ligação dos peptídeos da molécula do MHC pelas moléculas do DM. Os peptídeos gerados a partir de proteínas extracelulares ligam-se, em seguida, à fenda disponível da molécula do MHC da classe II e o complexo trimérico (as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do MHC da classe II e o peptídeo) move-se para a



superfície da célula e é apresentado.

Estas vias de apresentação de antígeno restritas ao MHC garantem que a maioria das células do corpo seja monitorada quanto à possível presença de antígenos exógenos. As vias também garantem que as proteínas de microrganismos extracelulares deem origem, preferencialmente, a peptídeos ligados a moléculas do MHC da classe II para reconhecimento pelas células T auxiliares CD4<sup>+</sup>, que ativam mecanismos efetores que eliminam antígenos extracelulares. Por outro lado, as proteínas sintetizadas por microrganismos intracelulares (citossólicos) dão origem a peptídeos ligados a moléculas do MHC da classe I para reconhecimento pelas CTL CD8<sup>+</sup>, que atuam na eliminação das células portadoras de infecções intracelulares. A imunogenicidade de antígenos proteicos exógenos depende da capacidade das vias de processamento de antígenos de gerar peptídeos a partir destas proteínas que se ligam às moléculas do MHC.

## Leituras selecionadas

### O Papel das Células Dendríticas na Captura e Apresentação de Antígenos

- Bouso, P. T-cell activation by dendritic cells in the lymph node: lessons from the movies. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:675–684.
- Collin, M., McGovern, N., Haniffa, M. Human dendritic cell subsets. *Immunology*. 2013; 140:22–30.
- Heath, W. R., Carbone, F. R. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nature Immunology*. 2009; 10:1237–1244.
- Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J., Mortha, A. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and inflamed setting. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:563–604.
- Mildner, A., Jung, S. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity*. 2014; 40:642–656.
- Satpathy, A. T., Wu, X., Albring, J. C., Murphy, K. M. Re(de)fining the dendritic cell lineage. *Nature Immunology*. 2012; 13:1145–1154.
- Shortman, K., Sathe, P., Vremec, D., Naik, S., O’Keeffe, M. Plasmacytoid dendritic cell development. *Advances in Immunology*. 2013; 120:105–126.
- Teijeira, A., Russo, E., Halin, C. Taking the lymphatic route: dendritic cell migration to draining lymph nodes. *Seminars in Immunopathology*. 2014; 36:261–274.

### Estrutura dos Genes do MHC, das Moléculas do MHC e dos Complexos Peptídeo-MHC

Bjorkman, P. J., Saper, M. A., Samraoui, B., Bennett, W. S., Strominger, J. L., Wiley, D.

- C. Structure of the human class I histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature*. 1987; 329:506–512.
- Horton, R., Wilming, L., Rand, V., et al. Gene map of the extended human MHC. *Nature Reviews Genetics*. 2004; 5:889–899.
- Marrack, P., Scott-Browne, J. P., Dai, S., Gapin, L., Kappler, J. W. Evolutionarily conserved amino acids that control TCR-MHC interaction. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:171–203.
- Martinez-Borra, J., Lopez-Larrea, C. The emergence of the major histocompatibility complex. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2012; 738:277–289.
- Mazza, C., Malissen, B. What guides MHC-restricted TCR recognition? *Seminars in Immunology*. 2007; 19:225–235.
- Reith, W., Leibundgut-Landmann, S., Waldburger, J. M. Regulation of MHC class II gene expression by the class II transactivator. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5:793–806.

### **Processamento de Proteínas Antigênicas e Apresentação de Antígenos Peptídicos Associada ao MHC**

- Akram, A., Inman, R. D. Immunodominance: a pivotal principle in host response to viral infections. *Clinical Immunology*. 2012; 143:99–115.
- Basler, M., Kirk, C. J., Groettrup, M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. *Current Opinion in Immunology*. 2013; 25:74–80.
- Blum, J. S., Wearsch, P. A., Cresswell, P. Pathways of antigen processing. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:443–473.
- Chapman, H. A. Endosomal proteases in antigen presentation. *Current Opinion in Immunology*. 2006; 18:78–84.
- Hansen, T. H., Bouvier, M. MHC class I antigen presentation: learning from viral evasion strategies. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:503–513.
- Neefjes, J., Jongstra, M. L., Paul, P., Bakke, O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:823–836.
- Purcell, A. W., Elliott, T. Molecular machinations of the MHC-I peptide loading complex. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:75–81.
- Schulze, M. S., Wucherpfennig, K. W. The mechanism of HLA-DM induced peptide exchange in the MHC class II antigen presentation pathway. *Current Opinion in Immunology*. 2012; 24:105–111.
- Stern, L. J., Potolicchio, I., Santambrogio, L. MHC class II compartment subtypes: structure and function. *Current Opinion in Immunology*. 2006; 18:64–69.

- Trombetta, E. S., Mellman, I. Cell biology of antigen processing in vitro and in vivo. *Annual Review of Immunology*. 2005; 23:975–1028.
- Vyas, J. M., Van der Veen, A. G., Ploegh, H. L. The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:607–618.
- Watts, C. The endosome-lysosome pathway and information generation in the immune system. *Biochim Biophys Acta*. 1824; 14–21:2012.

### **Apresentação Cruzada**

- Joffre, O. P., Segura, E., Savina, A., Amigorena, S. Cross-presentation by dendritic cells. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:557–569.
- Kurts, C., Robinson, B. W., Knolle, P. A. Cross-priming in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:403–414.
- Lin, M. L., Zhan, Y., Villadangos, J. A., Lew, A. M. The cell biology of cross-presentation and the role of dendritic cell subsets. *Immunology and Cell Biology*. 2008; 86:353–362.

### **Apresentação de Antígenos “Não Clássica”**

- Adams, E. J., Luoma, A. M. The adaptable major histocompatibility complex (MHC) fold: structure and function of nonclassical and MHC class I-like molecules. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:529–561.
- Cohen, N. R., Garg, S., Brenner, M. B. Antigen presentation by CD1: lipids, T cells, and NKT cells in microbial immunity. *Advances in Immunology*. 2009; 102:1–94.

## CAPÍTULO 7

# Receptores Imunológicos e a Transdução de Sinais

### VISÃO GERAL DA TRANSDUÇÃO DE SINAL

Sinalização Modular de Proteínas e Adaptadores

### A FAMÍLIA DOS RECEPTORES IMUNOLÓGICOS

Características Gerais da Sinalização dos Receptores de Antígenos

### O COMPLEXO RECEPTOR DE CÉLULAS T E A SINALIZAÇÃO CELULAR

A Estrutura do Receptor de Antígeno das Células T

Iniciação dos Sinais pelo Receptor de Células T

O papel dos correceptores CD4 e CD8 na Ativação das Células T

A Ativação de Tirosinoquinas e Lipídio Quinases Durante a Ativação das Células T

Recrutamento e Modificação de Proteínas Adaptadoras

Formação da Sinapse Imunológica

Vias de Sinalização de MAP Quinase em Linfócitos T

Vias de Sinalização Mediadas por Cálcio e de PKC em Linfócitos T

Ativação de Fatores de Transcrição que Regulam a Expressão dos Genes das Células T

Modulação da Sinalização da Célula T por Proteínas Tirosina Fosfatases

Sinalização de Receptores Coestimuladores de Células T

Alterações Metabólicas Durante a Ativação das Células T

### O COMPLEXO DO RECEPTOR DE ANTÍGENO DO LINFÓCITO B

Estrutura do Receptor de Antígenos de Células B

Iniciação do Sinal pelo Receptor da Célula B

O Papel do Receptor do Complemento CR2/CD21 como Correceptor das Células B

Vias de Sinalização Subsequentes ao Receptor da Célula B

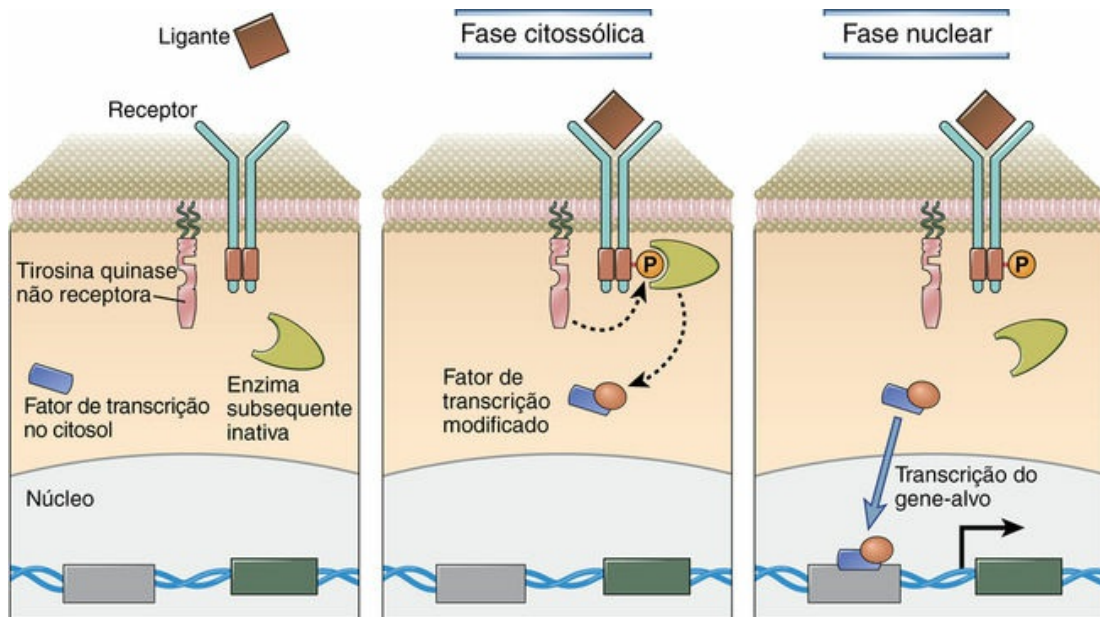
### A ATENUAÇÃO DA SINALIZAÇÃO DOS RECEPTORES IMUNOLÓGICOS

Receptores Inibitórios das Células NK, Células B e Células T

Ligases de Ubiquitina E3 e a Degradação de Proteínas Sinalizadoras  
RECEPTORES DE CITOCINA E SINALIZAÇÃO  
Classes de Receptores de Citocinas  
Sinalização por JAK-STAT  
Vias de Ativação do NF-κB  
RESUMO

A ideia de que as células têm receptores específicos da superfície que podem ser ativados por ligantes externos veio de um dos fundadores da imunologia moderna. Paul Ehrlich, em sua “teoria da cadeia lateral”, publicada em 1897, compreendeu os anticorpos da superfície das células imunológicas que reconhecem os antígenos e instruem a célula imune a liberar mais do mesmo anticorpo. Os receptores de superfície celular para hormônios foram descobertos muitas décadas mais tarde, no segundo semestre do século XX, mas bem antes da identificação dos receptores de antígeno em linfócitos no início de 1980.

**Os receptores de superfície celular têm duas funções principais, a indução da sinalização intracelular e a adesão célula-célula ou célula-matriz extracelular.** A transdução do sinal refere-se amplamente às vias bioquímicas intracelulares que são ativadas nas células após a ligação dos ligantes a receptores específicos. A maioria, mas nem todos os receptores de sinalização estão localizados na membrana plasmática. A sinalização iniciada por esses receptores tipicamente envolve uma fase inicial citossólica quando a porção citoplasmática do receptor, ou de proteínas que interagem com o receptor podem ser modificados após a tradução. Isso muitas vezes leva à ativação ou translocação nuclear de fatores de transcrição que estão inativos nas células em repouso, seguido por uma fase de transcrição nuclear quando os fatores orquestram mudanças na expressão gênica (Fig. 7-1). Algumas vias de transdução de sinal estimulam a motilidade celular ou ativam a exocitose de grânulos do citoplasma, sem alteração na expressão dos genes. A transdução de sinal pode resultar em um certo número de diferentes consequências para a célula, incluindo a aquisição de novas funções, a indução de diferenciação, o compromisso com uma linhagem específica, a proteção da morte celular, o início das respostas de proliferação e o crescimento e a indução de parada do ciclo celular ou de morte por apoptose.



**FIGURA 7-1** Sinalização originada da superfície celular envolve fases citossólicas e nucleares.

Um receptor genérico que ativa uma tirosinoquinase não receptora após o seu acoplamento ao ligante é mostrado. Na fase de sinalização citossólica, a quinase não receptora fosforila um resíduo-chave de tirosina na cauda citoplasmática do receptor e como resultado a cauda do receptor contendo fosfotirosina é capaz de recrutar uma enzima subsequente que é então ativada. Na fase citossólica, esta enzima ativada leva a uma modificação pós-translacional de um fator de transcrição específico, que está localizado no citoplasma. Neste exemplo simplificado, a fase citossólica tem apenas um único evento enzimático, mas muitas vias de transdução de sinal envolvem vários passos. Na fase nuclear, este fator de transcrição modificado entra no núcleo e induz a expressão de genes-alvo que têm um local de ligação no promotor, ou em alguma outra região reguladora que pode ligar-se a este fator de transcrição modificado e facilitar a transcrição.

Os receptores de antígenos nos linfócitos B e T estão entre os mecanismos de sinalização mais sofisticados de que se tem conhecimento e eles serão grande parte do foco deste capítulo. Inicialmente iremos fornecer uma visão ampla da transdução de sinal, seguida por uma discussão de sinalização mediada por receptores de antígenos distribuídos clonalmente em linfócitos e por receptores imunológicos estruturalmente relacionados encontrados principalmente em células do sistema imune inato. Enquanto discutimos os receptores de antígeno nas células T e B, vamos examinar o papel de outros receptores chamados correceptores e receptores



coestimulatórios que aumentam a ativação de linfócitos pelo receptor de antígeno, e vamos discutir o papel da inibição dos receptores de células T, B e NK. Também vamos estudar as diferentes categorias de receptores de citocinas e os mecanismos de transdução de sinal iniciados por estes receptores. Por fim, para ilustrar os passos na ativação de um fator de transcrição prototípico, vamos examinar a principal via que leva à ativação de NF- $\kappa$ B, um fator de transcrição de relevância para tanto a imunidade inata quanto para a adaptativa.

## Visão geral da transdução de sinal

Os receptores que iniciam respostas de sinalização geralmente são proteínas estruturais presentes na membrana plasmática, onde os seus domínios extracelulares solúveis reconhecem os ligantes secretados ou estruturas que estão ligadas à membrana plasmática de uma célula ou células vizinhas. Outra categoria de receptores, os receptores nucleares, são fatores de transcrição intracelulares que são ativados pelos ligantes lipossolúveis que podem atravessar a membrana plasmática.

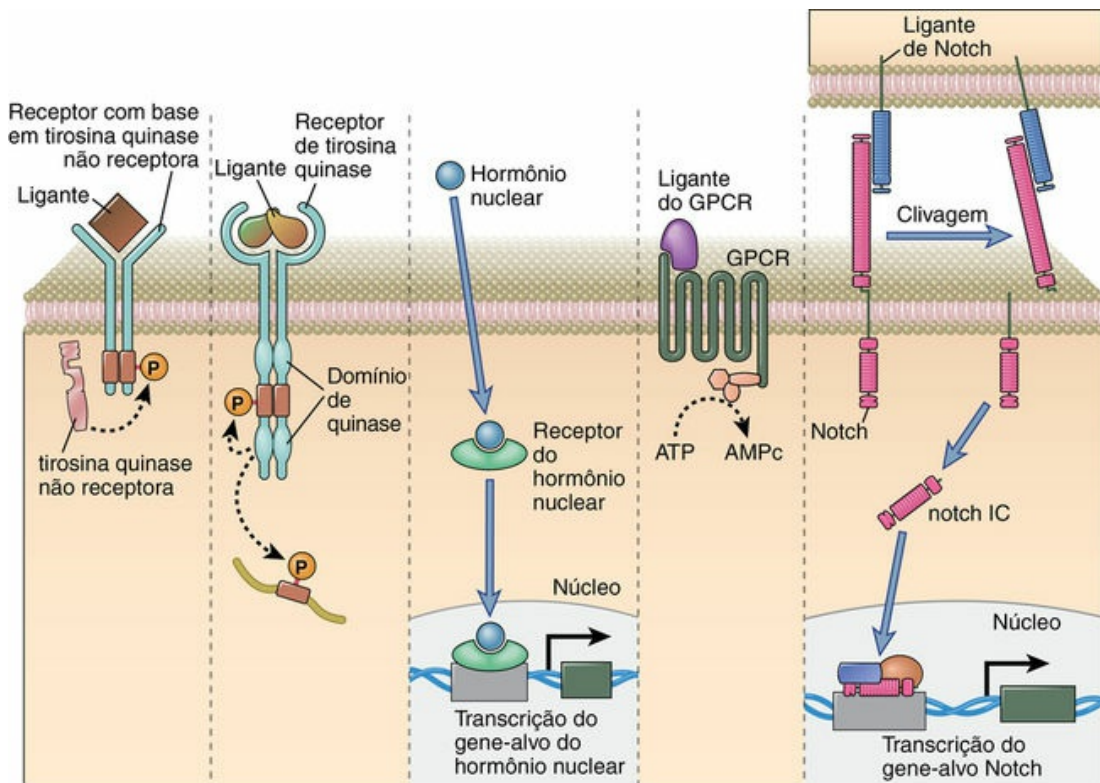
***A iniciação da sinalização de um receptor da superfície da célula pode necessitar do agrupamento das proteínas do receptor induzido pelo ligante, chamada de ligação cruzada, ou pode envolver uma alteração conformacional do receptor induzida pela sua associação ao ligante.*** Ambos os mecanismos de iniciação dos sinais tipicamente resultam na criação de uma nova forma geométrica na porção citossólica do receptor que promove as interações com outras moléculas de sinalização.

***Um evento comum na fase inicial da transdução de sinal é a adição enzimática de um resíduo de fosfato sobre uma cadeia tirosina, serina ou treonina na porção citossólica do receptor ou de uma proteína adaptadora.*** As enzimas que adicionam grupos fosfato nas cadeias laterais de aminoácidos são chamadas de **proteínas quinases**. Muitos dos eventos iniciais da sinalização dos linfócitos dependem de proteínas quinases que fosforilam resíduos de tirosina específicos, estas enzimas são chamadas, por esta razão, de **proteínas tirosinoquinases**. Outras proteínas quinases que estão envolvidas na sinalização de vias distintas são as serina/treonina quinases, que fosforilam os resíduos serina ou treonina. Algumas enzimas ativadas posteriormente na sinalização de receptores de fosforilam substratos lipídicos; elas são, portanto, conhecidas como **quinases lipídicas**. Para cada tipo de evento da fosforilação, existe também uma fosfatase específica, uma enzima que pode remover o resíduo de fosfato e, assim, modular a sinalização. Estas fosfatases têm uma participação importante, geralmente inibitória, na transdução de sinal.

A fosforilação de proteínas não é a única modificação pós--translacional que leva à transdução de sinal. Muitas outras modificações podem facilitar os acontecimentos da sinalização. Um tipo de modificação que vamos descrever mais adiante neste capítulo

é a adição covalente de moléculas de ubiquitina que tanto têm como alvo as proteínas para a degradação ou direcionam a transdução de sinal em muitas células, incluindo os linfócitos. Muitas moléculas importantes na sinalização de proteínas são modificadas pela adição de lipídios que podem ajudar a localizar essas proteínas para uma região especializada da membrana plasmática para que elas interajam de forma eficiente com outras moléculas de sinalização que também são direcionadas para essa membrana de microdomínio. Alguns fatores de transcrição são funcionalmente modificados por acetilação, e as porções N-terminais de histonas podem ser acetiladas e metiladas a fim de modular a expressão do gene, a replicação do DNA, e os eventos de recombinação do DNA.

***Os receptores celulares são agrupados em várias categorias com base nos mecanismos de sinalização que usam e as vias bioquímicas intracelulares que eles ativam (Fig. 7-2):***



**FIGURA 7-2** Principais categorias de receptores de sinalização no sistema imunológico.

Aqui estão descritos um receptor que usa uma tirosinoquinase não receptora, uma tirosinoquinase receptora, um receptor nuclear que se liga ao seu ligante e em seguida pode influenciar a transcrição, um receptor transmembranar de sete alças acoplado à proteína G (GPCR), e Notch, que reconhece um ligante numa célula distinta e é clivado, obtendo-se um fragmento intracelular (IC Notch) que pode entrar no núcleo e influenciar a transcrição de genes-alvo específicos.

- Os receptores que utilizam as **tirosinas quinases não receptoras**. Nesta categoria de receptores de membrana, as caudas citoplasmáticas dos polipeptídeos de ligação não têm atividade intrínseca catalítica, mas uma tirosinoquinase intracelular separada, conhecida como um não receptor de tirosinoquinase, participa da ativação do receptor por fosforilação de componentes específicos no receptor ou em outras proteínas associadas ao receptor (Fig. 7-1). A família de receptores chamados receptores imunológicos, alguns dos quais reconhecem antígenos enquanto outros reconhecem as porções Fc de anticorpos, usam tirosinoquinases não receptoras para iniciar a sinalização. Além da família de receptores imunes, alguns receptores de citocinas, discutidos mais adiante neste capítulo, utilizam tirosinoquinases não receptoras. As integrinas, receptores de adesão essenciais ao sistema imunológico, também sinalizam através da ativação de tirosinoquinases

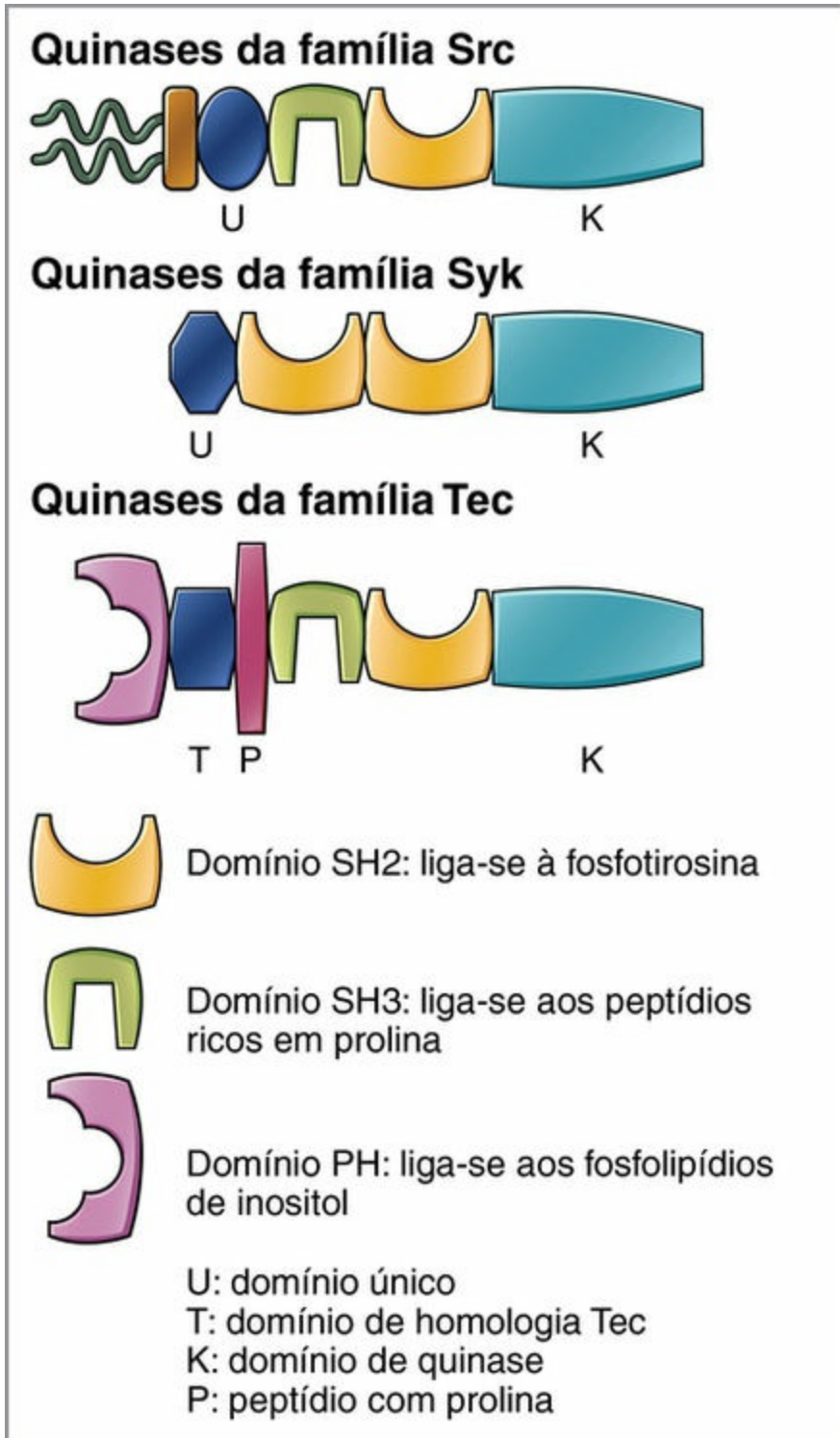
não receptoras.

- **Os receptores de tirosinoquinase (RTKs)** são proteínas integrais de membrana que ativam um domínio (ou domínios) tirosinoquinase intrínseco localizados na cauda citoplasmática dos receptores quando formam ligações cruzadas com ligantes extracelulares polivalentes. Um exemplo de um RTK relevante para a formação de células de sangue é a proteína de c-kit. Outros exemplos de RTKs incluem o receptor da insulina, o receptor do fator de crescimento epidérmico e o receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas.
- **Os receptores nucleares.** Estes receptores estão normalmente localizados ou migram para o núcleo, onde eles funcionam como fatores de transcrição. A ligação de um ligante lipossolúvel ao seu receptor nuclear resulta na capacidade deste último para induzir a transcrição ou para reprimir a expressão do gene. Os receptores hormonais nucleares, tais como o receptor de vitamina D e os receptores de glicocorticoides, podem influenciar os acontecimentos que vão desde o desenvolvimento do sistema imunológico para a modulação do gene da expressão de citocinas.
- **Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs)** são receptores que funcionam através da ativação de proteínas ligadas ao GTP (proteínas G). Eles são polipeptídios que atravessam a membrana plasmática sete vezes, motivo pelo qual são chamados muitas vezes de receptores serpentina. A mudança conformacional induzida pela ligação do ligante para este tipo de receptor permite a ativação de uma proteína G heterotrimérica associada através da troca do GDP ligado pelo GTP. A proteína G ativada inicia os eventos de sinalização subsequentes. Exemplos desta categoria de receptores que são relevantes à imunidade e inflamação incluem os receptores para leucotrienos, as prostaglandinas, a histamina, fragmentos de C3a e C5a do complemento, os peptídios de formil bacterianos e todas as quimiocinas ([Capítulo 3](#)). Diferentes tipos de proteínas G ligadas à GPCRs distintas podem ativar ou levar à inibição de diferentes efetores subsequentes. Duas das principais enzimas que ativam os GPCRs são a adenilato ciclase, que converte o ATP na molécula efetora AMPc, capaz de ativar numerosas respostas celulares, e a fosfolipase C, o que também desencadeia múltiplos sinais, como será discutido mais adiante.
- **Outras classes de receptores.** Outras categorias de receptores têm sido há muito tempo conhecidas como importantes no desenvolvimento embrionário e em certos tecidos maduros e as suas funções no sistema imunológico começaram a surgir mais recentemente. As proteínas receptoras da família **Notch** estão envolvidas no desenvolvimento de uma grande variedade de espécies. A associação específica de ligantes com receptores desta família leva à clivagem proteolítica do receptor e à translocação nuclear do domínio citoplasmático clivado (Notch intracelular), que funciona como um componente de um complexo de transcrição. As proteínas Notch contribuem para a determinação do destino celular durante o

desenvolvimento de linfócitos ([Cap. 8](#)) e também pode influenciar a ativação de linfócitos maduros. Um grupo de ligantes denominados de proteínas **Wnt** pode influenciar a linfopoiese. A sinalização através de receptores transmembranares para essas proteínas pode regular os níveis de  $\beta$ -catenina, o que facilita a atividade de transcrição de proteínas que contribuem para o desenvolvimento das células B e T, como discutido no [Capítulo 8](#). Vários outros receptores e vias de sinalização descobertos pela primeira vez em populações de células não imunológicas estão começando agora a ser estudados no contexto da biologia dos linfócitos. Não vamos tentar descrever detalhadamente todas estas vias neste capítulo.

## Sinalização Modular de Proteínas e Adaptadores

***As moléculas de sinalização são muitas vezes compostas por módulos distintos, cada uma com uma função específica de ligação ou catálise.*** A descoberta da fosforilação da tirosina representa um grande avanço no estudo das vias de sinalização celular. Posteriormente, foi descoberto que a sequência de aminoácidos específica ao redor dos resíduos de tirosina fosforilada contribui para a interação de proteínas tirosina fosforiladas com outras moléculas de sinalização. O estudo de tirosinoquinasas não receptoras mostrou que moléculas de sinalização contêm diferentes módulos ou domínios e cada um tem funções diferentes. O homólogo celular da proteína transformante do vírus do sarcoma de Rous, chamado c-Src, é o protótipo para uma família importante imunologicamente de tirosinoquinasas não receptoras conhecidas como **quinases da família Src**. O c-Src contém domínios únicos, incluindo os domínios **Src homologia 2 (SH2)** e **Src homologia 3 (SH3)**. Ele também contém um domínio catalítico de tirosinoquinase e um domínio lipídico N-terminal adicional que facilita a adição covalente de uma molécula de ácido mirístico para a proteína. O miristato auxilia a família de Src quinases a alcançar a membrana plasmática. As estruturas modulares de três famílias de tirosinoquinasas que são importantes para o sistema imunológico estão representadas na [Figura 7-3](#).



**FIGURA 7-3** A estrutura modular de tirosinoquinases que influenciam a ativação de linfócitos.

Os módulos incluem domínios SH2 que se ligam aos polipeptídios específicos contendo fosfotirosina, domínios SH3 que reconhecem trechos polipeptídicos ricos em prolina, domínios PH que reconhecem PIP3 ou outros lipídios derivados de fosfatidilinositol, e domínios de homologia Tec

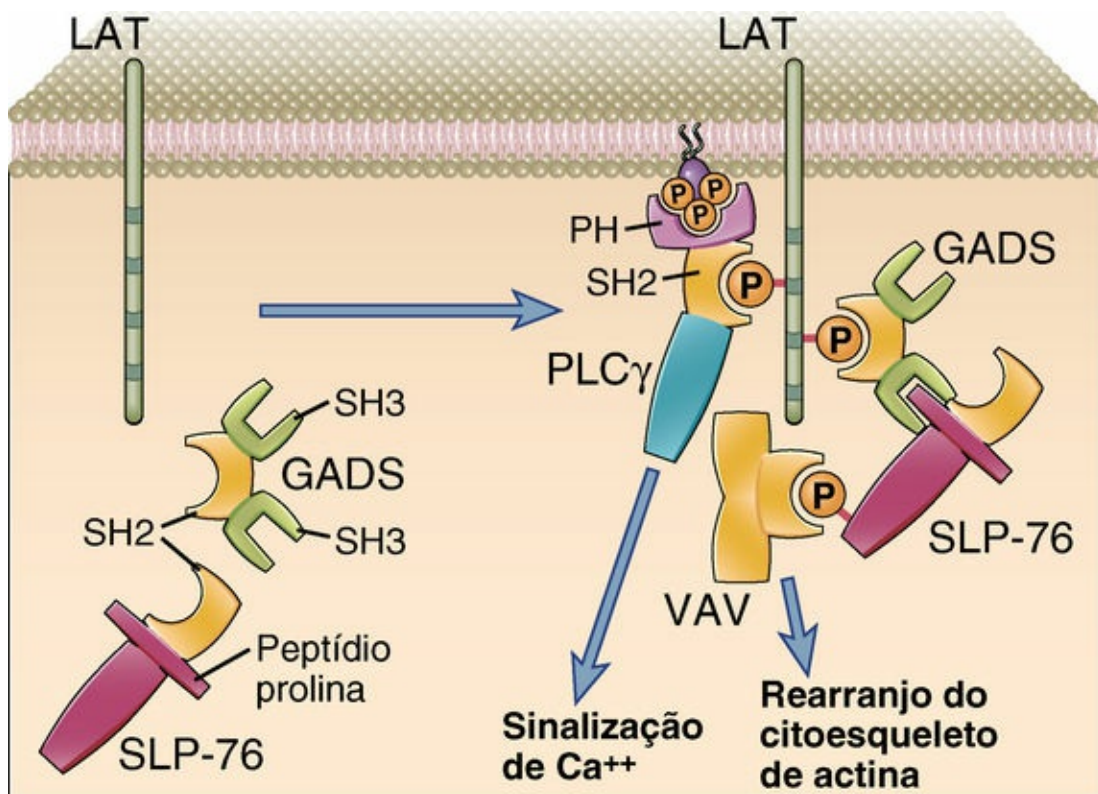


encontrados em tirosinoquinases da família Tec. As famílias de tirosinoquinase descritas são as quinases da família Src, que incluem c-Src, Lyn, Fyn e Lck; as quinases da família Syk, que incluem a Syk e ZAP-70; e as quinases da família Tec, que incluem Tec, Btk e Itk.

Os domínios SH2 são compostos por cerca de 100 aminoácidos dobrados numa conformação em particular e eles se ligam aos peptídeos contendo fosfotirosina em certas proteínas. Na sinalização do receptor de antígeno, as quinases da família Src fosforilam resíduos de tirosina presentes em tipos particulares na cauda citoplasmática de proteínas que fazem parte do complexo receptor (descrito mais tarde). Estes tipos fosfotirosina do complexo receptor do antígeno então funcionam como locais de ligação para os domínios SH2 presente em tirosinoquinases da família Syk, tais como a Syk e ZAP-70 (Fig. 7-3). O recrutamento de uma quinase da família de Syk para um receptor de antígenos por meio da interação de um domínio SH2-fosfotirosina específico é um passo fundamental na ativação do receptor antígeno. Os domínios SH3 possuem também cerca de 100 aminoácidos em comprimento e eles ajudam a mediar as interações proteína-proteína ligando-se a trechos ricos em prolina em certas proteínas. Outro tipo de domínio modular, denominado domínio homologia de plecstrina (PH), pode reconhecer fosfolipídios específicos. Os domínios PH em várias moléculas de sinalização, incluindo a família TEC tirosinoquinase Btk, reconhecem o fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), um grupamento lipídico presente na camada interna da membrana plasmática.

As **proteínas adaptadoras** funcionam como centros moleculares que fisicamente ligam enzimas diferentes e promovem a montagem de complexos de moléculas sinalizadoras. As adaptadoras podem ser proteínas integrais de membrana, tais como LAT (ligante para a ativação das células T) (Fig. 7-4), ou podem ser proteínas citossólicas, tais como BLNK (ligante de célula B), SLP-76 (proteína de ligação com 76 kD contendo domínio SH2) e GADS (proteína relacionada com o adaptador de GRB-2 subsequente a Shc). Uma adaptadora típica pode conter alguns domínios específicos que medeiam as interações proteína-proteína, tais como SH2 e o domínio SH3, entre outros (existem muito mais tipos de domínios modulares não mencionados aqui). Adaptadores frequentemente contêm alguns trechos ricos em prolina que podem se ligar a outras proteínas que contêm os domínios SH3, e eles também frequentemente contêm resíduos de tirosina que podem ser fosforilados pelas tirosinoquinases e servem como locais de ligação para outras moléculas de sinalização. Os resíduos de aminoácidos que estão perto de uma porção de tirosina fosforilada determinam quais os domínios SH2 específicos podem ligar esse site. Por exemplo, uma tirosinoquinase iniciadora ou ascendente pode fosforilar um adaptador YxxM (onde Y representa a tirosina, M representa metionina, e x refere-se a qualquer aminoácido) numa proteína adaptadora, e isso pode permitir a ligação de um domínio

SH2 no lipídio quinase fosfatidilinositol-3-quinase (PI3-quinase). Um trecho rico em prolina na mesma proteína adaptadora pode ligar-se um domínio SH3 específico em uma tirosinoquinase subjacente distinta. Assim, a fosforilação da tirosina do adaptador pode resultar em uma tirosina subjacente e a PI3-quinase próxima uma da outra, o que resulta na fosforilação e ativação da PI3-quinase. A transdução do sinal pode, portanto, ser visualizada como uma espécie de fenômeno de redes sociais. Um sinal de fosforilação inicial (tirosina, por exemplo) resulta em proteínas sendo trazidas próximas umas das outras para certos pontos (adaptadores), resultando na ativação de enzimas específicas que, eventualmente, influenciam na localização nuclear ou atividade específica de fatores de transcrição subjacentes ou induzem outros eventos celulares, tais como a polimerização da actina.



**FIGURA 7-4** Adaptadores selecionados que participam da ativação de linfócitos.

À esquerda, LAT, uma proteína integral de membrana que funciona como um adaptador e dois adaptadores citossólicos, GADS e SLP-76, são mostrados numa célula não T ativada. À direita, após a ativação das células T, LAT tem suas tirosinas fosforiladas e recruta a PLC $\gamma$  (que se liga simultaneamente ao fosfolípido da membrana PIP3) e o adaptador GADS, ambos contendo domínios SH2. Um aminoácido rico em prolina estendido em SLP-76 associa-se com um domínio SH3 de GADS, e SLP-76 com tirosinas fosforiladas recruta a Vav.

## A família dos receptores imunológicos

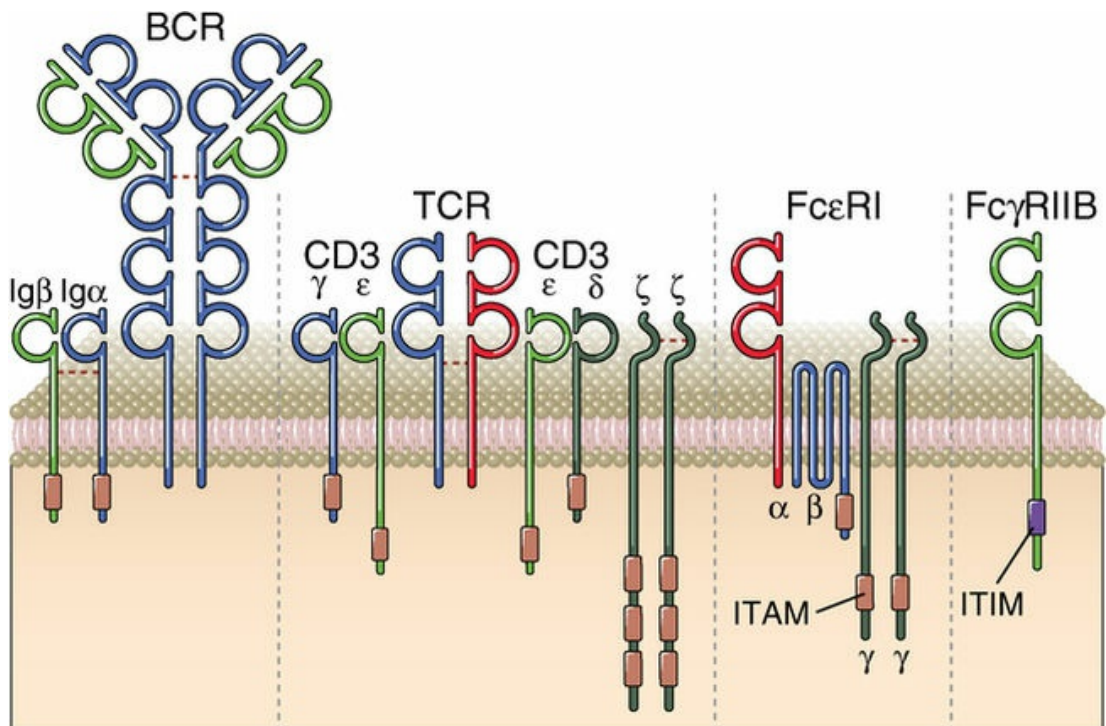
**Os receptores imunológicos são uma única família de complexos receptores tipicamente composta de proteínas integrais da membrana da superfamília da imunoglobulina (Ig), que estão envolvidos no reconhecimento do ligante, associado a outras proteínas transmembranas de sinalização que possuem moléculas únicas contendo tirosina em suas caudas citoplasmáticas.**

Considerando que os componentes da sinalização são geralmente proteínas separadas daquelas envolvidas no reconhecimento do ligante, em alguns membros da família, o receptor é constituído por uma única cadeia em que o domínio

extracelular está envolvido no reconhecimento do ligante e a cauda citoplasmática contém resíduos de tirosina que contribuem para a sinalização. As proteínas de sinalização da família de receptores imunológicos são frequentemente posicionadas próximas dos não receptores de tirosinoquinase da família de Src, que possuem âncoras de lipídios N-terminais, que as fixam à camada interna da membrana plasmática.

Os tipos citoplasmáticos contendo tirosina na sinalização de proteínas da família de receptores imunológicos são geralmente um de dois tipos diferentes. **ITAMs (grupos de ativação com base na tirosina do imunorreceptor)** são encontrados nos receptores envolvidos na ativação de células e têm a sequência YxxL / I(x) 6-8YxxL / I, em que Y representa um resíduo de tirosina, L representa a leucina, I representa isoleucina, e x refere-se a qualquer aminoácido. Ambos os resíduos de tirosina nos grupos ITAM podem ser fosforilados por quinases da família Src quando os receptores imunológicos são ativados. Os ITAMs com tirosina fosforilada recrutam uma tirosinoquinase distinta da família Syk/ZAP-70, que possui os domínios SH2 em paralelo que se ligam a cada um dos dois grupos YxxL/I fosforilados de ITAM. A ligação da Syk (ou ZAP-70) a uma quinase ITAM provoca uma mudança conformacional que ativa a quinase, levando a eventos de sinalização adicionais que direcionam a ativação de células imunológicas. Alguns receptores imunes inibem respostas celulares e cadeias de sinalização nestes receptores podem conter um grupo tirosina um pouco diferente, que é chamado de **ITIM (grupo de inibição com base na tirosina do imunorreceptor)**, que tem a sequência de consenso V/L/IxYxxL, onde o V refere-se a valina. ITIMs fosforilados recrutam fosfatases de tirosina ou lipídios de inositol, enzimas que removem os resíduos fosfato de fosfotirosina ou de determinados fosfatos lipídicos e, assim, neutralizam a ativação do receptor imunológico com base no ITAM.

***Os membros da família de receptores imunológicos incluem os receptores de antígeno das células B e células T, o receptor de Fc de IgE específico em mastócitos e a ativação IgG específica e inibitória de receptores Fc das células da imunidade inata e linfócitos B (Fig. 7-5).*** Estes receptores imunes formam complexos com ITAM contendo proteínas que estão envolvidas na transdução de sinal, incluindo as proteínas de cadeia  $\zeta$  CD3 e proteínas do complexo receptor da célula T (TCR), e  $I\alpha$   $I\beta$  associadas a moléculas de Ig de membrana, os receptores de antígenos de células B e componentes de diversos receptores Fc e do ativador do receptor NKG2D em células *natural killer* (NK) ([Capítulo 4](#)). Os receptores inibitórios, incluindo CD22, Fc $\gamma$ R1IB, e vários receptores inibitórios das células NK, possuem ITIMs em seus domínios citoplasmáticos ou em proteínas associadas.



**FIGURA 7-5** Membros selecionados da família dos receptores imunológicos.

Quatro membros selecionados da família de receptores imunes estão representados. Tipicamente, receptores imunes que ativam células do sistema imunológico possuem cadeias polipeptídicas separadas para o reconhecimento e cadeias de polipeptídeos associados que contêm ITAMs citossólicas. Exemplos aqui apresentados incluem o receptor de células B (BCR), o receptor de células T (TCR), e receptor de alta afinidade para IgE (FcεRI). Os receptores inibitórios no sistema imunológico têm normalmente motivos ITIM sobre a porção citossólica da mesma cadeia que utiliza o seu domínio extracelular por reconhecimento do ligante. O receptor inibitório mostrado, FcγRIIB, encontra-se em células B e células mieloides.

## Características Gerais da Sinalização dos Receptores de Antígenos

**A sinalização subsequente de receptores de antígenos das células T e B está caracterizada por uma sequência semelhante de eventos**, que consiste no seguinte.

- O acoplamento do receptor tipicamente envolve o agrupamento de receptores por ligantes multivalentes e resulta na ativação de uma família Src quinase associada. A

ligação do receptor de ligação também pode induzir o desdobramento da cauda citoplasmática de uma cadeia polipeptídica que faz parte do receptor. O evento do desdobramento (ou mudança conformacional) pode autorizar resíduos de tirosina previamente escondidos de um grupo ITAM citossólico para tornar-se disponível para a fosforilação por uma família de Src-quinase.

- A família Src quinase fosforila tirosinas disponíveis nas ITAMs de proteínas de sinalização que fazem parte do complexo receptor. As duas tirosinas fosforiladas de um único ITAM são reconhecidas por uma tirosinoquinase da família Syk que possui domínios SH2 paralelos, cada qual capaz de realizar ligação com uma fosfotirosina ITAM.
- O recrutamento da família Syk quinase para a ITAM fosforilada resulta na ativação dessa tirosinoquinase e a subsequente fosforilação de tirosina das proteínas adaptadoras e enzimas que ativam distintas vias de sinalização subsequentes do receptor imunológico.

Esta sequência de acontecimentos é descrita em mais detalhes no contexto da sinalização do receptor de células T e B, posteriormente neste capítulo.

***As alterações na força de sinalização do receptor TCR e de células B (BCR) de sinalização influenciam as respostas dos linfócitos durante o seu desenvolvimento e ativação.*** Em outras palavras, a presença de diferentes números de moléculas de sinalização ativadas induzidas por receptores para o antígeno ligado é interpretada de forma diferente pelos linfócitos. Por exemplo, durante a maturação de células T no timo, os sinais fracos emitidos pelo receptor de antígeno são necessários para a seleção positiva, o processo que preserva células úteis por correceptores de correspondência para as moléculas de MHC apropriadas e mudanças na intensidade do sinal podem determinar a seleção positiva do desenvolvimento de células T na linhagem CD4 ou CD8 (Cap. 8). Em contrapartida, os sinais fortes de receptores de antígeno durante a maturação de linfócitos podem contribuir para a morte por apoptose. A intensidade da sinalização de TCR e BCR também pode diferencialmente influenciar o tipo de resposta imunológica que é gerado por um determinado antígeno.

***A sinalização dos receptores de antígeno é aperfeiçoada e modulada por três mecanismos que são exclusivos para esta classe de receptores.***

- *Utilização progressiva dos ITAMs.* Uma das maneiras pelas quais as diferentes intensidades de saída do sinal podem ser geradas por receptores de antígenos é a fosforilação de diferentes números de tirosinas dos ITAMs após a ligação do receptor. O complexo TCR tem seis cadeias de sinalização e dez ITAMs, e um número crescente de ITAMs pode ser fosforilado com ligação do antígeno forte ou prolongado ao TCR. O número de ITAMs fosforiladas pode, por conseguinte, proporcionar uma interpretação citossólica da afinidade do antígeno que se liga ao TCR e a afinidade do antígeno pode, portanto, influenciar a natureza da resposta celular em diferentes fases de diferenciação e ativação. A BCR possui apenas dois



ITAMs, mas devido a este número aumentar quando proteínas receptoras são reticuladas por antígenos multivalentes, o grau de reticulação por antígenos pode determinar o número de ITAMs que pode ser utilizado e, assim, gerar diferentes respostas a antígenos de diferentes afinidade e valência.

- *O aumento da ativação celular por correceptores.* Um correceptor é uma proteína de sinalização transmembrana em um linfócito que pode facilitar a ativação de receptores de antígeno por simultaneamente se ligar ao mesmo complexo antigênico que é reconhecido pelo receptor de antígeno. O correceptor traz consigo as enzimas de sinalização ligadas à sua cauda citoplasmática e pode, assim, facilitar a fosforilação do ITAM e a ativação do receptor antígeno quando o antígeno é atraído para as proximidades do receptor de antígeno. Os correceptores em células T são as proteínas CD4 e CD8 que demarcam dois subconjuntos funcionalmente distintos. O receptor do complemento de tipo 2 (CR2 / CD21) é o correceptor em células B ([Cap. 12](#)).
- *A modulação da sinalização por receptores inibitórios.* Os **receptores inibitórios** essenciais presentes nas células T incluem a CTLA-4 e PD-1, enquanto os sinais inibitórios importantes em células B são liberados através de receptores, tais como CD22 e FcγRIIB, entre outros. As funções destes inibidores são discutidas mais adiante neste capítulo.

Além disso, os sinais dos receptores de antígeno podem, em algumas circunstâncias, cooperar com os sinais de proteínas chamadas **receptores coestimuladores** que agregam ainda um outro nível de controle para o processo de ativação dos linfócitos. Os receptores coestimuladores fornecem os chamados segundos sinais de linfócitos (o reconhecimento do antígeno fornece o primeiro sinal) e garantem que as respostas imunológicas sejam perfeitamente acionadas por agentes infecciosos e substâncias que mimetizam microrganismos, que são os agentes que induzem ou ativam os coestimuladores ([Figs. 4-18 e 9-3](#)). Ao contrário de correceptores, os receptores coestimuladores não reconhecem componentes dos mesmos ligantes assim como receptores de antígenos; as sinalizações subsequentes de receptores coestimuladores são integradas com os sinais provenientes do receptor do antígeno e estes sinais cooperam para ativar completamente os linfócitos. O protótipo do receptor coestimulador é o CD28 nas células T, que é ativado pelas moléculas de coestimulação B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), induzida por ligantes em células apresentadoras de antígenos (APCs), como resultado de sua exposição a microrganismos ([Capítulo 9](#)).

## O complexo receptor de células t e a sinalização celular

O TCR foi descoberto no início dos anos 1980, por volta do mesmo tempo que a estrutura do complexo maior de histocompatibilidade (MHC), moléculas relacionadas com peptídeos, os ligantes de células T, estavam sendo definidos ([Capítulo 6](#)). Isso foi

anos após o receptor de antígeno de célula B e os genes de Ig serem caracterizados. Os métodos utilizados para procurar as proteínas do TCR e os genes que as codificam baseavam-se no pressuposto de que seriam semelhantes às proteínas e genes Ig. Sabemos agora que TCRs são semelhantes aos anticorpos, mas há diferenças importantes entre estes dois tipos de receptores de antígenos (Tabela 7-1).

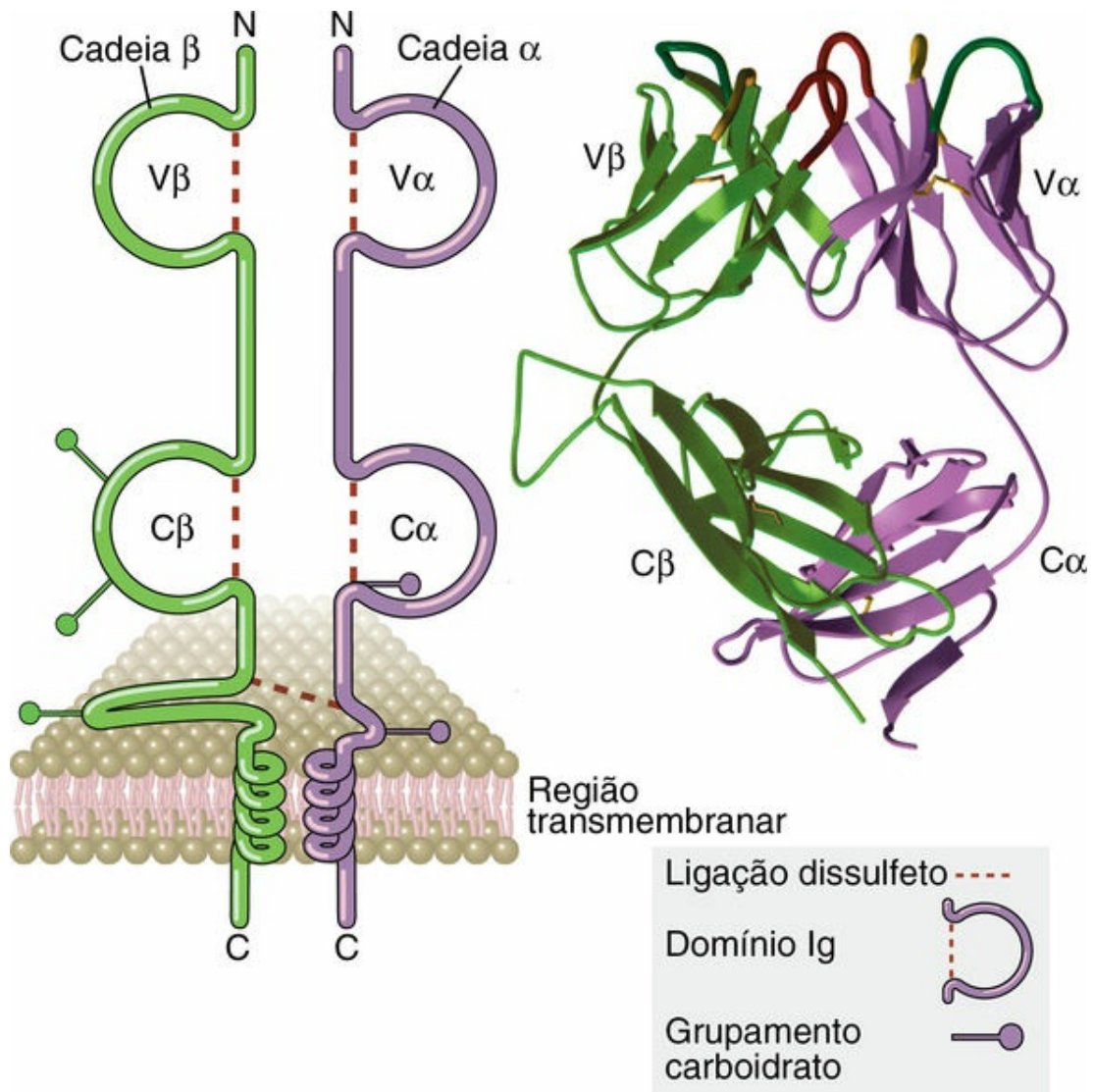
**Tabela 7-1**

**Propriedades dos Receptores de Antígenos nos Linfócitos: receptor de célula T e Imunoglobulinas**

	Receptor de Célula T (TCR)	Imunoglobulina (Ig)
Componentes	Cadeias $\alpha$ e $\beta$	Cadeias pesadas e leves
Número de domínios de Ig	Um domínio V e um domínio C em cada cadeia	Cadeia pesada: um domínio V, três ou quatro domínios C Cadeia leve: um domínio V e um domínio C
Número de CDRs envolvidos na ligação a antígenos	Seis (três em cada cadeia)	Seis (três em cada cadeia)
Moléculas de sinalização associadas	CD3 e $\zeta$	Ig $\alpha$ e Ig $\beta$
Afinidade pelo antígeno ( $K_D$ )	$10^{-5}$ - $10^{-7}$ M	$10^{-7}$ - $10^{-11}$ M (Ig secretada)
Mudanças Após a Ativação Celular		
Produção da forma secretada	Não	Sim
Mudança de isótopo	Não	Sim
Mutações somáticas	Não	Sim

## A Estrutura do Receptor de Antígeno das Células T

**Os receptores de antígeno das células T auxiliares restritas do MHC CD4<sup>+</sup> e de linfócitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos (CTL) são heterodímeros que consistem em duas cadeias polipeptídicas transmembranares, designadas TCR  $\alpha$  e  $\beta$ , covalentemente ligadas umas às outras por uma ponte dissulfeto entre os resíduos extracelulares de cisteína (Fig. 7-6).** Estas células T são chamadas de células T  $\alpha\beta$ . Um tipo menos comum de TCR é composto por cadeias TCR  $\gamma$  e  $\delta$ , e as células nas quais são expressos são chamadas células T  $\gamma\delta$ . Cada cadeia TCR  $\alpha$  e  $\beta$  consiste em uma porção N-terminal tipo Ig variável (V) de domínio, um domínio constante tipo Ig (C), uma região hidrofóbica transmembranar, e uma curta região citoplasmática. Assim, a porção extracelular do heterodímero TCR  $\alpha\beta$  é estruturalmente semelhante à de ligação ao fragmento de antígeno (Fab) de uma molécula de Ig, constituído pelas regiões V e C de uma cadeia leve e uma região V e uma região C de uma cadeia pesada (Capítulo 5).

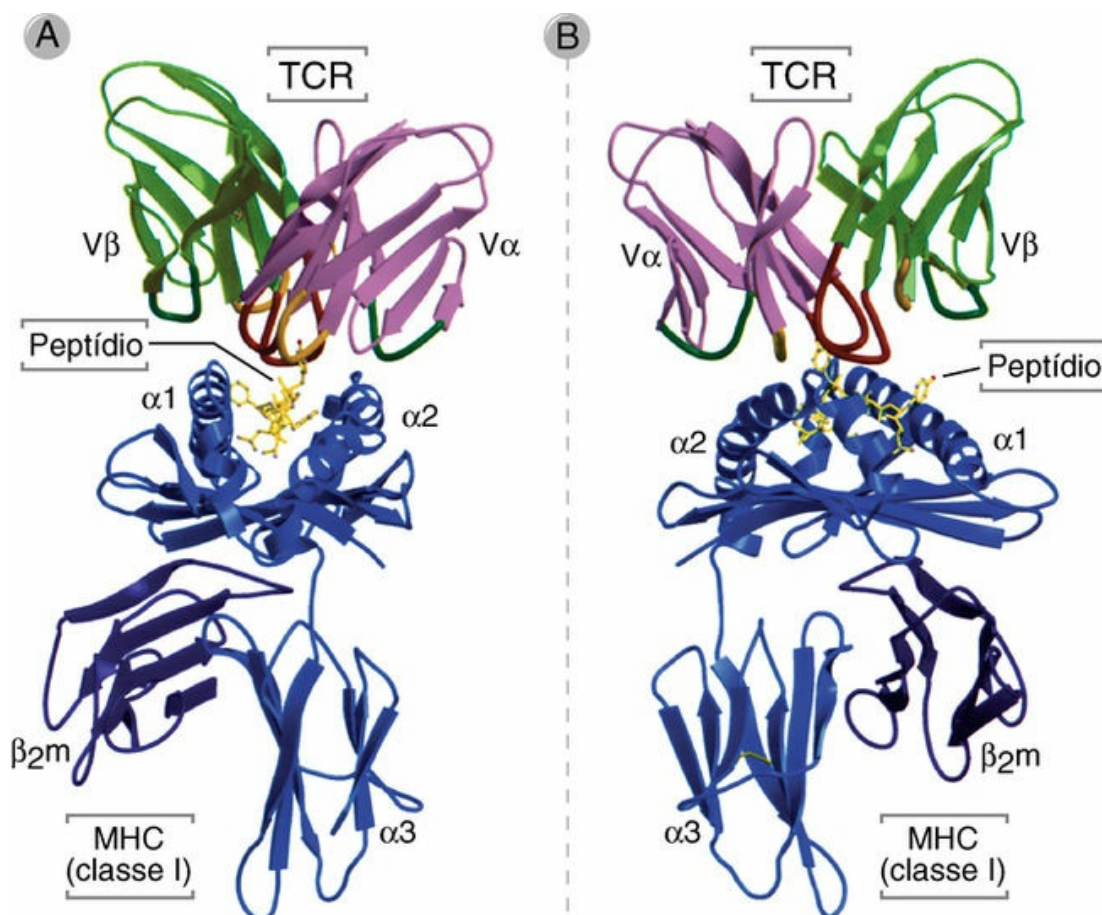


**FIGURA 7-6** Estrutura do receptor de células T.

O diagrama esquemático do TCR  $\alpha\beta$  (à esquerda) mostra os domínios de um TCR específico típico de um complexo peptídeo-MHC. A porção do TCR de ligação ao antígeno é formada pelos domínios V $\beta$  e V $\alpha$ . O diagrama de fita (direita) mostra a estrutura da porção extracelular de um TCR conforme revelado por cristalografia de raios-X. O segmento hipervariável que forma o peptídeo-MHC local de ligação está no topo. (Modificado de Bjorkman PJ: MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions, Cell 89:167–170, 1997. Copyright © Cell Press.)

As regiões V das cadeias de TCR  $\alpha$  e  $\beta$  contêm trechos curtos de aminoácidos em que a variabilidade entre diferentes TCRs é concentrada, e estes formam as regiões hipervariáveis ou determinantes da complementaridade (CDRs). Três CDRs para a cadeia  $\alpha$  e três regiões similares da cadeia  $\beta$  em conjunto formam a parte do TCR que

reconhece especificamente os complexos peptídeo-MHC (Fig. 7-7). O domínio de cadeia  $\beta$  V contém uma quarta região hipervariável que não parece participar do reconhecimento do antígeno, mas é o local de ligação para produtos microbianos chamados de superantígenos (Capítulo 15). Cada Cadeia de TCR, como as cadeias pesadas e leves das Ig, é codificada pelos segmentos de genes múltiplos que são unidos durante a maturação dos linfócitos T (Capítulo 8).



**FIGURA 7-7** Ligação de um TCR a um complexo peptídeo-MHC.

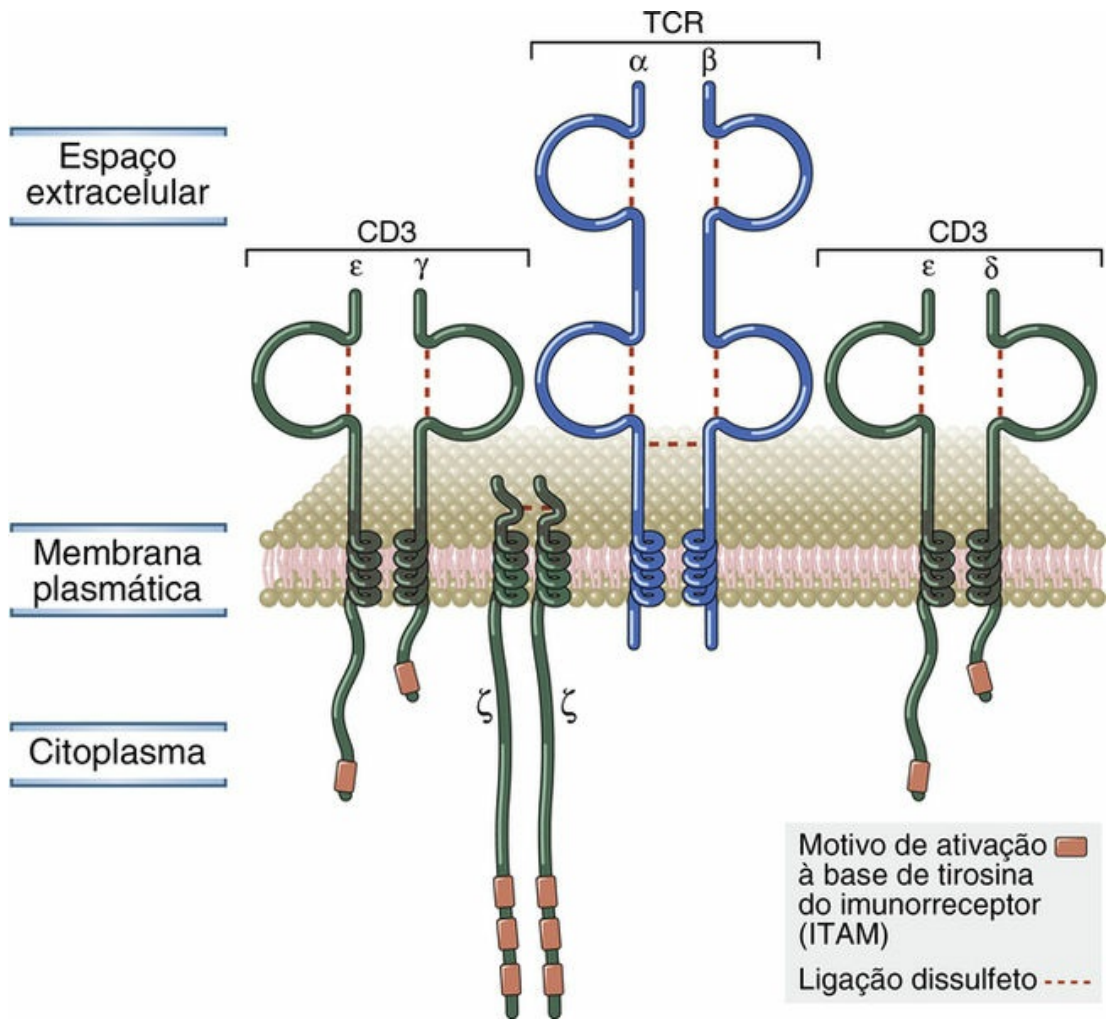
Os domínios V de um TCR são demonstrados interagindo com uma molécula de MHC classe I humano, HLA-A2, que apresenta um peptídeo viral (em amarelo). A é uma vista de frente e B é uma vista lateral da estrutura evidenciada em cristalografia de raios X do complexo trimolecular MHC-peptídeo-TCR. (De Bjorkman PJ: MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions, Cell 89:167–170, 1997. Copyright © Cell Press.)

As regiões C de ambas as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  continuam em regiões de articulação curtas, que contêm resíduos de cisteína que contribuem para uma ligação de

dissulfeto que liga as duas cadeias. Cada dobradiça é seguida por uma parte hidrofóbica transmembrana, uma característica incomum de que é a presença de resíduos de aminoácidos carregados positivamente, incluindo um resíduo de lisina (na cadeia  $\alpha$ ) ou uma lisina e um resíduo de arginina (na cadeia  $\beta$ ). Estes resíduos interagem com resíduos carregados negativamente presentes nas porções transmembrana de outros polipeptídios (as do complexo CD3 e  $\zeta$ ) que são parte do complexo TCR. Ambas as cadeias TCR  $\alpha$  e  $\beta$  têm caudas citoplasmáticas carboxiterminais que possuem de 5 a 12 aminoácidos de comprimento. Como as Ig de membrana nas células B (ver mais adiante), estas regiões citoplasmáticas são muito pequenas para funções de transdução de sinais e moléculas associadas fisicamente ao TCR funcionam como transdutoras de sinal pelo complexo receptor de antígenos.

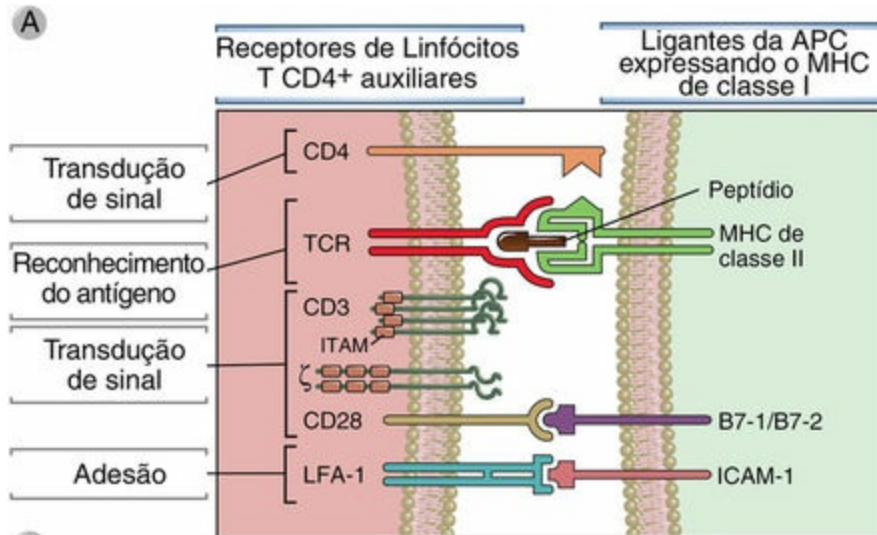
***As proteínas CD3 e  $\zeta$  estão associadas de forma não covalente ao heterodímero TCR  $\alpha\beta$  para formar o complexo de TCR e quando o TCR reconhece o antígeno, estas proteínas associadas levam à transdução de sinais que resultam na ativação da célula T.*** Os componentes do complexo de TCR são ilustrados nas [Figuras 7-8 e 7-9](#). As proteínas CD3 e a cadeia  $\zeta$  são idênticas em todas as células T, independentemente da especificidade, o que é consistente com o seu papel na sinalização e não no reconhecimento do antígeno. As proteínas CD3 também são necessárias para a expressão de superfície do complexo receptor de células T completo.










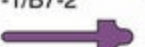

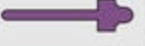






**FIGURA 7-8** Componentes do complexo TCR. O complexo de TCR de células T do MHC restrito consiste no TCR  $\alpha\beta$  não covalentemente ligado ao CD3 e a proteínas  $\zeta$ . A associação destas proteínas umas com as outras é mediada por resíduos carregados nas suas regiões transmembranares (não mostrado).





**B**

Molécula acessória da célula T	Função	Ligante	
		Nome	Expresso em
CD3 	Transdução de sinais pelo complexo TCR	Nenhum	
ζ 	Transdução de sinais pelo complexo TCR	Nenhum	
CD4 	Transdução de sinais	MHC de classe II 	Células apresentadoras de antígenos
CD8 	Transdução de sinais	MHC de classe I 	Todas as células nucleadas
CD28 	Transdução de sinais (coestimulação)	B7-1/B7-2 	Células apresentadoras de antígenos
CTLA-4 	Transdução de sinais (regulação negativa)	B7-1/B7-2 	Células apresentadoras de antígenos
PD-1 	Transdução de sinais (regulação negativa)	PD-L1/PD-L2 	Células apresentadoras de antígenos, células tissulares e células tumorais
LFA-1 	Adesão	ICAM-1 	Células apresentadoras de antígenos, endotélio

**FIGURA 7-9** Pares de ligantes e receptores envolvidos na ativação das células T.

A, as principais moléculas da superfície de células T CD4<sup>+</sup> envolvidas na ativação dessas células (receptores) e as moléculas nas APCs (os ligantes) reconhecidos pelos receptores são mostradas. Células T CD8<sup>+</sup> usam a maior parte das mesmas moléculas, com exceção de que o TCR

reconhece os complexos do MHC de classe I e o correceptor é CD8, que reconhece o MHC de classe I. Os motivos de ativação à base de tirosina do imunorreceptor (ITAMs) são as regiões de proteínas de sinalização que são fosforiladas em resíduos de tirosina e tornam-se locais de ligação para outras moléculas de sinalização. CD3 é composto de três cadeias polipeptídicas, denominadas  $\gamma$ ,  $\delta$ , e  $\epsilon$ , dispostas em dois pares ( $\gamma\epsilon$  e  $\delta\epsilon$ ) como mostrado na [Figura 7-8](#); aqui mostramos CD3 como três cadeias de proteínas. B, As propriedades importantes das maiores moléculas acessórias de células T, assim chamadas porque participam de respostas aos antígenos mas não são os receptores para o antígeno, estão resumidas. O CTLA-4 (CD152) é um receptor para as moléculas B7, que proporciona sinais inibitórios; o seu papel no desligamento das respostas de células T está descrito no [Capítulo 9](#). APC, célula apresentadora de antígeno; ICAM-1, molécula de adesão intercelular 1; LFA-1, antígeno 1 associado à função leucocitária; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; TCR, receptor de células T.

As proteínas  $\gamma$  CD3,  $\delta$  e  $\epsilon$  são homólogas entre si. As regiões N-terminais extracelulares de  $\gamma$ ,  $\delta$ , e cadeias de  $\epsilon$  CD3 cada uma contém um único domínio tipo Ig, e, por esta razão, estas três proteínas são membros da superfamília das Ig. Os segmentos transmembranares de todas as três cadeias CD3 contém um resíduo de ácido aspártico negativamente carregado que se liga a resíduos carregados positivamente nos domínios transmembranares das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR. Cada complexo TCR contém um TCR  $\alpha\beta$  heterodímero associado a um heterodímero  $\gamma\epsilon$  CD3, um heterodímero CD3  $\delta\epsilon$ , e um homodímero  $\zeta$  ligado por pontes dissulfeto.

Os domínios citoplásmicos das proteínas  $\gamma$  CD3,  $\delta$  e  $\epsilon$  variam de 44-81 resíduos de aminoácidos de comprimento e cada um destes domínios contém um ITAM. A cadeia  $\zeta$  tem uma pequena região extracelular de nove aminoácidos, uma região transmembranar contendo um resíduo de ácido aspártico carregado negativamente (semelhante às cadeias CD3), e uma longa região citoplasmática (113 aminoácidos) que contém três ITAMs. Ele é expresso normalmente como um homodímero. A cadeia  $\zeta$  também está associada à sinalização de receptores em outros linfócitos que não as células T, tais como o receptor de Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ RIII) de células NK.

## Iniciação dos Sinais pelo Receptor de Células T

***A ligação do TCR aos complexos MHC-peptídeo resulta no agrupamento dos correceptores com o receptor de antígeno e a fosforilação de resíduos de tirosina de ITAM.*** A fosforilação de tirosinas ITAM inicia a transdução de sinal e a

ativação de tirosinoquinasas subsequentes, que por sua vez fosforila resíduos de tirosina em outras proteínas adaptadoras. Os passos subsequentes na transdução de sinal são gerados pelo recrutamento específico de enzimas-chave que iniciam diferentes vias de sinalização cada uma.

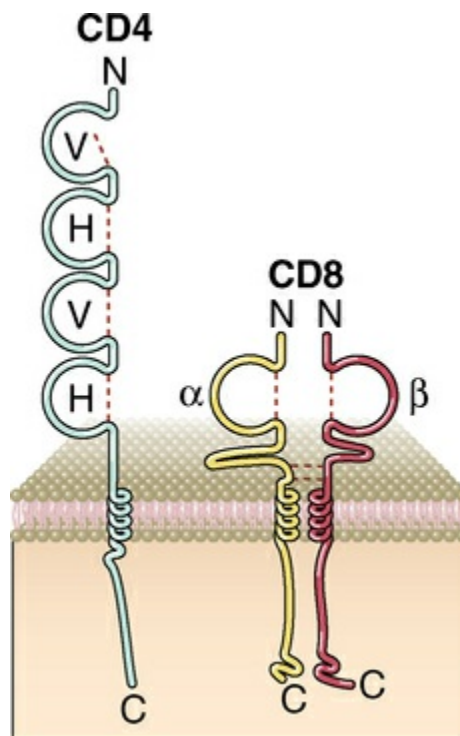
Pensa-se que o TCR, tal como outros receptores imunológicos, é ativado quando várias moléculas receptoras são trazidas juntas por ligação a epítomos antigênicos adjacentes. No entanto, a ligação cruzada do TCR é um desafio, porque a indução do agrupamento do receptor exigiria uma densidade elevada de complexos de MHC-peptídeo idênticos em APCs, e APCs geralmente expressam muito poucas moléculas de MHC contendo o mesmo peptídeo, talvez de apenas 100 por célula, que podem ser reconhecidos por um determinado TCR ([Capítulo 6](#)). Como, então, é a sinalização iniciada pelo TCR? O reconhecimento de complexos MHC-peptídeo podem induzir uma alteração conformacional no TCR, fazendo com que os ITAMs associados aos CD3 ou cadeias  $\zeta$  ligadas disponíveis para a fosforilação da tirosina por quinases da família Src. Os correceptores de CD4 e CD8 (descritos a seguir) facilitam muito o processo de ativação, trazendo Lck (que é vagamente associado à cauda de proteínas correceptoras) perto do CD3 e  $\zeta$  ITAMs. O mecanismo real de iniciação da sinalização continua a ser determinado de maneira conclusiva. Eventualmente, uma interface estável é formada entre a célula T e a APC, conhecida como a sinapse imunológica (discutida mais adiante).

## O papel dos Correceptores CD4 e CD8 na Ativação das Células T

***CD4 e CD8 são os correceptores de células T que se ligam às regiões não polimórficas das moléculas de MHC e facilitam a sinalização pelo complexo TCR durante a ativação das células T (Fig. 7-9).*** Estas proteínas são chamadas de *correceptores* porque se ligam a moléculas de MHC e, portanto, reconhecem uma parte do mesmo ligante (complexos de peptídeo-MHC) que interagem com o TCR. As células T  $\alpha\beta$  maduras expressam tanto CD4 ou CD8, mas não ambos. CD8 e CD4 interagem com as moléculas do MHC de classe I e classe II, respectivamente, e são responsáveis pela classe I ou de classe II do MHC de restrição destes subconjuntos de células T ([Fig. 7-9](#) e [Capítulo 6](#)).

O CD4 e o CD8 são glicoproteínas transmembranares membros da superfamília das Ig ([Fig. 7-10](#)). CD4 é expresso como um monómero na superfície das células T periféricas e tímócitos e também está presente em níveis mais baixos em fagócitos mononucleares e algumas células dendríticas. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) utiliza um receptor de CD4 para ganhar a entrada nos linfócitos T e em outras células do sistema imunológico que expressam a molécula. O CD4 possui quatro domínios extracelulares tipo Ig, uma região hidrofóbica transmembranar e uma cauda citoplasmática altamente básica com 38 aminoácidos de comprimento. Os dois

domínios N-terminais tipo das Ig da proteína CD4 ligam-se aos domínios  $\alpha 2$  e  $\beta 2$  não polimórficos do MHC de classe II.



**FIGURA 7-10** Visão esquemática da estrutura dos correceptores CD4 e CD8.

A proteína CD4 é um monômero integral da membrana que consiste em quatro domínios de Ig extracelulares, um domínio transmembranar e uma cauda citoplasmática. A proteína CD8 é um heterodímero integral da membrana ligada por dissulfeto  $\alpha\beta$  ou um homodímero ligado por dissulfeto  $\alpha\alpha$  (não mostrada). Cada cadeia tem um único domínio de Ig extracelular. As porções citoplasmáticas de CD4 e CD8 podem associar-se com Lck (não mostrado).

A maioria das moléculas de CD8 existe como heterodímeros com ligações dissulfeto compostas de duas cadeias relacionadas chamado CD8 $\alpha$  e CD8 $\beta$  (Fig. 7-10). Tanto a cadeia  $\alpha$  quanto a cadeia  $\beta$  possuem um único domínio extracelular de Ig, uma região transmembranar hidrofóbica e uma cauda citoplasmática altamente básica de cerca de 25 aminoácidos de comprimento. O domínio Ig de CD8 liga-se sobretudo ao domínio  $\alpha 3$  não polimórfico de moléculas do MHC de classe I e também interage com porções do domínio  $\alpha 2$  e com  $\beta 2$  microglobulina. Algumas células T ativadas e de memória expressam homodímeros CD8  $\alpha\alpha$ , e esta forma diferente pode ter uma atividade inibidora em vez de ativar funções, presumivelmente porque ele é excluído dos microdomínios de sinalização chamados rafts lipídicos. Estes

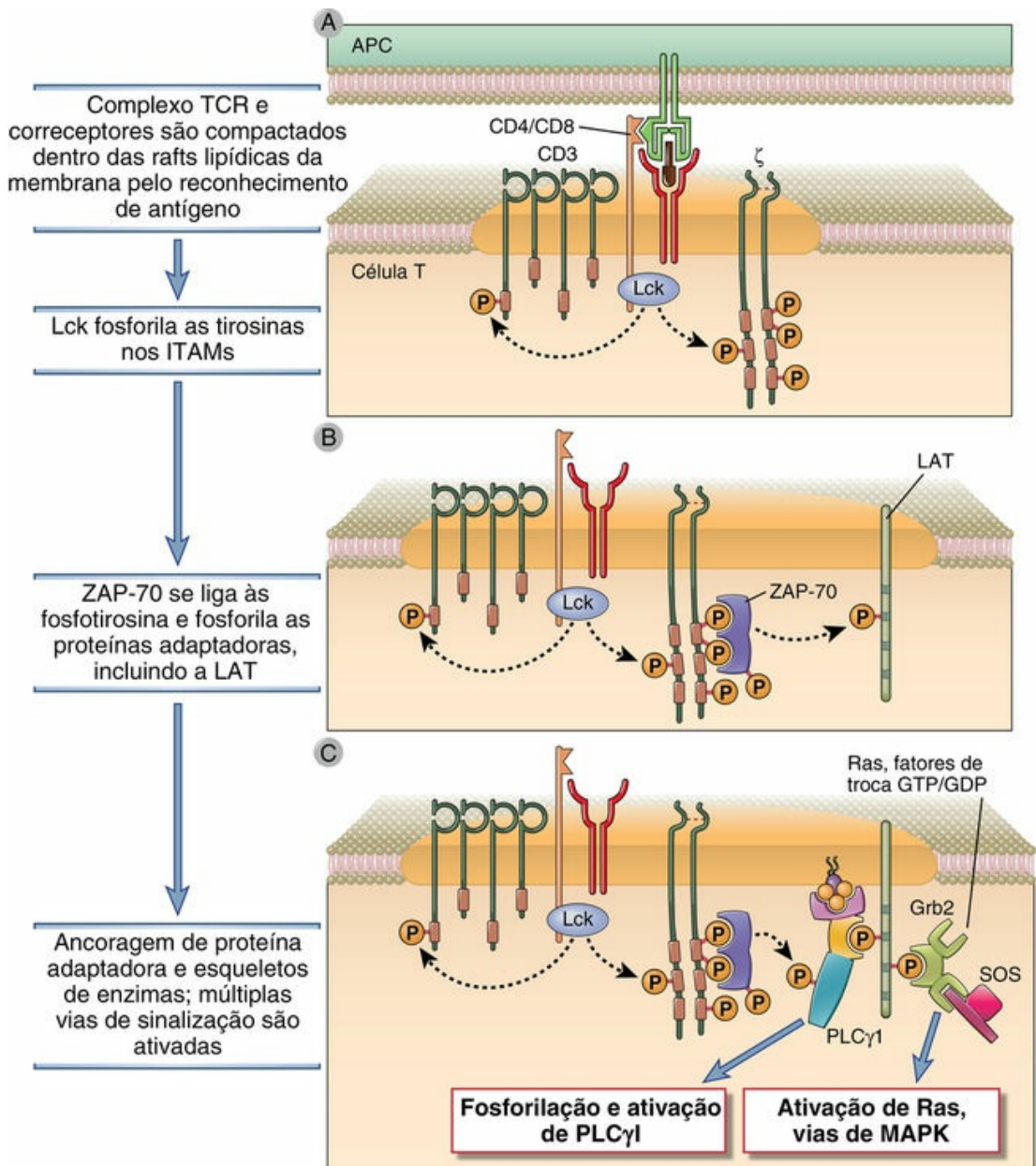
homodímeros também estão presentes em um subconjunto de células dendríticas murinas (Capítulo 6).

**As caudas citoplasmáticas de ambas as células CD4 e CD8 se ligam à quinase Lck da família Src.** A capacidade de os domínios extracelulares destes correceptores ligarem-se às moléculas de MHC auxilia essas proteínas a serem desenhadas próximas ao TCR que tem contato com o mesmo complexo MHC-peptídeo na APC. Como resultado, na face citossólica da membrana, Lck é apresentado em estreita proximidade com os ITAMs em CD3 e em proteínas  $\zeta$  e fosforila os resíduos de tirosina nesses ITAMs, facilitando assim o subsequente recrutamento e ativação da tirosinoquinase ZAP-70.

## A Ativação de Tirosinoquinases e Lipídio Quinases Durante a Ativação das Células T

**A fosforilação de proteínas e lipídios tem um papel central na transdução de sinais a partir do complexo de TCR e correceptores.** Mesmo antes da ativação TCR há alguma fosforilação basal da tirosina de ITAM e algum recrutamento de ZAP-70, descrita a seguir, para estas ITAMs fosforiladas. Em poucos segundos após a ligação do TCR, o Lck é trazido para perto dos resíduos de tirosina no interior das ITAMs do CD3 e cadeias  $\zeta$ , que são, portanto, mais extensivamente fosforiladas (Fig. 7-11). Além da Lck associada ao correceptor, a outra quinase da família Src encontrada em associação física ao complexo de TCR é Fyn associada ao CD3, que pode contribuir para a fosforilação basal da tirosina de ITAM. Camundongos *knockout* deficientes em Lck apresentam alguns defeitos na sinalização de TCR e no desenvolvimento de células T e camundongos duplamente *knockout*, deficientes tanto em Lck quanto em Fyn têm defeitos ainda mais graves.





**FIGURA 7-11** Eventos iniciais da fosforilação da tirosina durante a ativação de células T.

Com o reconhecimento do antígeno, há agrupamento de complexos de TCR com os correceptores (CD4, neste caso). A Lck associada ao CD4 torna-se ativa e fosforila as tirosinas nos ITAMs de CD3 e cadeias ζ (A). A ZAP-70 liga-se às cadeias de fosfotirosinas ζ e ela própria é fosforilada e ativada. (A ilustração mostra a ligação de uma molécula ZAP-70 a duas fosfotirosinas de um ITAM na cadeia ζ, mas é provável que a iniciação de uma resposta das células T necessite da montagem de múltiplas moléculas ZAP-70 em cada cadeia ζ.)

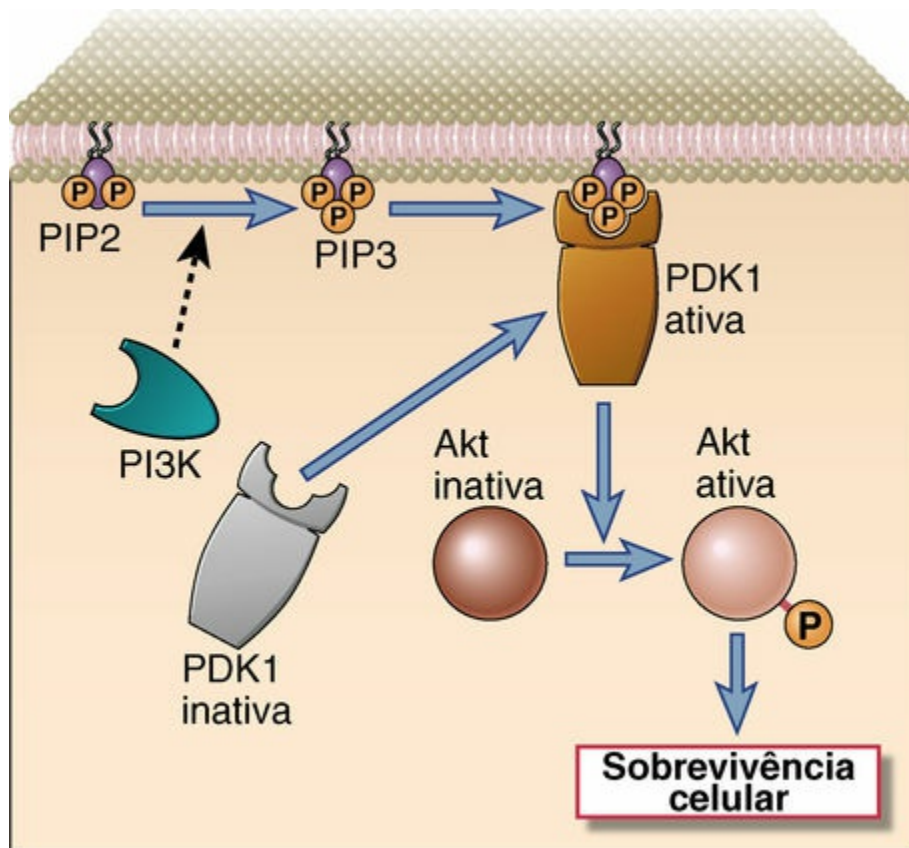
A ZAP-70 ativa em seguida fosforila tirosina em várias moléculas adaptadoras, tais como LAT (B). Os adaptadores



tornam-se locais de ancoragem para as enzimas celulares, tais como PLC $\gamma$ 1 e fatores de taxas que ativam Ras e outras proteínas G pequenas subsequentes às MAP quinases (C), e essas enzimas ativam diversas respostas celulares.

Os ITAMs com tirosinas fosforiladas na cadeia  $\zeta$  são locais de ligação para a tirosinoquinase da família Syk chamada **ZAP-70** (proteína associada a  $\zeta$  de 70 kD). ZAP-70 contém dois domínios SH2 que podem se ligar às fosfotirosinas das ITAM. Conforme discutido anteriormente, cada ITAM tem dois resíduos de tirosina, e ambos devem ser fosforilados para proporcionar um local de ancoragem para uma molécula de ZAP-70. A ZAP-70 acoplada torna-se um substrato para a Lck adjacente após o reconhecimento do antígeno por TCR, e Lck fosforila resíduos específicos de tirosina de ZAP-70. Como resultado, a ZAP-70 adquire a sua atividade de tirosinoquinase e, em seguida, é capaz de fosforilar um número de outras moléculas de sinalização citoplasmática. Um limiar crítico de atividade de ZAP-70 pode ser necessário antes que ocorram eventos de sinalização subsequentes, e este limite é alcançado pelo recrutamento de múltiplas moléculas de ZAP-70 para os ITAMs fosforilados nas cadeias  $\zeta$  e nas caudas do CD3.

Outra via de sinalização nas células T envolve a ativação da **PI3-quinase**, que fosforila o lipídio inositol específico associado à membrana (Fig. 7-12). Esta enzima é recrutada para o complexo TCR e associada a proteínas adaptadoras e gera fosfatidilinositol trifosfato (PIP3) a partir do fosfatidilinositol bifosfato (PIP2), que está localizado na camada interna da membrana plasmática. Certas proteínas de sinalização no citosol possuem domínios PH especializados que têm uma afinidade para PIP3, e, como resultado, proteínas contendo o domínio PH podem ligar-se no interior da membrana celular apenas quando PIP3 é gerado. Exemplos de domínios PH contendo proteínas incluem proteínas tirosinoquinases, tais como Itk em células T e Btk em células B. Outra quinase importante dependente de PIP3 é a PDK1, necessária para a fosforilação e ativação de uma importante quinase subsequente chamada Akt. A Akt ativada fosforila alvos cruciais e contribui para a sobrevivência da célula de diversas maneiras, incluindo a inativação de membros pró-apoptóticos da família Bcl-2.



**FIGURA 7-12** Função da PI3-quinase em respostas de células T.

O PIP3 da membrana, gerado por PI3-quinase (PI3K), ativa a PDK1, que fosforila e ativa a quinase Akt, que por sua vez fosforila alvos subsequentes que estão envolvidos na sobrevivência celular.

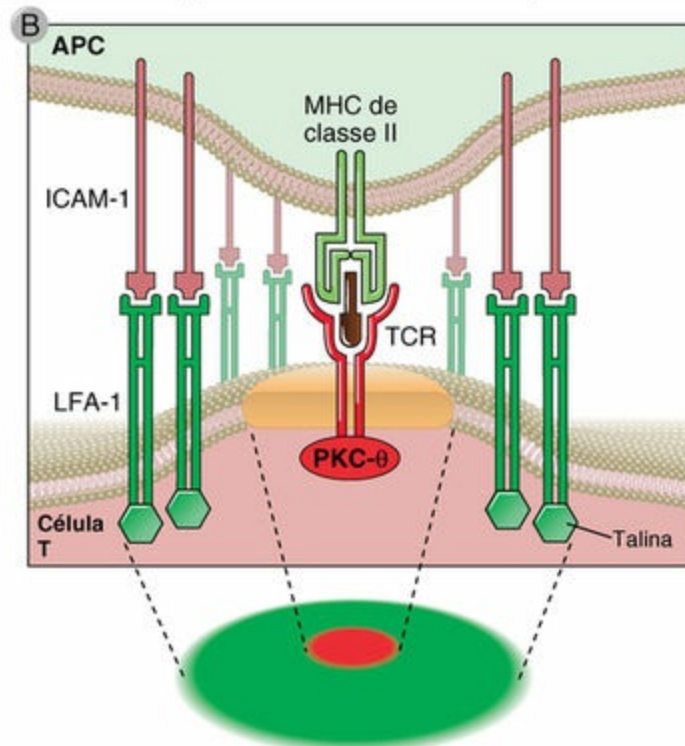
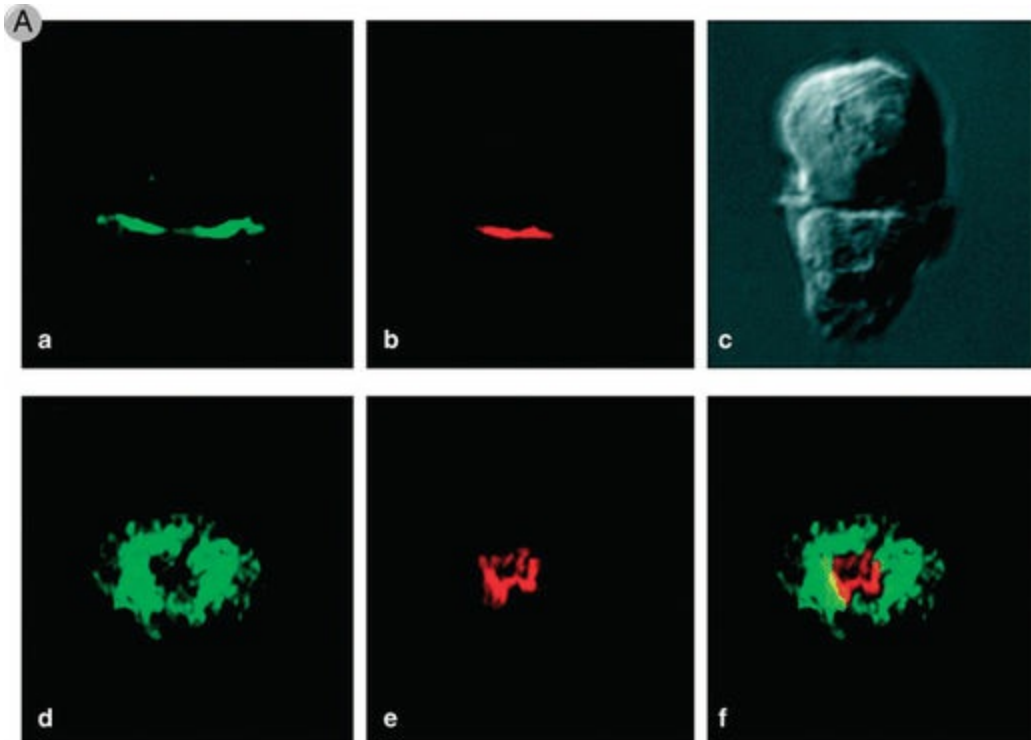
## Recrutamento e Modificação de Proteínas Adaptadoras

**A ZAP-70 Ativada fosforila várias proteínas adaptadoras que são capazes de se ligar a moléculas de sinalização** (Fig. 7-11). Um evento inicial essencial na ativação de células T é a fosforilação dos resíduos de tirosina de proteínas adaptadoras mediada pela ZAP-70, tais como SLP-76 e LAT. A LAT fosforilada liga-se diretamente a PLC $\gamma$ 1, uma enzima-chave na ativação de células T (discutido mais adiante) e coordena o recrutamento de várias outras proteínas adaptadoras, incluindo SLP-76, GADS, e GRB-2, para o conjunto de TCR e proteínas associadas ao TCR, por vezes chamado de sinalossomo. Assim, a LAT serve para trazer uma variedade de componentes subsequentes das vias de sinalização do TCR, para perto de seus ativadores. Como a função de muitos desses adaptadores depende da fosforilação da tirosina pela ZAP-70 ativada, apenas o reconhecimento do antígeno (o estímulo fisiológico para ativação da ZAP-70) aciona as vias de transdução de sinal que levam

às respostas funcionais de células T.

## Formação da Sinapse Imunológica

**Quando o complexo de TCR reconhece peptídeos associados ao MHC em uma APC, várias proteínas da superfície das células T e moléculas sinalizadoras intracelulares são rapidamente mobilizados para o local de contato entre as células T e as APC (Fig. 7-13).** Esta região de contato físico entre a célula T e a APC forma uma estrutura semelhante a um olho de boi, que é chamada de **sinapse imunológica** ou grupo de ativação supramolecular (SMAC). As moléculas da célula T que são rapidamente mobilizadas para o centro da sinapse incluem o complexo de TCR (TCR, CD3, e cadeias  $\zeta$ ), correceptores de CD4 ou CD8, os receptores de coestimuladores (tal como CD28), enzimas, tais como a PKC- $\theta$ , e proteínas adaptadoras que se associam às caudas citoplasmáticas dos receptores transmembranares. Nesta região da sinapse, chamada de c-SMAC (para o grupo de ativação supramolecular central), a distância entre a membrana plasmática da célula T e a APC é cerca de 15 nm. As integrinas permanecem na periferia da sinapse, onde funcionarão para estabilizar a ligação de células T para a APC, formando a porção periférica da SMAC chamada de p-SMAC. Nesta parte exterior da sinapse, as duas membranas estão a cerca de 40 nm de distância. Muitas moléculas de sinalização encontradas nas sinapses estão inicialmente localizadas em regiões da membrana plasmática que tem um teor de lipídios diferente a partir do resto da membrana celular e são chamadas de rafts lipídicas ou microdomínios ricos em glicolipídios. O TCR e a sinalização de receptores coestimuladores têm início nestas rafts, e a sinalização inicia os rearranjos do citoesqueleto que permitem que os rafts aglutinem e formem a sinapse imunológica.



**FIGURA 7-13** Sinapse imunológica.

A, Esta figura mostra duas visões da sinapse imunológica em um complexo de células T-APC (mostrado como uma imagem de Nomarski no painel c). Talina, uma proteína que se associa à cauda citoplasmática da integrina LFA-1, foi revelada por um anticorpo marcado com um marcador fluorescente verde, e PKC- $\theta$ , que se associa ao complexo de

TCR, foi visualizado por anticorpos conjugados com um marcador fluorescente vermelho. Em painéis a e b, um corte óptico bidimensional do local de contato das células ao longo do eixo xy é mostrado, revelando a localização central da PKC- $\theta$  e a posição periférica da talina, ambas na célula T. Os painéis d a f fornecem uma visualização tridimensional de toda a região de contato célula-célula ao longo do eixo x-z.

Note-se, novamente a localização central da PKC- $\theta$  e a acumulação da talina periférica. **B**, uma visão esquemática da sinapse, mostrando a talina e LFA-1 na p-SMAC (verde) e PKC- $\theta$  e TCR no c-SMAC (vermelho). (**A**, Reproduzido com permissão de Macmillan Publishers Ltd. de Monks CRF, Freiburg BA, Kupfer H, Sciaky N, Kupfer A: Three dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells, Nature 395:82–86. Copyright © 1998.)

As sinapses imunológicas podem desempenhar algumas funções durante e após a ativação das células T.

- A sinapse forma um contato estável entre as células T específicas a um antígeno e uma APC exibindo aquele antígeno e torna-se o local para a montagem da maquinaria de sinalização da célula T, incluindo o complexo de TCR, correceptores, receptores de coestimulação e adaptadores. Embora a transdução de sinal via TCR seja claramente iniciada antes da formação da sinapse e seja necessária para a formação da sinapse, a própria sinapse imunológica pode fornecer uma interface única para a ativação do TCR. A ativação de células T precisa superar os problemas de uma afinidade geralmente baixa entre os TCR e os ligantes peptídeo-MHC e a presença de poucas moléculas de MHC que apresentam qualquer um peptídeo em uma APC. A sinapse representa um local no qual o acoplamento repetido dos TCRs pode ser sustentado por essa pequena quantidade de complexos peptídeo-MHC sobre a APC, assim facilitando a sinalização de células T prolongada e eficaz.
- A sinapse pode garantir a entrega específica de grânulos secretores contendo citocinas de uma célula T para as APCs ou alvos que estão em contato com a célula T. A entrega vetorial de grânulos secretórios contendo perforina e granzimas de CTLs às células-alvo tem sido demonstrada na ocorrência da sinapse ([Capítulo 11](#)). Da mesma forma, as interações de CD40L-CD40 são facilitadas pela acumulação destas moléculas nas interfaces da sinapse imunológica da célula T e das APC. Algumas citocinas também são secretadas de um modo direcionado para a fenda sináptica, a partir de onde são preferencialmente entregues à célula que está apresentando o antígeno para o linfócito T.
- A sinapse pode ser também um local importante para o *turnover* das moléculas de

sinalização, principalmente pela monoubiquitinação e entrega para endossomos e lisossomos tardios. Esta degradação de proteínas de sinalização pode contribuir para o término da ativação de células T e é discutida mais adiante.

## Vias de Sinalização de MAP Quinase em Linfócitos T

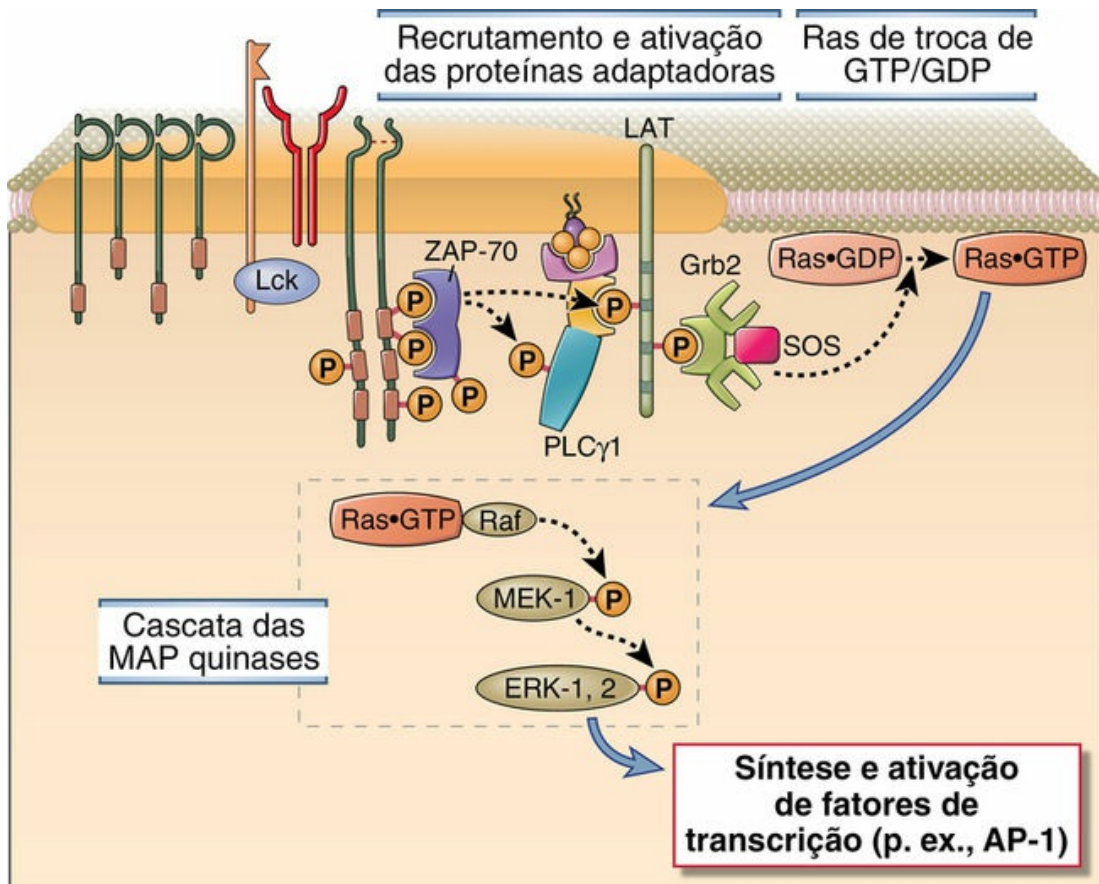
**As pequenas proteínas de ligação ao nucleotídeo guanina (proteínas G) ativadas pelo reconhecimento antígeno estimulam pelo menos três proteínas ativadas por mitógenos (MAP) quinases diferentes, que por sua vez ativam fatores de transcrição distintos.** As proteínas G estão envolvidas em diversas respostas de ativação em diferentes tipos de células. Dois importantes membros desta família ativados após o TCR são Ras e Rac. Cada um ativa um componente diferente ou um conjunto de fatores de transcrição, e juntos eles medeiam muitas respostas celulares de células T.

- A via de **Ras** é acionada em células T após a ligação do TCR, levando à ativação da quinase ativada por receptor extracelular (ERK), um membro importante da família MAP quinase, e, eventualmente, para a ativação de fatores de transcrição subsequentes Ras é fracamente ligada à membrana plasmática através de lipídios acoplados covalentemente. Na sua forma inativa, o local de ligação do nucleotídeo guanina de Ras é ocupado por difosfato de guanosina (GDP). Quando o GDP ligado é substituído pelo trifosfato de guanosina (GTP), Ras sofre uma mudança conformacional e pode, então, recrutar ou ativar várias enzimas celulares, das quais a mais importante é c-Raf. A ativação de Ras pela troca de GDP por GTP é vista em resposta ao acoplamento de muitos tipos de receptores em várias populações de células, incluindo o complexo de TCR em células T. As proteínas Ras mutadas que são constitutivamente ativas (ou seja, assumem constantemente a conformação ligada a GTP) estão associadas à transformação neoplásica de muitos tipos de células. As proteínas Ras não mutantes são GTPases ativas que convertem o GTP ligado a Ras em GDP, assim a Ras retorna ao seu estado normal, inativo.

O mecanismo de ativação da Ras nas células T envolve as proteínas adaptadoras LAT e Grb-2 (Fig. 7-14). Quando LAT é fosforilada por ZAP-70 no local do grupo de TCR, ela serve como local de acoplamento para o domínio SH2 de Grb-2. Uma vez ligado ao LAT, GRB-2 recruta os fatores de troca de GDP para GTP na Ras, chamado de SOS (assim denominado porque que é o homólogo dos mamíferos de uma proteína de *Drosophila* chamada “son of Sevenless”) para a membrana plasmática. O SOS catalisa a troca de GTP para GDP em Ras. Isso gera a forma ligada a GTP de Ras (escrito como Ras·GTP), que em seguida, ativa uma cascata MAP quinase de três quinases. A Ras·GTP ativa diretamente a uma quinase chamada Raf, a primeira quinase nesta cascata. Raf fosforila e depois ativa uma quinase de dupla especificidade chamada de MEK-1, que por sua vez, fosforila a



terceira quinase na cascata, chamada de ERK, em resíduos treonina e tirosina situadas próximas uma da outra. A ERK é uma MAP quinase e MEK-1 é chamada de MAP quinase-quinase (uma quinase que ativa uma MAP quinase). A ERK ativada transloca-se para o núcleo e fosforila uma proteína chamada Elk, e a Elk fosforilada estimula a transcrição de c-Fos, um componente do fator de transcrição da proteína 1 de ativação (AP-1).



**FIGURA 7-14** Via Ras-MAP quinase na ativação de células T.

A ZAP-70, que é ativada pelo reconhecimento de antígeno, fosforila as proteínas adaptadoras associadas a membrana (tal como LAT), que se ligam em seguida a outro adaptador, Grb-2, o qual proporciona um local de acoplamento para o elemento de troca de GTP/GDP SOS. O SOS converte a Ras·GDP para Ras·GTP. O Ras·GTP ativa uma cascata de enzimas, que culmina com a ativação da MAP quinase ERK. Uma via dependente de Rac em paralelo gera outra MAP quinase ativa, a JNK (não mostrado).

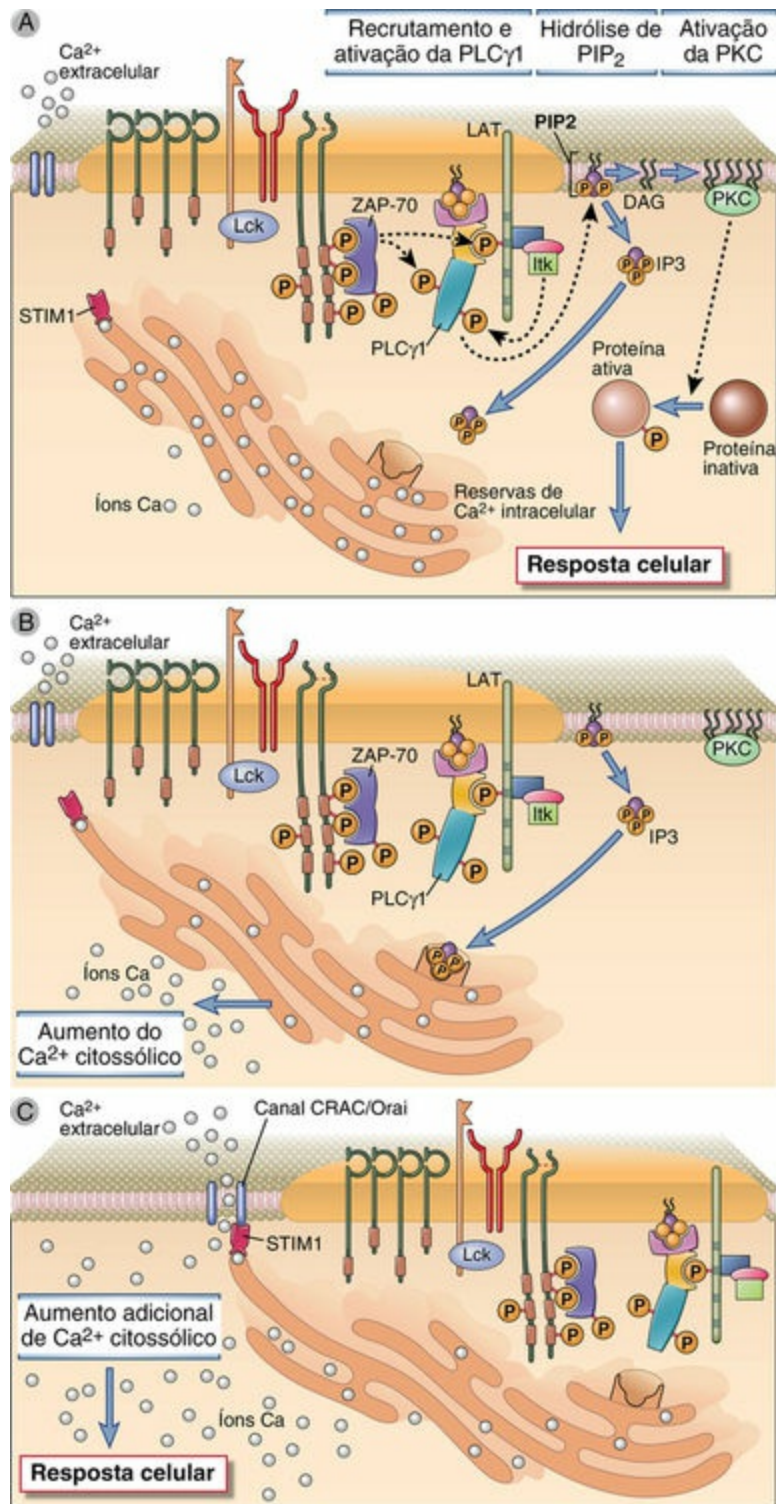
- Em paralelo com a ativação de Ras através de recrutamento de GRB-2 e SOS, os

adaptadores fosforilados pelas quinases associadas a TCR também recrutam e ativam uma proteína que troca GTP/GDP chamada de **Vav** que atua em outra proteína de ligação pequena do nucleotídeo guanina chamada **Rac** (Fig. 7-14). O Rac·GTP que é gerado inicia uma cascata da MAP quinase paralela, resultando na ativação de uma MAP quinase distinta chamada quinase N-terminal c-Jun (JNK). A JNK é às vezes chamada de proteína quinase ativada por estresse (SAP), porque em muitas células é ativada por várias formas de estímulos nocivos. JNK ativado então fosforila c-Jun, a segunda componente fator de transcrição da proteína 1. Um terceiro membro da família MAP quinase, para além de ERK e JNK, é o p38, que também é ativado por Rac·GTP e por sua vez ativa a transcrição vários fatores. A Rac·GTP também induz a reorganização do citoesqueleto e pode desempenhar um papel no agrupamento dos complexos TCR de correceptores e outras moléculas de sinalização na sinapse.

As atividades da ERK e JNK, eventualmente, são desligadas pela ação de dupla especificidade das fosfatases proteicas tirosina/treonina. Essas fosfatases são induzidas ou ativadas pelas próprias ERK e JNK, proporcionando um mecanismo de feedback negativo para finalizar a ativação das células T.

## Vias de Sinalização Mediadas por Cálcio e de PKC em Linfócitos T

***A sinalização TCR leva à ativação da isoforma de  $\gamma 1$  da enzima fosfolipase C (PLC $\gamma 1$ ), e os produtos da hidrólise dos lipídios da membrana mediada PLC $\gamma 1$  ativam enzimas que induzem fatores de transcrição específicos em células T (Fig. 7-15).*** A PLC $\gamma 1$ , uma enzima citossólica específica para fosfolipídios de inositol, é recrutada para a membrana plasmática por tirosinas fosforiladas do LAT em poucos minutos de ligação do ligante com o TCR. Aqui, a enzima é fosforilada por ZAP-70 e por outras quinases, tais como a quinase da família Tec chamada de Itk. A PLC $\gamma 1$  fosforilada catalisa a hidrólise do fosfolipídio da membrana plasmática fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>), gerando dois produtos de degradação, o açúcar solúvel trifosfato de inositol 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>), e o diacilglicerol ligado à membrana (DAG). O IP<sub>3</sub> e o DAG em seguida, vão ativar duas distintas vias de sinalização subsequentes em células T.



**FIGURA 7-15** Sinalização de células T subsequentes à PLC $\gamma$ 1.

A, A proteína adaptadora LAT que é fosforilada na ativação da célula T se liga à enzima PLC $\gamma$ 1 citossólica, que é fosforilada e ativada pela ZAP-70 e outras quinases, tais como o Itk. A PLC $\gamma$ 1 ativa hidrolisa o PIP<sub>2</sub> da membrana para gerar IP<sub>3</sub>, que estimula um aumento do cálcio citossólico, e do DAG,

que ativa a enzima PKC. B, IP3 causa depleção de cálcio do retículo endoplasmático, que é detectada por STIM1. A PKC induz numerosas respostas celulares. C, STIM1 induz a abertura do canal CRAC que facilita a entrada de cálcio extracelular para o citosol. Orai é um componente do canal CRAC. O aumento do cálcio citossólico em conjunto com a PKC ativa diversos fatores de transcrição, que conduzem a respostas celulares.

***O IP3 produz um rápido aumento de cálcio citossólico livre dentro de minutos após a ativação das células T.*** O IP3 difunde-se através do citosol para o retículo endoplasmático, onde se liga ao seu receptor, um canal de cálcio dependente de ligante e estimula a liberação das reservas de cálcio sequestrado pela membrana. O cálcio liberado provoca um rápido aumento (durante alguns minutos) da concentração do íon de cálcio livre citossólico, a partir de um nível de repouso de cerca de 100 nM a um pico entre 600 e 1000 nM. O esgotamento de cálcio do retículo endoplasmático é detectado por uma proteína de membrana do retículo endoplasmático chamada STIM1, que ativa um canal iônico da membrana plasmática denominado CRAC (canal de cálcio ativado pela liberação de cálcio). O resultado é um influxo de cálcio extracelular, que sustenta os níveis citossólicos de cerca de 300 a 400 nM por mais de 1 hora. O componente-chave do canal CRAC é uma proteína chamada Orai; mutações no gene que codifica esta proteína são a causa de uma doença humana rara de imunodeficiência. O cálcio livre no citosol atua como uma molécula de sinalização pela ligação de uma proteína reguladora ubíqua dependente de cálcio chamada de calmodulina. Os complexos cálcio-calmodulina ativam várias enzimas, incluindo uma proteína fosfatase serina/reonina chamada de calcineurina que é importante para a ativação do fator de transcrição, como será discutido mais adiante.

***O diacilglicerol (DAG), o segundo produto de decomposição de PIP2, é um lipídio ligado à membrana que ativa a enzima proteína quinase C (PKC).*** Existem várias isoformas da PKC que participam da geração de fatores de transcrição ativos, discutido mais adiante. A combinação de altos níveis de cálcio citossólico livre e de DAG ativa certas isoformas de PKC associadas à membrana, através da indução de uma mudança conformacional que faz com que o local catalítico da quinase seja acessível para os seus substratos. Várias proteínas subsequentes são fosforiladas pela PKC. A isoforma da PKC- $\theta$  se localiza na sinapse imunológica e está envolvida na ativação e translocação para o núcleo do fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). As vias de ativação do NF- $\kappa$ B são discutidas mais adiante neste capítulo.

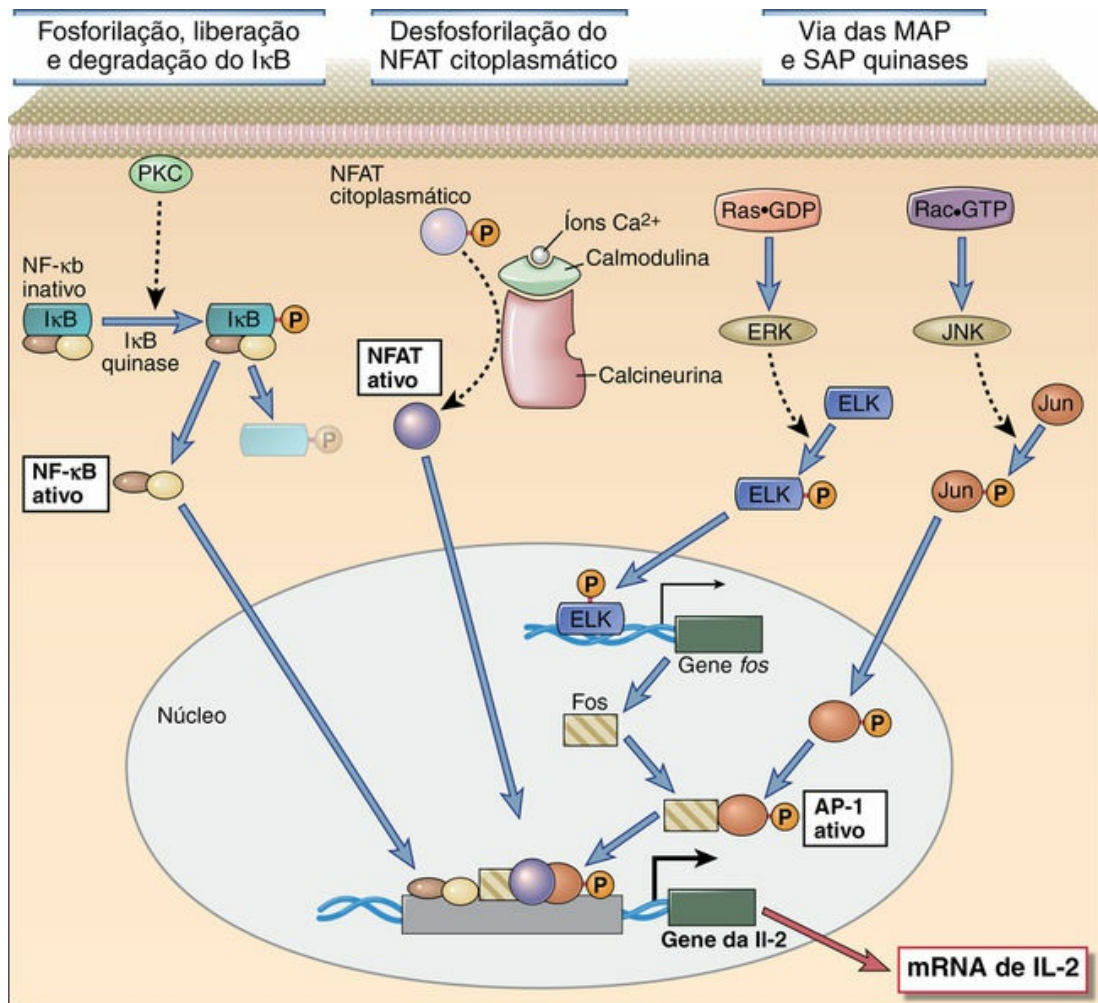
Até agora, descrevemos as várias vias iniciadas pela ligação do ligante ao TCR que resulta na ativação de tipos diferentes de enzimas: as vias das MAP quinases – pequenas proteínas G que conduzem à ativação de quinases tais como ERK e JNK;

uma via PLC $\gamma$ 1 dependente de cálcio levando à ativação da fosfatase calcineurina; e uma via dependente de DAG levando à ativação da PKC. Cada uma destas vias contribui para a expressão de genes que codificam as proteínas necessárias para a expansão clonal de células T, a diferenciação e funções efetoras. Na seção seguinte, descreveremos os mecanismos pelos quais estas diferentes vias de sinalização de estimulam a transcrição de vários genes em células T.

## Ativação de Fatores de Transcrição que Regulam a Expressão dos Genes das Células T

***As enzimas geradas pela sinalização TCR ativam fatores de transcrição que se ligam às regiões reguladoras de numerosos genes em células T e, assim, aumentam a transcrição desses genes (Fig. 7-16).*** Grande parte do nosso entendimento da regulação da transcrição de genes em células T baseia-se nas análises de expressão de genes de citocinas. A regulação transcricional da maioria dos genes de citocinas em células T é controlada pela ligação de fatores de transcrição a sequências nucleotídicas nas regiões promotoras e potenciadoras desses genes. Por exemplo, o promotor localizado a 5' dos éxons codificadores do gene de *IL-2* contém um segmento de aproximadamente 300 pares de bases no qual estão localizados locais de ligação para vários fatores de transcrição diferentes. Todos estes sítios devem ser ocupados por fatores de transcrição para a transcrição máxima do gene de *IL-2*. Diferentes fatores de transcrição são ativados por diferentes vias citoplasmáticas de transdução de sinal e a exigência para múltiplos fatores de transcrição são responsáveis pela necessidade de ativar muitas vias de sinalização após o reconhecimento do antígeno. Os mesmos princípios são verdadeiros para a expressão induzida de vários genes em células T, incluindo os que codificam receptores de citocinas e moléculas efetoras, embora diferentes genes possam ser responsivos a diferentes combinações de fatores de transcrição.





**FIGURA 7-16** Ativação de fatores de transcrição das células T.

Várias vias de sinalização convergem nas células T estimuladas com antígeno para gerar fatores de transcrição que estimulam a expressão de vários genes (neste caso, o gene de IL-2). A via de cálcio-calmodulina ativa o NFAT e as vias Ras e Rac produzem os dois componentes de AP-1. Pouco é conhecido sobre a relação entre os sinais de TCR e a ativação de NF-κB. (O NF-κB é mostrado como um complexo de duas subunidades, que nas células T são tipicamente as proteínas p50 e p65, nomeadas pelos seus tamanhos moleculares em quilodáltons.) A PKC é importante na ativação de células T e a isoforma da PKC-θ é particularmente importante na ativação do NF-κB. Estes fatores de transcrição funcionam coordenadamente para regular a expressão do gene. Note também que as várias vias de sinalização são mostradas como ativadoras dos fatores de transcrição originais, mas pode haver uma sobreposição considerável e cada uma das vias pode



desempenhar um papel na ativação de vários fatores de transcrição.

Três fatores de transcrição que são ativados nas células T por reconhecimento de antígeno e parecem ser cruciais para a maioria das respostas de células T são o fator nuclear das células T ativadas (NFAT), o AP-1 e o NF- $\kappa$ B.

- O **NFAT** é um fator de transcrição necessário para a expressão dos genes que codificam IL-2, IL-4, TNF e outras citocinas. O NFAT está presente em uma forma inativa, serina fosforilada no citoplasma de linfócitos T em repouso. Ele é ativado pela fosfatase dependente de cálcio calmodulina, a **calcineurina**. A calcineurina desfosforila o NFAT citoplasmático, revelando deste modo um sinal de localização nuclear que permite a translocação do NFAT para o núcleo. Uma vez no núcleo, o NFAT se liga às regiões reguladoras dos genes de *IL-2*, *IL-4*, e outros genes de citocinas, geralmente em associação a outros fatores de transcrição, tais como AP-1.

O mecanismo de ativação do NFAT foi descoberto indiretamente através de estudos do mecanismo de ação do fármaco imunossupressor ciclosporina ([Capítulo 17](#)). Este fármaco e o composto funcionalmente similar, FK506, são produtos naturais de fungos e são agentes terapêuticos amplamente utilizados para o tratamento de rejeição a aloenxertos. Eles funcionam principalmente através do bloqueio da transcrição de genes de citocinas nas células T. A ciclosporina se liga a uma proteína citossólica chamada ciclofilina, e FK506 se liga a uma chamada proteína de ligação FK506 (FKBP). A ciclofilina e o FKBP também são chamados imunofilinas. Os complexos de ciclosporina-ciclofilina e FK506-FKBP se ligam e inibem a calcineurina e assim bloqueiam a translocação de NFAT para o núcleo.

- O **AP-1** é um fator de transcrição celular encontrado em muitos tipos celulares; é especificamente ativado em linfócitos T pelos sinais mediados por TCR. AP-1 é na verdade o nome para uma família de fatores de ligação a DNA composto por dímeros de duas proteínas que se ligam umas às outras através de um componente estrutural comum chamado de zíper de leucina. O fator de AP-1 melhor caracterizado é composto pelas proteínas Fos e Jun. Sinais induzidos por TCR levam ao aparecimento de AP-1 ativo no núcleo das células T. Como discutido anteriormente, a formação de AP-1 ativo tipicamente envolve a síntese das proteínas Fos e a fosforilação da proteína preexistente Jun, ambas estimuladas por MAP quinases. O AP-1 parece estar associado fisicamente a outros fatores de transcrição no núcleo e funciona melhor em combinação com o NFAT. Assim, a ativação de AP-1 representa um ponto de convergência de várias vias de sinalização iniciadas por TCR.
- O **NF- $\kappa$ B** é um fator de transcrição ativado em resposta aos sinais de TCR e é essencial para a síntese de citocinas. As proteínas do NF- $\kappa$ B são homodímeros ou heterodímeros de proteínas que são homólogas ao produto de um proto-oncogene

celular chamado *c-rel* e são importantes na transcrição de muitos genes em diversos tipos celulares, particularmente em células da imunidade inata ([Capítulo 4](#)). A via de NF- $\kappa$ B também é importante para as respostas ao receptor tipo Toll e para a sinalização de citocinas, e é discutido mais a fundo no final deste capítulo.

As ligações entre diferentes proteínas de sinalização, ativação de fatores de transcrição e as respostas funcionais de células T são muitas vezes difíceis de estabelecer porque existem completamente interações entre as vias de sinalização complexas e não totalmente entendidas. Além disso, por uma questão de simplicidade, discutimos frequentemente a sinalização como um conjunto de vias lineares, mas é provável que isso não represente a realidade mais complexa e interligada. Finalmente, temos nos concentrado em vias selecionadas para ilustrar como o reconhecimento do antígeno pode levar a alterações bioquímicas, mas é evidente que muitas outras moléculas de sinalização também estão envolvidas na ativação de linfócitos induzida por antígenos.

Um mecanismo adicional pelo qual a ativação da célula T é regulada envolve os **microRNAs (miRNAs)**. Os miRNAs são pequenos RNAs não codificantes transcritos a partir de DNA, mas não são traduzidos em proteínas. A função destes miRNAs é inibir a expressão de genes específicos. Os miRNAs são inicialmente gerados no núcleo como transcrições primárias longas processadas por uma endorribonuclease chamada Drosha em pré-miRNAs que têm uma estrutura em haste e que podem ser exportadas para o citosol. No citosol, o pré-miRNA é processado pela outra endorribonuclease chamada Dicer em uma cadeia de fila dupla de miRNA com 21 a 22 pares de bases de comprimento, uma cadeia da qual pode ser utilizada para parear com uma sequência complementar de uma série de RNAs mensageiros celulares (RNAm). Estes mRNAs associam-se a miRNAs e proteínas chamadas proteínas Argonautas para formar complexos conhecidos como RISC (complexo de silenciamento induzido por RNA). Se os 6-8 pares de bases de sequência de miRNA não são perfeitamente complementares para o RNAm, o RNAm é impedido de ser traduzido de forma eficiente. Os mRNAs podem ser alvo de degradação quando a complementaridade é perfeita. Em ambos os casos, o resultado é uma redução na abundância de proteínas codificadas por genes-alvo por miRNAs. Em células T ativadas, a expressão da maioria destes pequenos RNAs é globalmente reduzida. Além disso, a proteína Argonauta é ubiquitinada e degradada, comprometendo ainda mais a função do miRNA e aumentando a expressão de um grande número de proteínas necessárias para a progressão do ciclo celular após a ativação das células T. Os miRNAs específicos modulam a expressão gênica em diferentes tipos de células T, como discutiremos no [Capítulo 8](#).

## Modulação da Sinalização da Célula T por Proteínas

## Tirosina Fosfatases

**As tirosina fosfatases removem porções de fosfato de resíduos de tirosina em proteínas e em geral inibem a sinalização do TCR.** Duas tirosina fosfatases que possuem um papel inibitório importante nos linfócitos e outras células hematopoéticas são chamadas de SHP-1 e SHP-2 (para as fosfatases 1 e 2 contendo domínios SH2). As fosfatases inibitórias são tipicamente recrutadas para ITIMs nas caudas citoplasmáticas de receptores inibitórios que são fosforilada por eles próprios pelas tirosinoquinases induzidas durante a ativação de linfócitos. Estas fosfatases inibem a transdução de sinal através da remoção de porções de fosfato a partir de resíduos de tirosina em moléculas de sinalização-chave e assim antagonizam funcionalmente as tirosinoquinases. Outra fosfatase inibitória que não age em fosfoproteínas, mas é específica para um fosfolípido inositol é chamada SHIP (inositol fosfatase contendo domínio SH2). Como SHP-1 e SHP-2, SHIP se liga a sequências ITIM fosforiladas em receptores inibitórios específicos. A SHIP remove um grupo de fosfato a partir de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3), um fosfolípido da camada interna da membrana plasmática e, assim, antagoniza a sinalização de PI3-quinase em linfócitos.

Embora a maioria das fosfatases possa atenuar a sinalização de linfócitos, uma tirosina fosfatase, CD45, facilita a ativação de linfócitos. A proteína CD45 é um receptor de tirosina fosfatase expressa em todas as células hematopoéticas. É uma proteína integral de membrana, cuja cauda citoplasmática contém domínios da proteína tirosina fosfatase. A CD45 desfosforila resíduos inibitórios de tirosina em quinases família Src em geral (incluindo Lck e Fyn nas células T) e, assim, contribui para a geração de quinases ativas.

## Sinalização de Receptores Coestimuladores de Células T

**Os sinais coestimuladores são entregues pelos receptores que reconhecem ligantes que são induzidos nas APCs por microrganismos e cooperam com sinais de TCR para promover a ativação das células T.** A hipótese de dois sinais para a ativação das células T foi introduzida nos [Capítulos 1 e 4](#). No jargão imunológico, a resposta pelo TCR ao MHC e peptídeo numa APC é referido como sinal 1. As células T são completamente ativadas apenas quando um peptídeo estranho é reconhecido no contexto da ativação do sistema imune inato de um agente patogênico ou qualquer outra causa de inflamação. Os ligantes coestimulatórios representam os sinais de perigo (ou sinal 2) induzidos nas células apresentadoras de antígenos por microrganismos. O estrangeirismo deve combinar-se com a percepção de perigo para que ocorra a ativação máxima de células T.

## A Família CD28 de Receptores Coestimuladores

*Os coestimuladores mais bem definidos para os linfócitos T são um par de proteínas relacionadas, chamadas de B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), que são expressas em células dendríticas ativadas, macrófagos e linfócitos B.* A molécula de **CD28** nas células T, que reconhece as proteínas B7, é o principal receptor coestimulador para a liberação de sinais secundários para a ativação de células T. Os papéis biológicos das proteínas da família B7 e CD28 são discutidos no [Capítulo 9](#).

Outro componente ativador da família de CD28 é um receptor chamado de ICOS (coestimulador indutível), que desempenha um papel importante no desenvolvimento de células T auxiliares foliculares e será discutido nos [Capítulos 9 e 12](#).

## A Família CD2/SLAM de Receptores Coestimuladores

As proteínas que não são membros da família CD28 também contribuem para a ativação e diferenciação celular. Uma família de proteínas que desempenha um papel na ativação de células T e NK está estruturalmente relacionada com um receptor chamado de CD2. O CD2 é uma glicoproteína presente em mais de 90% das células T maduras, em 50% a 70% dos tímócitos e nas células NK. A molécula contém dois domínios de Ig extracelulares, uma região transmembranar hidrofóbica, e uma longa (116 resíduos de aminoácidos) cauda citoplasmática. O principal ligante para CD2 em seres humanos é uma molécula chamada antígeno 3 associada a função de leucócitos (LFA-3, ou CD58), também membro da família de CD2. O LFA-3 é expresso em uma grande variedade de células hematopoéticas e não hematopoéticas, quer como uma proteína integral de membrana ou como uma molécula de membrana ancorada ao fosfatidilinositol. Em camundongos, o principal ligante de CD2 é CD48, que é também um membro da família de CD2 e é distinto, mas estruturalmente semelhante ao LFA-3.

O CD2 funciona tanto como uma molécula de adesão intercelular quanto como um transdutor de sinal. Embora os camundongos deficientes apenas em CD28 tenham defeitos imunológicos significativos enquanto os camundongos deficientes apenas em CD2 não tenham, os camundongos deficientes tanto em CD28 quanto em CD2 têm defeitos mais profundos. Isto indica que o CD28 pode compensar a perda de CD2, um exemplo da redundância dos receptores de coestimulação de células T.

Um subgrupo distinto da família de proteínas CD2 é conhecido como a família **SLAM** (molécula de ativação da sinalização linfocítica). SLAM, como todos os membros da família CD2, é uma proteína integral de membrana que contém dois domínios de Ig extracelular e uma cauda citoplasmática longa. A cauda citoplasmática de SLAM, mas não de CD2, contém um motivo específico à base de tirosina, TxYxxV / I (onde *T* é um resíduo de treonina, *Y* é um resíduo de tirosina, *V* é valina, *I* é um resíduo de isoleucina, e *x* é qualquer aminoácido), conhecido como motivo de troca do imunorreceptor a base de tirosina (ITSM) que é distinto dos motivos ITAM e ITIM

encontrados em outros receptores ativadores e inibitórios. Ele é chamado de motivo de troca porque em alguns receptores, este motivo pode orquestrar uma mudança de ligação de uma tirosina fosfatase SHP-2 para se ligar a uma tirosinoquinase, como Fyn, dependendo da ausência ou da presença, respectivamente, de um adaptador chamado SAP (proteína associada ao SLAM). Assim, o ITSM pode mediar uma mudança de uma função de inibição para uma função de ativação.

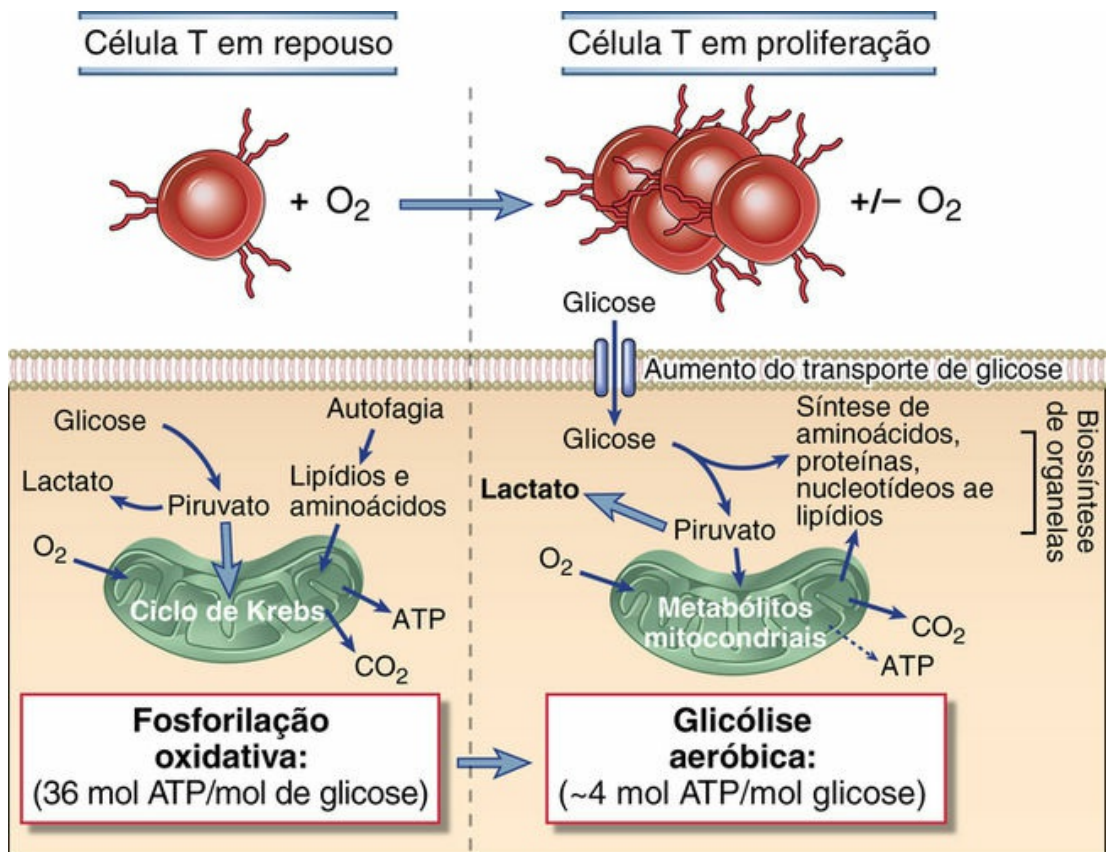
Os domínios extracelulares de Ig de SLAM estão envolvidos em interações homofílicas. O SLAM numa célula T pode interagir com SLAM em células dendríticas e, como resultado, a cauda citoplasmática de SLAM pode emitir sinais para as células T. O motivo ITSM liga-se a SAP, e a última forma uma ponte entre SLAM e Fyn (uma família Src quinase que também está fisicamente ligada a proteínas CD3 em células T). O SLAM e outros membros da família SLAM funcionam como receptores de coestimulação das células T, células NK e algumas células B. Como discutiremos no [Capítulo 21](#), as mutações no gene SH2D1A que codifica a SAP são a causa de uma doença chamada síndrome linfoproliferativa ligada ao X (XLP).

Um importante membro da família SLAM em células NK, das células T CD8<sup>+</sup> e das células T  $\gamma\delta$  é chamado de 2B4. Como SLAM, a cauda citoplasmática de **2B4** contém motivos ITSM, se liga à proteína adaptadora SAP, e sinaliza através do recrutamento de Fyn. Uma sinalização defeituosa de 2B4 pode contribuir de forma decisiva para o déficit imunológico em pacientes com a síndrome linfoproliferativa ligada ao X.

## Alterações Metabólicas Durante a Ativação das Células T

Quando linfócitos são ativados, eles precisam aumentar sua atividade metabólica para lidar com o aumento das exigências da resposta celular. Este fenômeno tem sido mais bem estudado em células T. Após a ativação por antígenos e coestimuladores, as células T aumentam o transporte de glicose e mudam a sua produção de energia a partir da fosforilação oxidativa mitocondrial a glicólise, mesmo na presença de oxigênio abundante, um fenômeno conhecido como glicólise aeróbica ([Fig. 7-17](#)). Este fenômeno, também conhecido como o efeito de Warburg, foi descrito pela primeira vez em células tumorais, mas é agora reconhecido como um importante mecanismo utilizado por muitas células em proliferação. Embora a glicólise produza menos ATP, o armazenamento de energia, do que produz a fosforilação oxidativa, a glicólise não usa outros substratos além da glicose, tais como ácidos aminados e lipídios, e assim preservá-los para fornecer os blocos de construção necessários para suportar as respostas dos linfócitos ativados. Este mecanismo modificado de produção de energia em linfócitos pode ser importante não apenas para a proliferação celular, mas também para a diferenciação de células T em células efetoras e para a produção de citocinas efetoras.





**FIGURA 7-17** Alterações metabólicas durante a ativação das células T.

Nas células T em repouso, a principal via de geração de energia é a fosforilação oxidativa mitocondrial. Após a ativação, há uma mudança para a glicólise aeróbia, o que gera menos energia, mas preserva e produz os blocos de construção para a biossíntese da organela celular, o que é necessário para a proliferação celular e respostas funcionais.

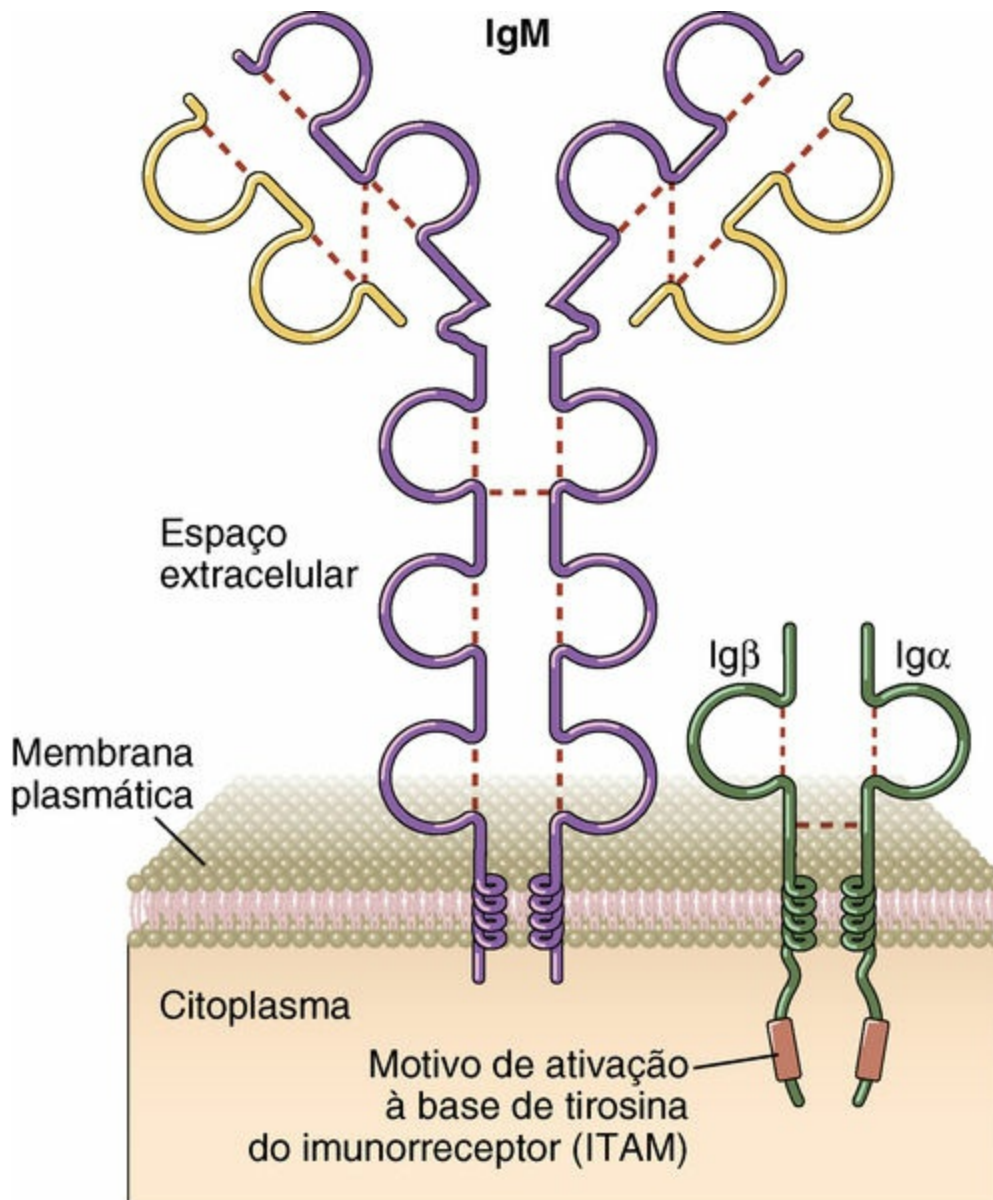
## O complexo do receptor de antígeno do linfócito B

O receptor do antígeno de linfócito B é uma forma transmembranar de uma molécula de anticorpo associado a duas cadeias de sinalização. Descrevemos a estrutura de anticorpos em detalhes no [Capítulo 5](#). Aqui vamos nos concentrar em algumas características salientes das formas de membrana de Ig e suas proteínas associadas e discutir como elas enviam sinais para as células B. Devido às vias de sinalização serem muito parecidas com as das células T, sua descrição não será muito detalhada. No entanto, existem semelhanças e diferenças significativas entre receptores de antígenos de células B e T ([Tabela 7-1](#)).



## Estrutura do Receptor de Antígenos de Células B

As IgM e IgD de membrana, que são os receptores de antígeno de célula B imaturas, têm caudas citoplasmáticas curtas que consistem em apenas três aminoácidos (lisina, valina, e lisina). Estas caudas são muito pequenas para a transdução de sinais gerados após o reconhecimento de antígeno. Os sinais mediados por Ig são transduzidos por duas outras moléculas chamadas  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  e que estão ligadas uma à outra por ligações dissulfeto e são expressas em células B de forma não covalente associada à Ig de membrana (Fig. 7-18). Estas proteínas contêm um motivo ITAM cada nas suas caudas citoplasmáticas, são necessárias para o transporte de moléculas de Ig de membrana para a superfície da célula e, juntamente com a Ig de membrana formam o **complexo receptor de célula B (BCR)**. Os complexos de receptores de células B nas células B com troca de classes, incluindo as células B de memória, contêm imunoglobulinas de membrana que podem ser do tipo IgG, IgA ou IgE classes (Capítulo 12).



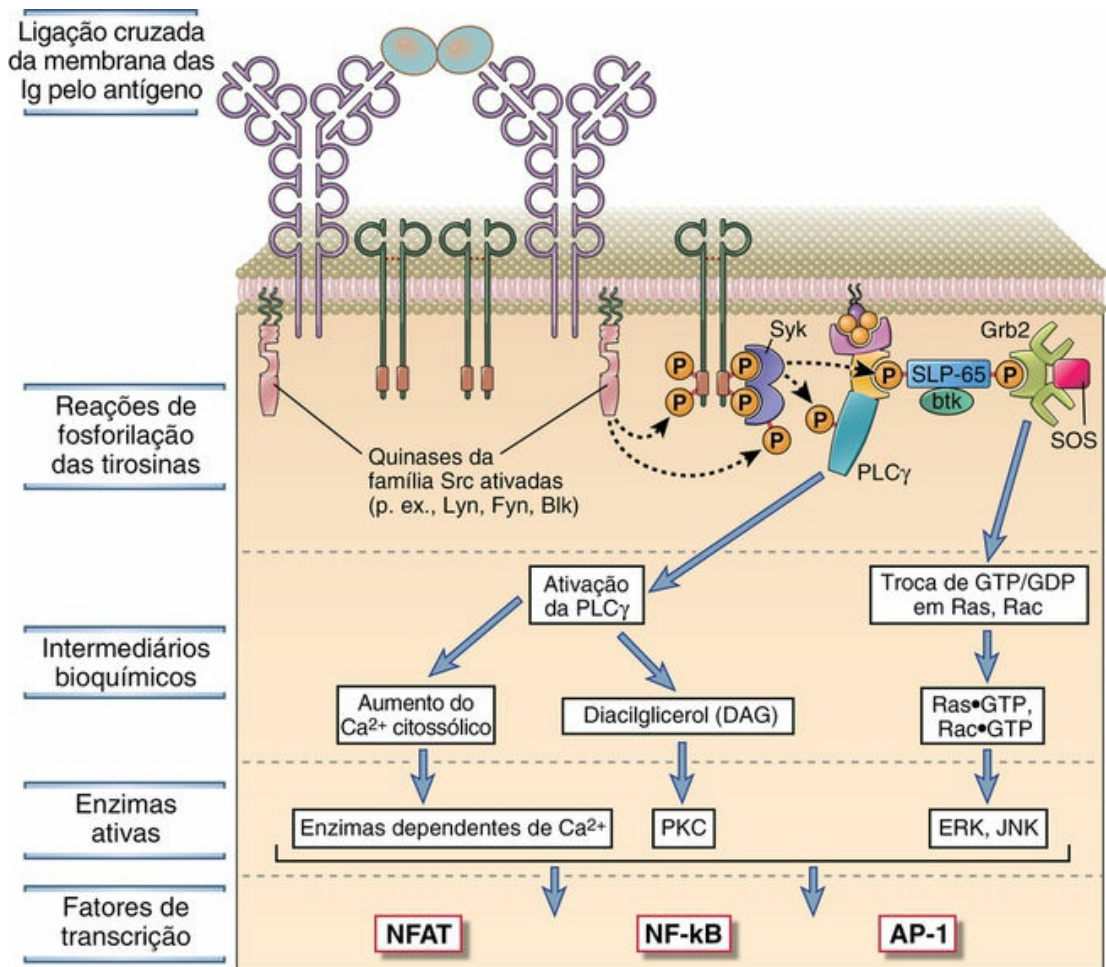
**FIGURA 7-18** Complexo receptor de antígenos das células B.

As IgM (e IgD) de membrana na superfície de células B maduras estão associadas às moléculas invariantes Ig $\beta$  e Ig $\alpha$ , que contêm ITAMs nas suas caudas citoplasmáticas que medeiam as funções de sinalização. Observe a semelhança com o complexo de TCR.

## Iniciação do Sinal pelo Receptor da Célula B

**A iniciação do sinal por antígenos ocorre pela ligação cruzada de BCR e é facilitada pelo correceptor para BCR.** Pensa-se que a ligação cruzada da Ig de membrana por antígenos multivalentes traz consigo quinases da família Src, por

promover a sua interação física, ativa totalmente essas enzimas, permitindo-lhes fosforilar os resíduos de tirosina nas ITAMs de Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ . Também é possível que, como em células T, o antígeno de ligação facilite uma alteração conformacional em ITAMs associados a BCR, o que os torna acessíveis para quinases da família Src já ativas que modificam tirosinas dos ITAMs. A fosforilação dos resíduos de tirosina de ITAMs aciona todos os eventos de sinalização subsequentes do BCR (Fig. 7-19). As ligações cruzadas dos receptores de Ig entram nas rafts lipídicas, onde muitas proteínas adaptadoras e moléculas de sinalização são concentradas. Ig $\alpha$  e Ig $\beta$  são frouxamente ligadas à tirosinoquinases da família Src tais como Lyn, Fyn e Blk, e estas enzimas também são ligadas por âncoras lipídicas para o interior da membrana plasmática. Os resíduos de tirosina fosforilados nos ITAMs de Ig $\alpha$  e Ig $\beta$  formam um local de ancoragem para os domínios SH2 paralelos da Syk tirosinoquinase. O Syk é ativado quando se associa a tirosinas fosforiladas de ITAMs e pode ele próprio ser fosforilado em resíduos de tirosina específicos por quinases da família Src associadas ao BCR, levando a uma maior ativação. Se o antígeno é monovalente e incapaz de realizar ligações cruzadas com múltiplas moléculas de Ig, uma sinalização pode ocorrer apesar disso, mas a ativação adicional de células T auxiliares pode ser necessária para ativar completamente as células B, como discutido no [Capítulo 12](#).

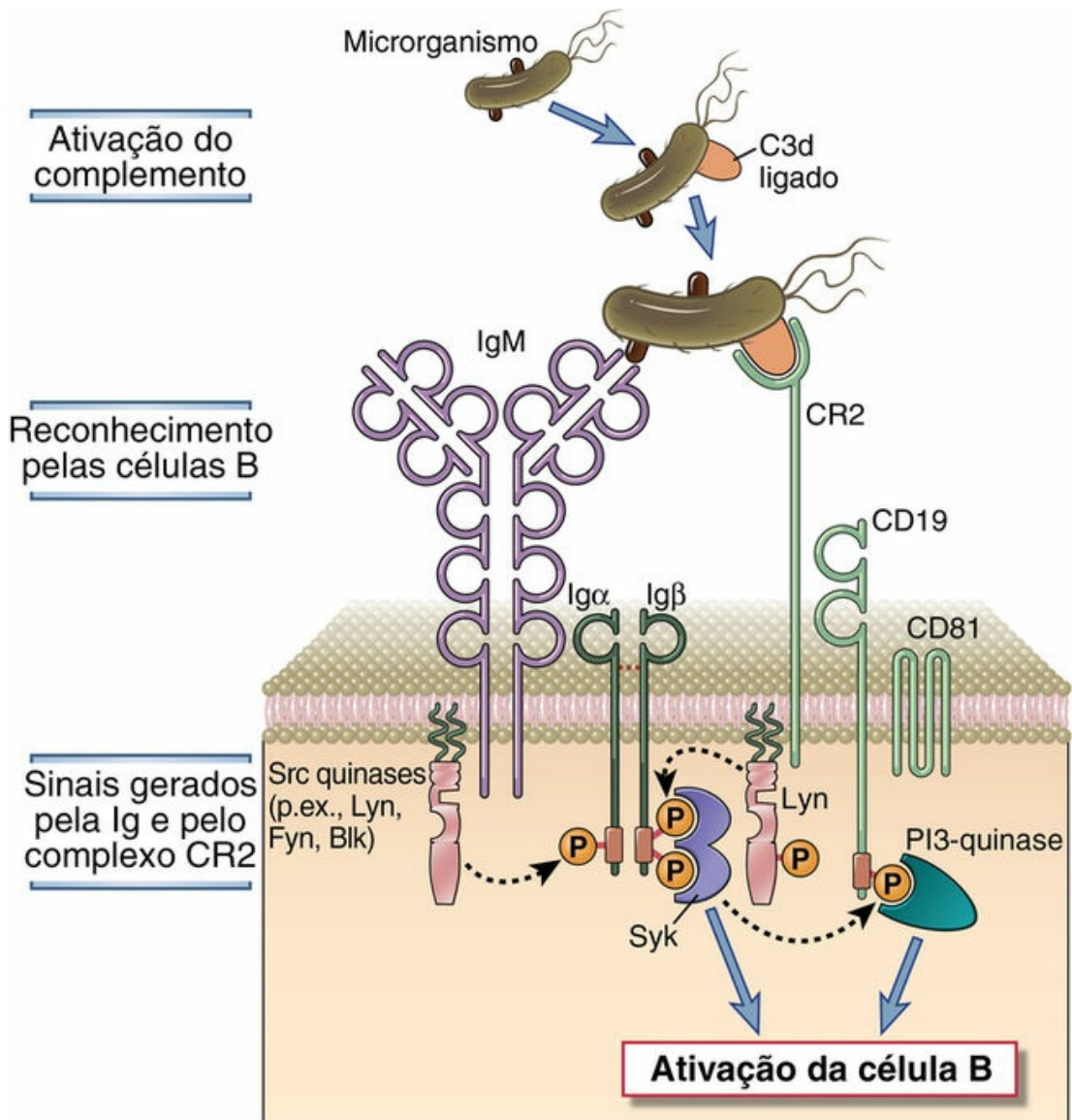


**FIGURA 7-19** Transdução de sinais pelo complexo BCR. A ligação cruzada de Ig da membrana induzida pelo antígeno em células B conduz ao agrupamento e à ativação de tirosinoquinases da família Src e na fosforilação da tirosina das ITAMs nas caudas citoplasmáticas das moléculas de Igα e Igβ. Isto resulta no acoplamento de Syk e as reações subsequentes de fosforilação da tirosina, como descrito. Várias cascatas de sinalização acompanham estes eventos, como ilustrado, conduzindo à ativação de vários fatores de transcrição. Estas vias de transdução de sinal são semelhantes às aquelas descritas nas células T.

## O Papel do Receptor do Complemento CR2/CD21 como Correceptor das Células B

*A ativação de células B é reforçada por sinais que são fornecidos por proteínas do sistema complemento e pelo complexo correceptor CD21, que ligam a imunidade inata à resposta imune humoral adaptativa (Fig. 7-20). O*

sistema complemento é composto por uma coleção de proteínas plasmáticas que são ativadas pela ligação às moléculas de anticorpos complexadas ao antígeno (via clássica) ou por ligação diretamente a algumas superfícies microbianas e polissacarídeos na ausência de anticorpos (a via alternativa e a via da lectina) (Caps. 4 e 13). Assim, os polissacarídeos e outros componentes de microrganismos podem ativar o sistema complemento diretamente, durante a resposta imune inata. As proteínas e outros antígenos que não ativam diretamente o complemento devem estar vinculados a anticorpos preexistentes ou a anticorpos produzidos no início da resposta, e estes complexos antígeno-anticorpo ativam o complemento pela via clássica. Lembre-se de que a ativação do complemento resulta na clivagem proteolítica de proteínas do complemento. O componente-chave do sistema é uma proteína chamada C3 e a sua clivagem resulta na produção de uma molécula chamada C3b que se liga covalentemente ao microrganismo ou ao complexo antígeno-anticorpo. C3b é então degradada num fragmento chamado C3d, que permanece ligado à superfície microbiana ou no complexo antígeno-anticorpo. Os linfócitos B expressam um receptor para a C3d que é chamado o receptor de complemento do tipo 2 (CR2, ou CD21). O complexo de C3d e antígeno ou complexos C3d e antígeno-anticorpo se ligam a células B, com a Ig de membrana reconhecendo os antígenos e CR2 reconhecendo o C3d ligado (Fig. 7-19).



**FIGURA 7-20** Papel do complemento na ativação da célula B.

As células B expressam um complexo formado pelo receptor do complemento CR2, CD19, e CD81. Os antígenos microbianos que se ligam ao fragmento do complemento C3d podem simultaneamente se acoplar tanto à molécula CR2 quanto à Ig de membrana na superfície de uma célula B. Isso conduz ao início da cascata de sinalização a partir do complexo BCR e do complexo CR2 uma vez que a resposta aos complexos C3d-antígeno é muito maior em comparação com a resposta ao antígeno sozinho.

O CR2 é expresso em células B maduras, como um complexo com duas outras proteínas da membrana, CD19 e CD81 (também chamada de TAPA-1). O complexo CD19-CR2-CD81 é frequentemente chamado o complexo correceptor de célula B,



pois CR2 liga-se a antígenos através de C3d ligado ao mesmo tempo que a Ig de membrana liga-se diretamente para o antígeno. A ligação de C3d às células B ao receptor do complemento aproxima CD19 das quinases associadas BCR e a cauda citoplasmática de CD19 torna-se rapidamente fosforilada pela tirosina. A fosforilação da cauda de CD19 resulta no recrutamento eficiente de Lyn, uma quinase da família de Src que pode amplificar a sinalização por BCR aumentando grandemente a fosforilação de tirosinas em I $\alpha$  ITAM e I $\beta$ . A CD19 fosforilada também ativa outras vias de sinalização, principalmente uma dependente da enzima PI3-quinase, que, por sua vez, aumenta ainda mais a sinalização iniciada pela ligação do antígeno de membrana de Ig. A PI3-quinase é necessária para a ativação de Btk e PLC $\gamma$ 2 porque estas enzimas devem ligar-se a PIP3 no folheto interno da membrana plasmática para ser totalmente ativada, de uma maneira análoga ao que é mostrado para a ativação das células T PDK1 na [Figura 7-12](#). O resultado líquido da ativação do correceptor é que a resposta da célula estimulada pelo antígeno B é muito mais intensa.

## Vias de Sinalização Subsequentes ao Receptor da Célula B

**Após a ligação do antígeno ao BCR, a Syk e outras tirosinoquinases ativam numerosas vias de sinalização subsequentes que são reguladas por proteínas adaptadoras** ([Fig. 7-19](#)). A ligação cruzada do BCR ou a ativação do BCR por um mecanismo dependente de correceptor resulta na fosforilação de ITAM e no recrutamento da Syk para o ITAM, seguido pela ativação da SH2 quinase contendo domínios duplos. As Syks ativadas fosforilam os resíduos de tirosina cruciais em proteínas adaptadoras tais como SLP-65 (fosfoproteína leucocitária de ligação à SH2 de 65 kDa, também chamadas de BLNK, ou proteína de ligação de células B). Isso facilita o recrutamento para essas proteínas adaptadoras de outro domínio SH2 e de enzimas que contêm os domínios de ligação contendo fosfotirosina (PTB), incluindo as proteínas de troca do nucleotídeo guanina que podem ativar separadamente Ras e Rac, PLC $\gamma$ 2, e a tirosinoquinase Btk, entre outros. O recrutamento facilita a ativação desses efetores subsequentes e cada um geralmente contribui para a ativação de uma via de sinalização distinta.

- A **via Ras-MAP quinase** é ativada nas células B estimuladas por antígenos. O fator de troca de GTP/GDP chamado SOS é recrutado para BLNK através da ligação da proteína adaptadora Grb-2; Ras é então convertida por este fator de troca de uma forma ligada à GDP inativa para uma forma ativa ligada ao GTP. A Ras ativada contribui para a ativação da via MAP quinase ERK discutida anteriormente no contexto de sinalização de células T. De um modo paralelo, a ativação da proteína G pequena Rac pode contribuir para a ativação da via da MAP quinase JNK.
- A **fosfolipase C (PLC) específica para o fosfatidilinositol** é ativada em resposta à sinalização de BCR, e este por sua vez, facilita a ativação das vias de sinalização

subsequentes. Nas células B, a isoforma dominante de PLC é a isoforma  $\gamma 2$ , enquanto as células T expressam a isoforma  $\gamma 1$  relacionada da enzima. A PLC $\gamma 2$  torna-se ativa quando se liga à BLNK e é fosforilada por Syk e Btk. Tal como descrito no contexto da sinalização TCR, a PLC ativa degrada o PIP2 da membrana para produzir IP3 e liberar DAG solúvel na membrana plasmática. O IP3 mobiliza o cálcio intracelular a partir dos estoques, levando a uma rápida elevação de cálcio citoplasmático que é posteriormente aumentado por um influxo de cálcio do meio extracelular. Na presença do cálcio, o DAG ativa algumas isoformas da proteína quinase C (PKC- $\beta$  principalmente nas células B), que fosforila as proteínas subsequentes em resíduos de serina/treonina.

- A ativação de **PKC- $\beta$**  subsequente ao BCR contribui para a ativação do NF- $\kappa$ B nas células B estimuladas pelo antígeno. Este processo é semelhante ao de células T desencadeado por PKC- $\theta$ , a isoforma da PKC presente nas células T. A via de ativação do NF- $\kappa$ B subsequente à PKC é descrita posteriormente neste capítulo.

***Estas cascatas de sinalização por fim levam à ativação de um número de fatores de transcrição que induzem a expressão de genes cujos produtos são necessários para as respostas funcionais de células B.*** Alguns dos fatores de transcrição que são ativados por antígeno na transdução de sinal mediada por receptor em células B são Fos (após a ativação de Ras e ERK), JunB (após a ativação do Rac e JNK), e de NF- $\kappa$ B (após a ativação da Btk, PLC $\gamma 2$ , e de PKC- $\beta$ ). Estes fatores já foram descritos antes, quando discutimos as vias de sinalização da célula T. Estes e outros fatores de transcrição, dos quais muitos não foram mencionados, estão envolvidos na estimulação da proliferação e diferenciação de células B ([Capítulo 12](#)).

Assim como nas células B, o nosso conhecimento sobre as vias de sinalização induzidas por antígenos em células B e as suas ligações com posteriores respostas funcionais está incompleto. Descrevemos algumas destas vias para ilustrar suas características principais, mas outras vias podem desempenhar papéis importantes na ativação da célula B. As mesmas vias de sinalização são utilizadas por IgM e IgD de membrana em células B imaturas e por IgG, IgA, e IgE nas células B que tenham sido submetidas a mudança do isótopo porque todos esses isotipos da membrana associam-se a Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ .

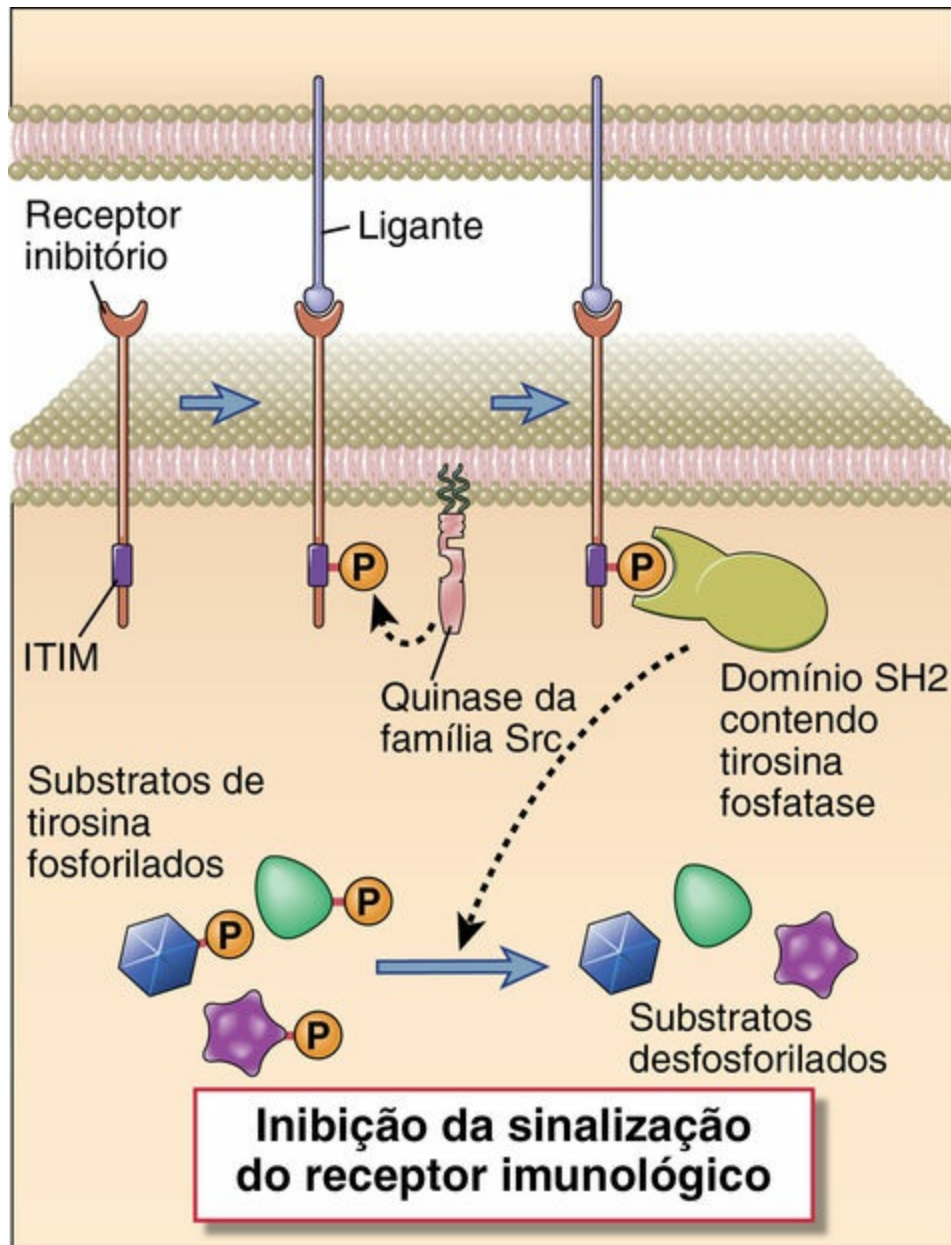
## **A atenuação da sinalização dos receptores imunológicos**

A ativação de linfócitos precisa ser rigorosamente controlada para limitar as respostas imunológicas contra microrganismos com a finalidade de evitar danos colaterais aos tecidos do hospedeiro. Além disso, o sistema imunológico precisa de mecanismos que previnam as reações contra antígenos próprios. Vamos descrever a biologia desses mecanismos de controle nos próximos capítulos, principalmente no

**Capítulo 15.** A atenuação da sinalização é essencial para prevenir a inflamação e a proliferação linfática descontrolada. Aqui vamos discutir os mecanismos bioquímicos que servem para limitar e encerrar a ativação de linfócitos.

***A sinalização inibitória dos linfócitos é mediada primariamente por receptores inibitórios e também por enzimas conhecidas como E3 ligases de ubiquitina que marcam certas moléculas de sinalização para a degradação.***

Os receptores inibitórios normalmente recrutam e ativam as fosfatases que contrariam os eventos de sinalização induzidos por receptores de antígenos (Fig. 7-21). As respostas funcionais de todas as células são reguladas por um equilíbrio entre os sinais estimuladores e inibidores, descreveremos primeiro, de maneira ampla, os mecanismos pelos quais os receptores inibitórios podem funcionar em células NK, nas células T e células B. Descreveremos então como as ligases de ubiquitina E3 podem atenuar a sinalização em linfócitos. A relevância biológica da atenuação do sinal através dos receptores inibitórios nas células NK, células T e células B está descrita nos capítulos 4, 9 e 12, respectivamente.



**FIGURA 7-21** Sinalização inibitória dos linfócitos.

Um diagrama esquemático é ilustrado de um receptor inibitório com um ligante com um domínio extracelular e um motivo ITIM citossólico. A ligação do ligante resulta na fosforilação da tirosina do ITIM por uma quinase da família Src, seguida pelo recrutamento de um domínio de tirosina fosfatase contendo SH2 que pode atenuar a sinalização do receptor imunológico.

## Receptores Inibitórios das Células NK, Células B e Células T

A maioria, mas não todos os receptores inibitórios no sistema imunológico, contém motivos ITIM nas suas caudas citoplasmáticas que podem recrutar as fosfatases contendo domínio SH2 e assim atenuar a sinalização de uma maneira muito semelhante (Fig. 7-21). Os receptores inibitórios desempenham papéis fundamentais nas células NK, células T e células B, bem como em outras células da imunidade inata.

Nas células NK, os receptores inibitórios chamados KIRs (Capítulo 4) contêm os domínios extracelulares de Ig que podem reconhecer as moléculas de classe I de HLA, e um subconjunto destes receptores contém motivos ITIM citossólicas. O receptor inibitório CD94/NKG2A liga-se a uma molécula atípica de MHC classe I chamada HLA-E, e a cadeia de NKG2A desse dímero contém motivos de ITIM citossólico.

Os resíduos de tirosina dos ITIMs destes e de outros receptores inibitórios podem ser fosforilados pelas quinases da família Src ligada à ativação de linfócitos e, como descrito anteriormente, recruta tirosina fosfatases contendo domínio SH2, tais como SHP-1 e SHP-2 e uma fosfatase inositol chamada SHIP contendo domínio SH2. SHP-1 e SHP-2 atenuam a sinalização das tirosinoquinases com relação à ativação de receptores em células NK assim como do BCR e TCR em células B e T, respectivamente. A SHIP remove porções de fosfato de PIP3 e, portanto inibe a atividade da PI3 quinase em linfócitos, células NK e células da imunidade inata.

O protótipo do receptor inibitório da família **CD28**, CTLA-4 (também denominado CD152), tem a capacidade de inibir as respostas de células T induzidas nas células T ativadas e tem uma maior afinidade do que CD28 para as proteínas B7. O CTLA-4 é envolvido na manutenção da falta de responsividade (tolerância) a antígenos próprios e discutido neste contexto no Capítulo 15. Um outro receptor inibitório da mesma família é chamado **PD-1** (morte programada 1), e este assunto também é discutido no Capítulo 15. O CTLA-4 possui uma região que contém uma tirosina em sua cauda que pode ser inibitória; o PD-1 contém motivos citossólicos de ITIM e ITSM, e sua cauda citossólica é crucial para a iniciação de sinais inibidores. Os principais receptores inibitórios das células B incluem o FcγRIIB e CD22/Siglec-2 (Capítulo 12). O FcγRIIB, um importante atenuador da sinalização em células B ativadas, bem como nas células dendríticas e macrófagos, pode se ligar a complexos imunes contendo IgG através de domínios extracelulares de Ig. Ele primariamente recruta o SHIP e antagoniza a sinalização da PI3 quinase. Este receptor atenua a ativação de células B na última fase da resposta imune humoral e será discutido mais detalhadamente no Capítulo 12.

## Ligases de Ubiquitina E3 e a Degradação de Proteínas Sinalizadoras

Uma das principais formas de degradação de proteínas citossólicas e nucleares

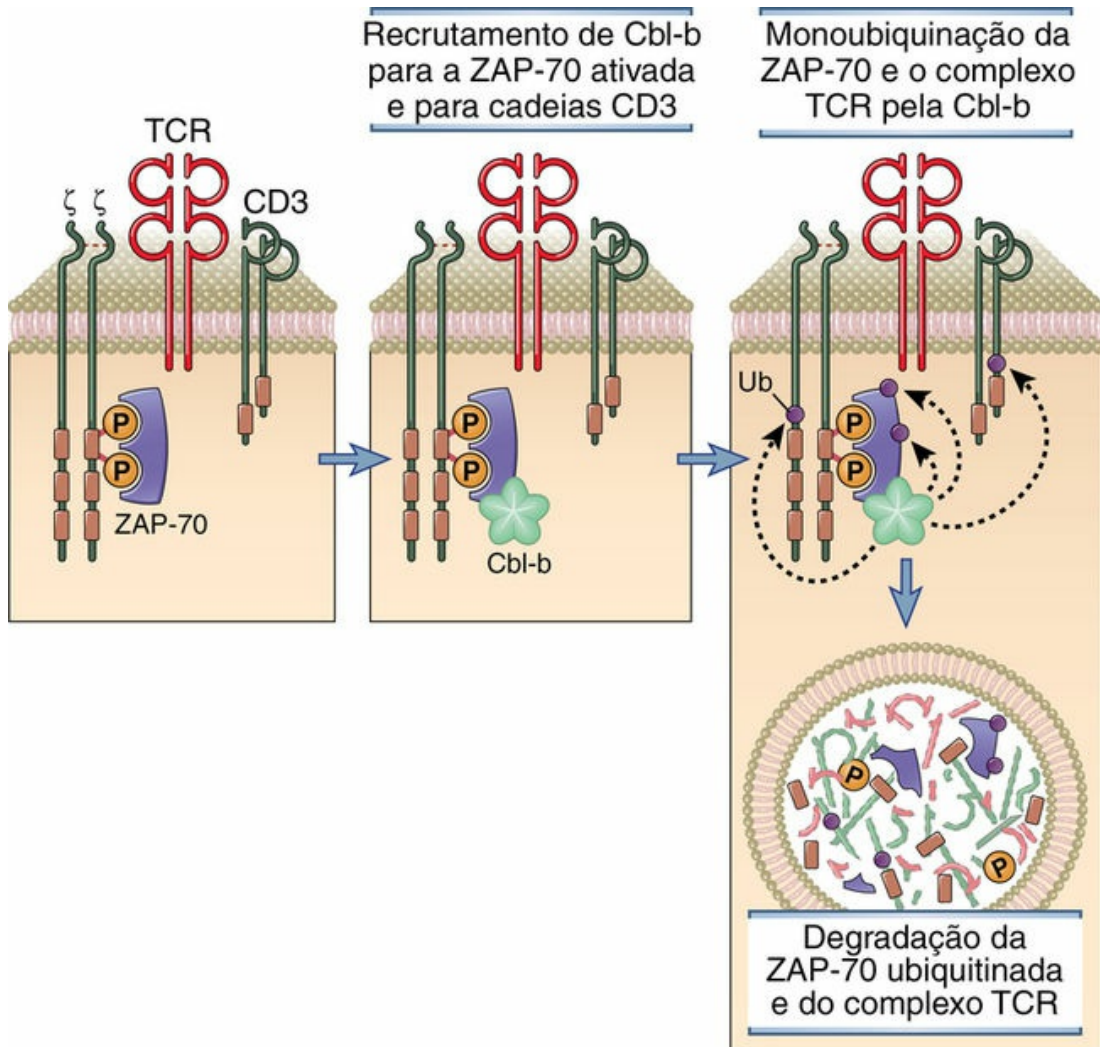
envolve a ligação covalente de resíduos de ubiquitina para essas proteínas. Apesar da ubiquitinação de proteínas ser frequentemente associada à degradação dessas proteínas em proteossomas, as proteínas podem ser ubiquitinadas de um certo número de maneiras, cada forma de ubiquitinação desempenha uma função muito diferente. No contexto da transdução de sinal, dois tipos diferentes de ubiquitinação medeiam a atenuação dos sinais de um lado e a geração dos sinais do outro.

A ubiquitinação foi brevemente discutida no [Capítulo 6](#) no contexto do processamento e apresentação de antígenos do MHC de classe I. A ubiquitina é uma proteína de 76 aminoácidos que é ativada através de um mecanismo dependente de ATP por uma enzima E1 e em seguida, é carregada por uma enzima E2, e, então transferida para resíduos de lisina em substratos específicos que são reconhecidos por ligases de ubiquitina E3 específicas. Em muitos casos, depois que a região C terminal de uma porção da ubiquitina é ligada covalentemente a um resíduo de lisina de uma proteína-alvo, as extremidades C terminais de porções de ubiquitina subsequentes podem ser ligadas covalentemente a resíduos de lisina na ubiquitina anterior para gerar uma corrente de poliubiquitina. A forma da cadeia de poliubiquitina pode ser muito diferente, dependendo de qual resíduo de lisina específico na molécula de ubiquitina precedente na cadeia é o local para ligação covalente da próxima molécula de ubiquitina, e a forma da cadeia de ubiquitina tem consequências funcionais importantes. Se a lisina na posição 48 da primeira porção de ubiquitina forma uma ligação isopeptídica com o C terminal da próxima ubiquitina e assim por diante, um tipo de cadeia de ubiquitina lisina-48 será gerado que pode ser reconhecido pelo proteossoma e a proteína irá ser alvo de degradação no proteossoma. Algumas ligases E3 geram um tipo diferente de cadeia de poliubiquitina chamada de cadeia do tipo lisina-63 da, o que não tem como alvo proteínas para degradação, mas em vez disso gera uma estrutura para o acoplamento das proteínas marcadas para outras proteínas específicas; isto é importante na sinalização de NF- $\kappa$ B, conforme será discutido mais tarde. Em algumas funções, principalmente na determinação do direcionamento de proteínas da membrana, para os lisossomas em vez de proteossomas, apenas uma única unidade de ubiquitina pode precisar ser ligada a uma proteína-alvo.

Várias ligases E3 são encontradas em células T; algumas delas estão envolvidas na ativação de sinal e outras na atenuação do sinal. O protótipo da ligase E3 envolvido na finalização das respostas das células T é Cbl-b, mas vários outros possuem funções semelhantes. O recrutamento de CBL-b do complexo TCR e proteínas adaptadoras associadas leva à monoubiquitinação, endocitose e a degradação lisossomal do complexo TCR, e isto pode ser um mecanismo para a atenuação da sinalização do TCR ([Fig. 7-22](#)). Os sinais do CD28 bloqueiam a atividade inibidora de Cbl-b, e este é um mecanismo pelo qual a coestimulação aumenta os sinais de TCR. Em camundongos nocauteados (*knockouts*) para Cbl-b, as células T respondem ao antígeno mesmo sem a coestimulação mediada pelo



CD28 e produzem quantidades anormalmente elevadas de IL-2. Estes camundongos desenvolvem autoimunidade como resultado da ativação aumentada das suas células T.



**FIGURA 7-22** Papel da ligase de ubiquitina Cbl-b no encerramento das respostas de células T.

A Cbl-b é recrutada para o complexo de TCR, o que facilita a monoubiquitinação de CD3, ZAP-70, e outras proteínas do complexo TCR. Essas proteínas são alvo para degradação proteolítica nos lisossomos e outras organelas (não mostrado).

## Receptores de citocina e sinalização

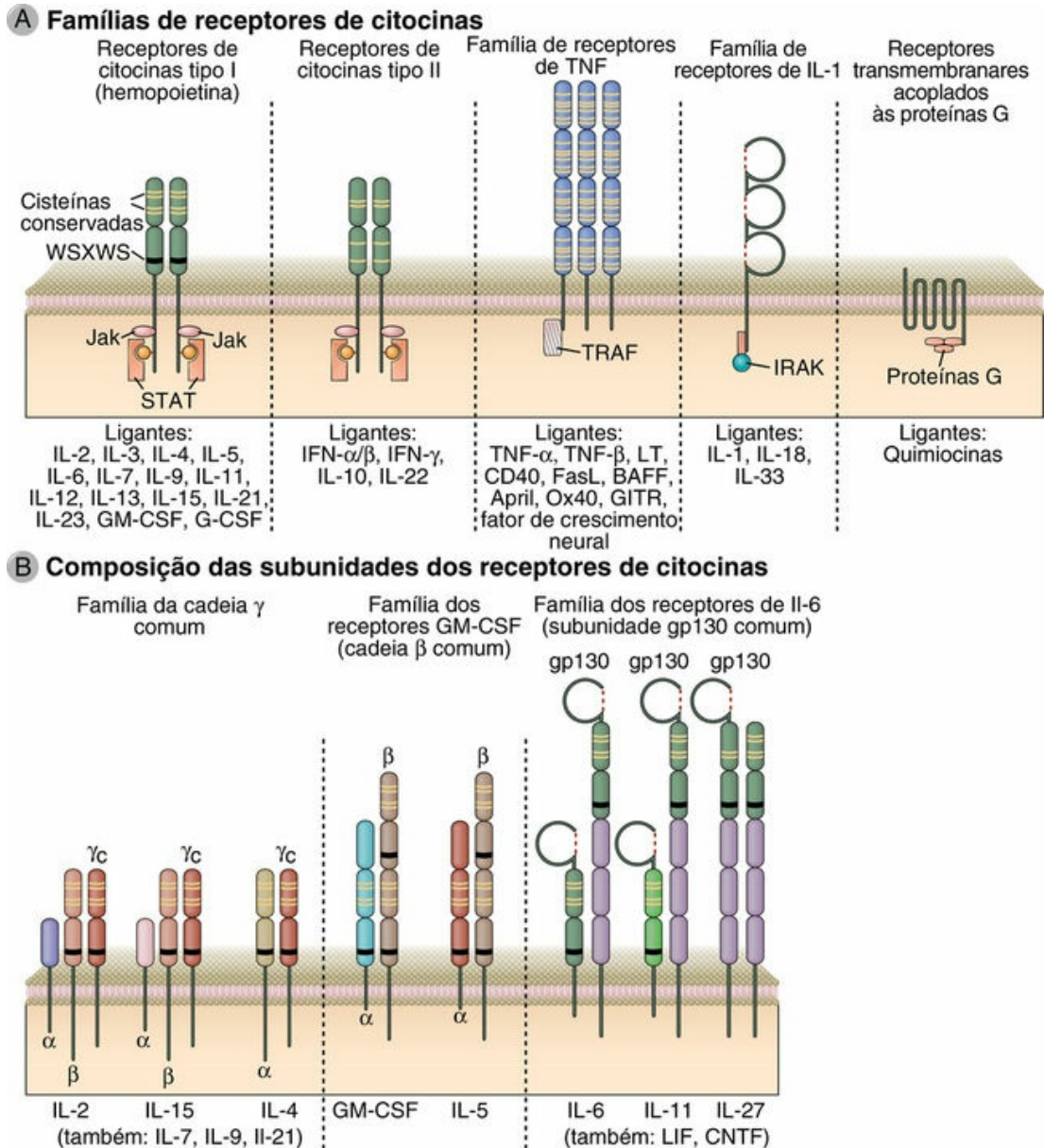
As citocinas, as moléculas mensageiras secretadas pelo sistema imunológico, foram mencionadas nos capítulos anteriores e serão ao longo do livro. Aqui vamos

descrever os receptores de citocinas e os seus mecanismos de sinalização.

***Todos os receptores de citocinas consistem em uma ou mais proteínas transmembranares cujas porções extracelulares são responsáveis pela ligação da citocina e cujas porções citoplasmáticas são responsáveis pela iniciação da sinalização intracelular.*** Para a maioria dos receptores de citocinas, essas vias de sinalização são ativadas por agrupamento do receptor induzido por ligante, aproximando as porções citoplasmáticas de duas ou mais moléculas de receptor, e assim induzindo a atividade de tirosinoquinases únicas não receptoras. No caso da família do receptor de citocinas TNF, os trimeros de receptores pré-formados parecem sofrer uma mudança conformacional depois de entrar em contato com seus ligantes triméricos cognatos.

## Classes de Receptores de Citocinas

A classificação mais utilizada de receptores de citocinas baseia-se em homologias estruturais dos domínios extracelulares de ligação a citocinas e nos mecanismos de sinalização intracelulares compartilhados (Fig. 7-23). Os mecanismos de sinalização utilizados pelas famílias individuais são considerados a seguir.



**FIGURA 7-23** Estrutura de receptores de citocinas.

**A**, Receptores para diferentes citocinas são classificados em famílias com base nas estruturas de domínios extracelulares conservados e mecanismos de sinalização. As citocinas representativas ou outros ligantes que se ligam a cada família de receptores estão listados abaixo dos desenhos esquemáticos. **WSXWS**, triptofano-serina-X-serina-triptofano.

**B**, Grupos de receptores de citocinas compartilham cadeias de subunidades idênticas ou altamente homólogas. Exemplos de receptores de citocinas selecionados de cada grupo são apresentados na figura.

## Receptores de Citocina de Tipo I (Família do Receptor de

## Hematopoetina)

Os receptores de citocina de tipo I são dímeros ou trímeros que consistem tipicamente em cadeias únicas de ligação ao ligante e uma ou mais cadeias de transdução de sinal, as quais são frequentemente partilhadas por receptores de diversas citocinas. Estas cadeias contêm um ou dois domínios com um par de resíduos de cisteína conservada e um peptídeo proximal de membrana contendo um motivo triptofano-serina-X- triptofano-serina (WSXWS), onde X é qualquer aminoácido (Fig. 7-23, A). As sequências conservadas dos receptores formam estruturas que ligam citocinas que têm quatro feixes de  $\alpha$ -hélices e são referidas como citocinas Tipo I, mas a especificidade para as citocinas individuais é determinada por resíduos de aminoácidos que variam de um receptor para outro. Esta família de receptores pode ser dividida em subgrupos com base nas homologias estruturais ou no uso de polipeptídios de sinalização em comum (Fig. 7-23, B). Um grupo contém um componente de sinalização chamado cadeia  $\gamma$  comum (CD132); neste grupo estão os receptores para IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21. Um subgrupo distinto de receptores tipo I inclui receptores que compartilham uma subunidade da cadeia  $\beta$  comum (CD131). Este subgrupo inclui os receptores para IL-3, IL-5 e GM-CSF. Outro subgrupo de receptores utiliza o componente gp130 de sinalização e isso inclui os receptores para IL-6, IL-11 e IL-27. Todos os receptores de citocinas do tipo I envolvem as vias de sinalização JAK-STAT

## Receptores de Citocina Tipo II (Família de Receptores do Interferons)

Os receptores do tipo II são semelhantes aos receptores tipo I em virtude de possuírem dois domínios extracelulares com cisteínas conservadas, mas os receptores do tipo II não contêm o motivo WSXWS. Estes receptores consistem em uma cadeia de ligação polipeptídica e uma cadeia de transdução de sinal. Todos os receptores de citocinas do tipo II, como os receptores tipo I, envolvem as vias de sinalização JAK-STAT. Esta família inclui receptores para os interferons tipo I e tipo II e para a IL-10, IL-20 e IL-22.

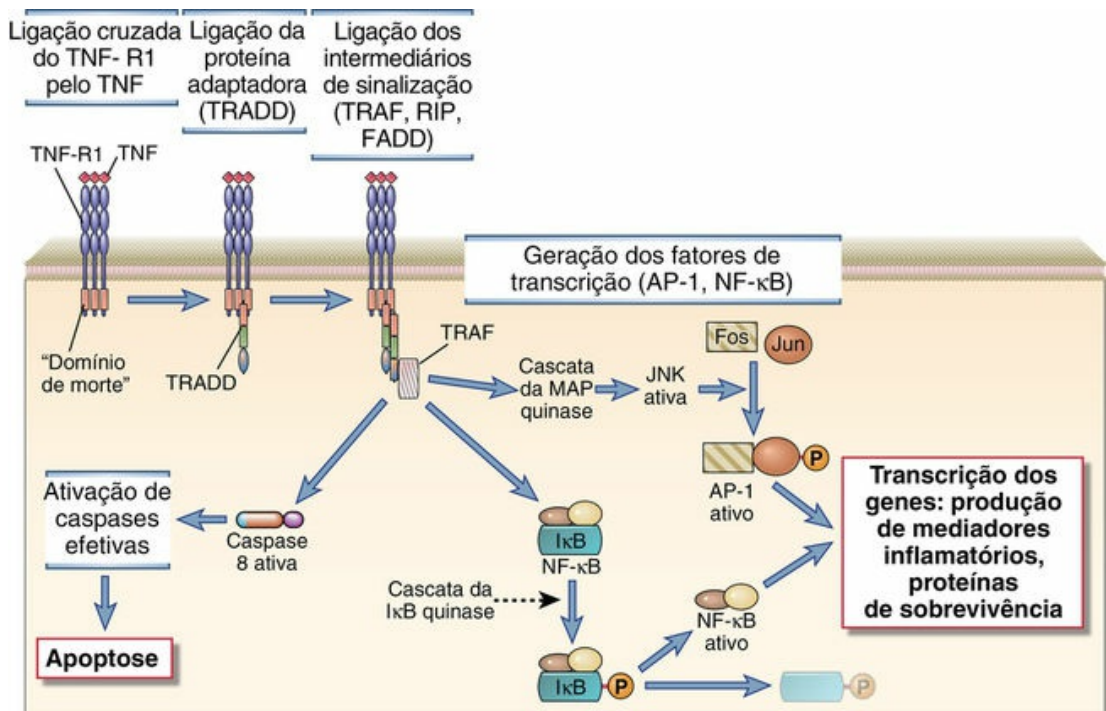
## Família de Receptor do TNF

Estes receptores são parte de uma grande família de trímeros pré-formados (alguns dos quais reconhecem ligantes associados à membrana e não são considerados receptores de citocinas) com domínios extracelulares conservados ricos em cisteína e mecanismos de sinalização intracelular compartilhados que normalmente estimulam a expressão do gene, mas, em alguns casos, induzem a apoptose. Alguns receptores importantes desta família, a maioria dos quais serão discutidos em outros capítulos em seus contextos biológicos, incluem os receptores de TNF, TNFR1 e TNFR2, a proteína CD40, Fas, o receptor de linfotoxina, e a família de receptores de Fc. Os ligantes para esses receptores também formam trímeros. Alguns destes

ligantes são ligados à membrana, ao passo que outros são solúveis.

A ligação dos ligantes para os receptores triméricos pré--formados induz tipicamente uma alteração conformacional e recruta proteínas adaptadoras para o complexo receptor. Esses adaptadores, por sua vez, recrutam de enzimas que incluem tanto ubiquitina ligases E3, que medeiam a poliubiquitinação não degradativa, quanto proteínas quinases, que iniciam a sinalização subsequente. No caso do receptor de TNF ilustrado na [Figura 7-24](#), o receptor recruta a proteína adaptadora TRADD adaptador (domínio de morte associado ao receptor de TNF), e TRADD por sua vez pode recrutar as proteínas chamadas TRAFs (fatores associados ao receptor de TNF), os quais possuem um tipo único de atividade de ligase E3, que vai ser discutida na seção sobre a sinalização de NF- $\kappa$ B. O receptor de tipo I de TNF (existem dois tipos de receptores diferentes para o TNF) e Fas (CD95) também pode recrutar adaptadores que levam à ativação da caspase 8 e assim, estes receptores podem induzir apoptose em certas células.





**FIGURA 7-24** Sinalização através do receptor de TNF pode resultar na ativação do NF-κB e da MAP quinase ou na indução de morte apoptótica.

A ligação do receptor de TNF tipo I resulta no recrutamento de uma proteína adaptadora chamada TRADD, que por sua vez pode ativar moléculas TRAF (ligases de ubiquitina E3) e a RIP1 quinase. As consequências subsequentes incluem a ativação da via NF-κB e da via da JNK MAP quinase ou a indução da morte apoptótica.

## Família da IL-1

Os receptores desta família compartilham uma sequência citossólica conservada, o chamado domínio receptor de IL-1/ tipo Toll (TIR), e estão envolvidos em vias de transdução de sinal semelhantes que induzem a nova transcrição de genes. Os receptores de sinalização do tipo Toll (TLF) foram discutidos no [Capítulo 4](#).

Resumidamente, o envolvimento de IL-1R ou de TLRs resulta na dimerização do receptor e no recrutamento de um ou mais entre os quatro adaptadores conhecidos contendo o domínio TIR para a região TIR da cauda citoplasmática do receptor. Os adaptadores de ligação de TLRs para diferentes membros da família IRAK (quinase associada ao IL-1R). As IRAKs, por sua vez, podem ligar os adaptadores para TRAF6, uma ligase de ubiquitina E3 necessária para a ativação do NF-κB. Outros eventos subsequentes da sinalização do TLR incluem a ativação da MAP quinase e a fosforilação de IRF3 e IRF7, indutores da transcrição do interferon tipo I. Este último aspecto da sinalização dos TLR tem sido considerado no contexto do estado antiviral

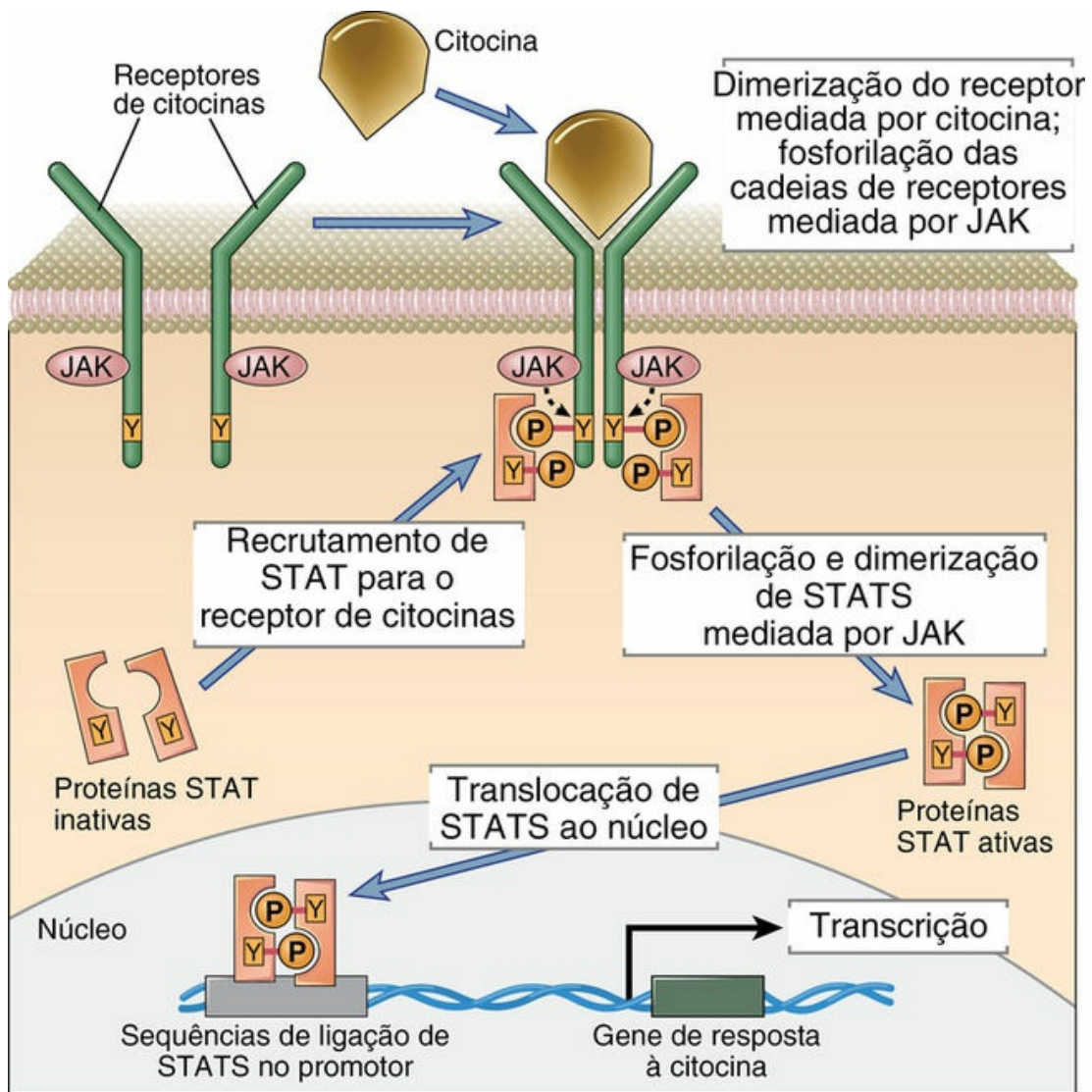


no [Capítulo 4](#). Os diferentes adaptadores ligam os TLRs à sinalização do NF- $\kappa$ B e ativação da MAP quinase, ou à ativação tardia de NF- $\kappa$ B e ativação de IRF3. Os mecanismos que conectam a sinalização de IL-1R/TLR e ativação do NF- $\kappa$ B são discutidos mais tarde.

## Sinalização por JAK-STAT

**Os receptores de citocina das famílias de receptores de tipo I e tipo II utilizam as vias de transdução de sinal que envolvem tirosinoquinases não receptoras chamados quinases de Janus (JAKs) e fatores de transcrição chamados transdutores de sinais e ativadores de transcrição (STATs).** A descoberta das vias JAK-STAT ocorreu graças a análises bioquímicas e genéticas da sinalização do interferon. Existem quatro Janus quinases conhecidas (JAKs1 a 3 e TYK2) e sete STATs (STATs1 a 4, 5a, 5b, e 6).

A sequência de eventos na sinalização das vias envolvendo JAK-STAT hoje está bem definida ([Fig. 7-25](#)). As enzimas JAK inativa estão ligadas de maneira não covalente aos domínios citoplasmáticos do tipo I e tipo II e a receptores de citocinas. Quando duas moléculas do receptor são reunidas pela ligação de uma molécula de citocina, as JAKs associadas ao receptor são ativadas e fosforilam resíduos de tirosina nas porções citoplasmáticas dos receptores agrupados. Algumas destas porções de fosfotirosina dos receptores são então reconhecidas e se ligam aos domínios de homologia 2 (SH2) da Src de proteínas STAT citossólicas monoméricas. As Proteínas STAT são assim aproximadas das JAKs e são fosforiladas por estas quinases associadas ao receptor. O domínio SH2 de um monômero de STAT é capaz de se ligar a um resíduo fosfotirosina sobre uma proteína STAT adjacente.



**FIGURA 7-25** Sinalização de JAK-STAT induzida por citocinas.

A ligação dos receptores de citocinas do tipo I e tipo II resulta na ativação de uma JAK tirosinoquinase associada, a fosforilação da cauda do receptor e o recrutamento de um ativador contendo o domínio SH2 de transcrição (STAT) para o receptor. O STAT recrutado é ativado pela fosforilação de JAK, que dimeriza, entra no núcleo e ativa a expressão de genes-alvo de citocina.

Os dímeros de STAT que são gerados migram para o núcleo, onde se ligam a sequências de DNA específicas nas regiões promotoras de genes responsáveis pelas citocinas e ativam a transcrição do gene.

Uma questão intrigante é como a especificidade das respostas a muitas citocinas diferentes é alcançada, dado o número limitado de JAKs e STATs utilizados por vários receptores de citocinas. A resposta provável é que as sequências únicas de

aminoácidos nos diferentes receptores de citocina fornecem a armação para a ligação específica, ativando então diferentes combinações de JAKs e STATs. Os domínios SH2 das diferentes proteínas STAT ligam-se seletivamente às fosfotirosinas e resíduos de diferentes receptores de citocinas. Isso é, em grande parte, responsável pela ativação de determinadas STATs por vários receptores de citocinas e, conseqüentemente, pela especificidade da sinalização de citocinas. Vários receptores de citocinas tipo I e tipo II são heterodímeros de duas cadeias polipeptídicas diferentes, cada uma das quais se liga uma JAK diferente. Além disso, duas STATs diferentes podem formar heterodímeros na fosforilação. Desta maneira, existe uma quantidade significativa de combinações em que a sinalização pode ser gerada a partir de um número limitado de proteínas JAK e STAT.

Várias JAKs e STATs são relevantes para doenças humanas e são alvos de agentes terapêuticos. O subconjunto de tipo I dos membros da família de receptores de citocina que utilizam a cadeia comum  $\gamma$  (CD132; [Figura 7-23, B](#)) utiliza a JAK3 quinase para sinalização. A JAK3 é a única JAK quinase que não é expressa ubiquamente; a sua expressão está restrita a células do sistema imunológico e é somente ativada pela cadeia comum  $\gamma$  contendo receptores de citocinas. Como discutido no [Capítulo 21](#), a cadeia comum  $\gamma$  é codificada por um gene ligado ao X e mutações neste gene são a causa da imunodeficiência severa combinada ligadas ao X (X-SCID). As mutações autossômicas recessivas no gene que codifica a JAK3 contribuem para um fenótipo semelhante. Os receptores de citocina do tipo I da família de IL-6 ([Fig. 7-23, B](#)) utilizam a JAK2 para ativar STAT3. Um número de outras citocinas também ativam STAT3. Como discutido nos [Capítulos 4 e 10](#), a sinalização de IL-6 contribui para a inflamação tanto no contexto da imunidade inata quanto na geração de respostas  $T_H17$ . As mutações em STAT3 dominantes heterozigotas negativas são uma das causas da síndrome de hiper IgE, também chamada síndrome de Jó, uma imunodeficiência associada a defeitos nas respostas  $T_H17$  ([Capítulo 21](#)). As mutações de ativação de STAT3 são características de grandes leucemias linfocíticas granulares que envolvem expansões de células NK ou de células T  $CD8^+$ . Em geral, as mutações germinativas com perda de função em certas JAKs e STATs contribuem para síndromes de imunodeficiência primárias e mutações ativadoras somáticas em STATs estão associadas a uma série de malignidades. Os antagonistas de JAK têm sido desenvolvidos para o tratamento de alguns tipos de leucemia que apresentam mutações nessa via e mais recentemente para o tratamento de doenças inflamatórias, incluindo artrite reumatoide.

As citocinas ativam vias de sinalização e fatores de transcrição, além dos JAKs e STATs. Por exemplo, a cadeia  $\beta$  do receptor de IL-2 ativa as vias da MAP quinase dependente de Ras que podem estar envolvidas na transcrição do gene e na estimulação do crescimento. Outros receptores de citocinas podem igualmente ativar as outras vias de sinalização em conjunto com as vias JAK-STAT, para esclarecer as respostas biológicas às citocinas.

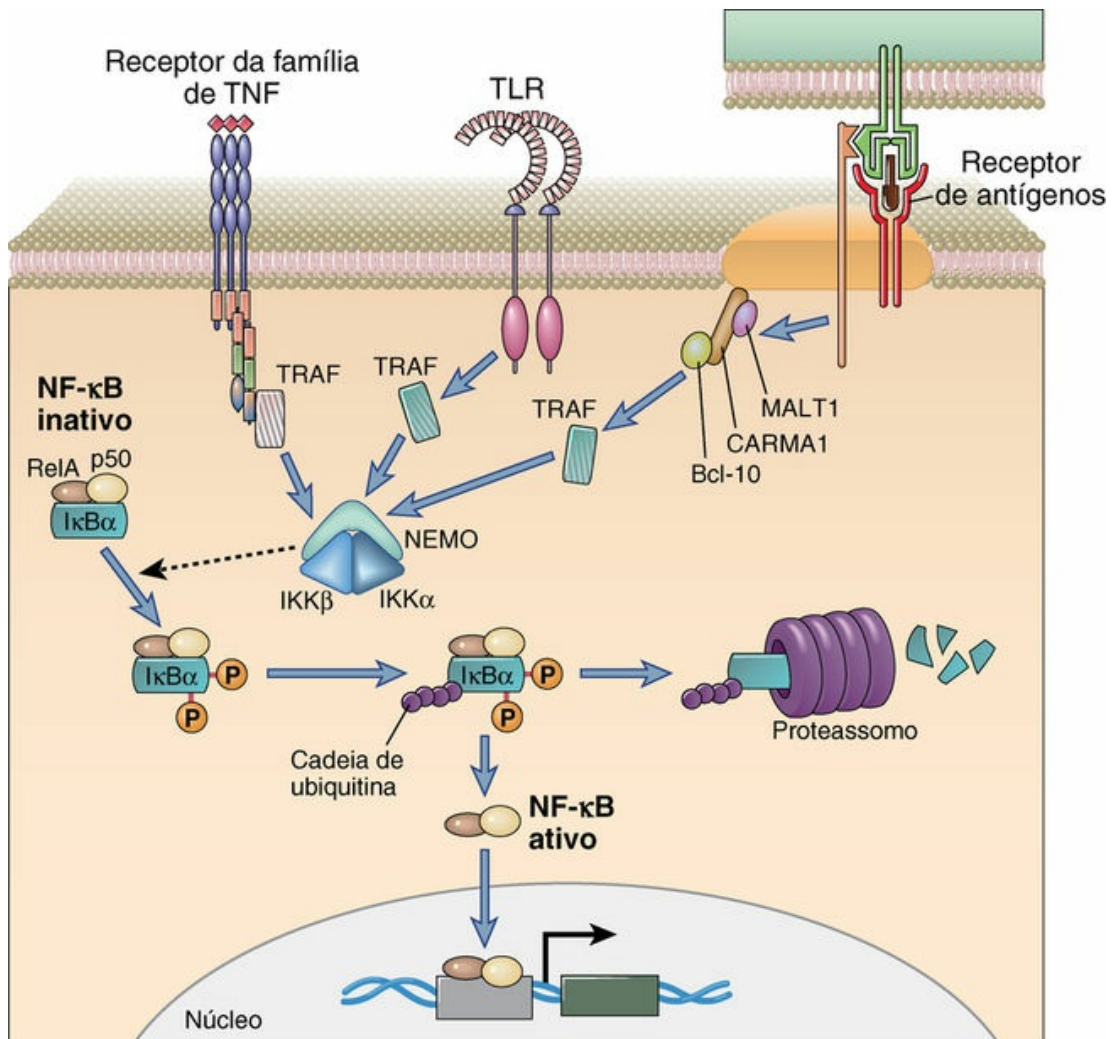
Vários mecanismos de regulação negativa das vias JAK-STAT já foram identificados. As proteínas chamadas de supressoras da sinalização de citocinas (SOCS) podem ser identificadas pela presença de um domínio SH2 e uma região C-terminal conservada de 40 aminoácidos chamada de caixa SOCS. As proteínas SOCS servem como adaptadores de multissubunidades para a atividade da ligase E3. Eles podem se ligar à STATs e JAKs ativadas e as ligases E3 diretamente associadas provocam a ubiquitinação das JAKs e dos STATs, orientando-as, assim, para a degradação proteossomal. Os níveis de proteína SOCS podem ser regulados por ligantes do TLR, pelas próprias citocinas e por outros estímulos. Desta forma, as SOCS servem como reguladores negativos da ativação de células mediada por citocinas. Outros inibidores da sinalização de JAK-STAT incluem fosfatases de tirosina, tais como a SHP-1 e SHP-2, que podem desfosforilar e conseqüentemente desativar as moléculas JAK. Uma outra família de proteínas inibitórias chamadas de proteínas inibidoras do STAT ativado (PIAS), liga-se aos STATs fosforilados e impede sua interação com o DNA. Sabe-se agora que as proteínas PIAS também interagem e bloqueiam a função de outros fatores de transcrição relacionados com a sinalização de citocinas, incluindo NF- $\kappa$ B e SMADs (fatores de transcrição subsequentes dos membros da família do receptor de TGF- $\beta$ ).

## Vias de Ativação do NF- $\kappa$ B

***O NF- $\kappa$ B é um fator de transcrição que desempenha um papel central na inflamação, na ativação de linfócitos, na sobrevivência de células e na formação de órgãos linfoides secundários.*** É também um componente importante no desenvolvimento dos linfócitos e na patogênese de muitos cânceres, incluindo neoplasias malignas derivadas de linfócitos ativados. O NF- $\kappa$ B é ativado por muitas citocinas e estímulos de TLR e pelo reconhecimento de antígeno e é discutido aqui como o protótipo de um fator de transcrição com papéis fundamentais na imunidade inata e adaptativa.

Existem cinco proteínas NF- $\kappa$ B. O domínio que é comum a todas as proteínas NF- $\kappa$ B é um domínio de ligação ao DNA chamado um domínio de homologia Rel. Para um fator de transcrição ser ativo, ele deve tanto ligar-se ao DNA quanto conter um domínio de ativação que pode facilitar a iniciação da transcrição. Três proteínas NF- $\kappa$ B têm os domínios da homologia Rel e domínios de ativação. Estes são p65/RelA, RelB, e c-Rel. As proteínas NF- $\kappa$ B1/p50 e NF- $\kappa$ B2/p52 contêm um domínio de homologia Rel de ligação ao DNA, mas faltam os domínios de ativação. NF- $\kappa$ B1 tipicamente forma heterodímeros ativos com p65/RelA ou com c-Rel, e estes heterodímeros são tipicamente considerados heterodímeros canônicos do NF- $\kappa$ B (Fig. 7-26). Os heterodímeros canônicos do NF- $\kappa$ B residem no citoplasma ligados a um inibidor de NF- $\kappa$ B chamado I $\kappa$ B $\alpha$ . Os heterodímeros canônicos do NF- $\kappa$ B são ativados por um número de receptores de sinalização que direcionam a inflamação ou a ativação de

linfócitos.



**FIGURA 7-26** Via canônica do NF-κB.

Os receptores de antígeno ativam PKCs específicas que ativam o complexo CARMA1/Bcl-10/MALT1, que por sua vez contribui para a indução de uma ligase E3 TRAF que pode realizar a poliubiquitinação de Nemo/IKK $\gamma$ , um componente do complexo da I $\kappa$ B quinase (IKK), que formam cadeias de ubiquitina do tipo lisina 63. Isto conduz à fosforilação e ativação de IKK $\beta$  por uma quinase subsequente. O IKK $\beta$  fosforila o inibidor de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B $\alpha$ ) e é direcionado para a poliubiquitinação da lisina 48 e degradação proteossomal. A degradação de I $\kappa$ B $\alpha$  conduz à entrada do NF- $\kappa$ B ativo para o núcleo. Os TLR, membros da família de IL-1R, e vários membros da família do receptor de TNF ativam os membros da família TRAF que podem ativar esta via.



Como já observamos anteriormente neste capítulo, os TLRs, o BCR, o TCR e muitos receptores de citocinas das famílias do TNF e da IL-1R ativam o NF- $\kappa$ B e descreveremos a via comum envolvida na ativação canônica da sinalização de NF- $\kappa$ B. Esta via de NF- $\kappa$ B induz o direcionamento e a degradação de I $\kappa$ B $\alpha$ , permitindo ao fator de transcrição NF- $\kappa$ B heterodimérico migrar para o núcleo. A maioria dos receptores que ativam NF- $\kappa$ B o fazem induzindo esta via. Dois tipos muito diferentes de eventos de poliubiquitinação são necessários para a ativação canônica do NF- $\kappa$ B. Existem alguns passos comuns da via canônica que se aplicam a todos os eventos de sinalização subsequentes.

- A sinalização precedente leva à ativação de um único tipo de ubiquitina ligase E3 que pode adicionar uma cadeia de ubiquitina do tipo lisina-63 a uma proteína chamada de NEMO ou IKK $\gamma$  que é uma subunidade não catalítica de um complexo enzimático trimérico denominado o complexo quinase I $\kappa$ B (IKK). Este complexo contém duas outras subunidades chamadas IKK $\alpha$  e IKK $\beta$ , ambas as quais têm o potencial de serem quinases serina/treonina cataliticamente ativas. A ubiquitinação de NEMO permite a IKK $\beta$  para ser ativada por uma quinase precedente.
- A IKK $\beta$  ativa fosforila a proteína inibidora ligada ao NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B $\alpha$ , em dois resíduos de serina específicos e assim marca esta proteína para a ubiquitinação de lisina-48.
- A I $\kappa$ B $\alpha$  poliubiquitinada é alvo de degradação no proteossoma e o heterodímero canônico NF- $\kappa$ B é liberado para entrar no núcleo (Fig. 7-26).

Foi discutido anteriormente como a sinalização do TCR e do BCR contribui para a ativação da PKC- $\theta$  e PKC- $\beta$ , respectivamente. Essas PKC podem fosforilar uma proteína chamada CARMA1 que forma um complexo com duas proteínas chamadas Bcl-10 e MALT1. O complexo CARMA1/MALT1/Bcl-10 pode contribuir para a ativação de uma ligase de ubiquitina E3 do tipo lisina-63 de chamada de TRAF6. A TRAF6 ativa pode ativar TAK1 e também adicionar uma cadeia de ubiquitina do tipo lisina-63 à NEMO, facilitando assim a ativação de IKK $\beta$ . O TLR e o IL-1R também ativam TRAF6 para iniciar a ativação IKK. Muitos membros da família do receptor de TNF, incluindo o receptor do TNF e CD40 podem ativar canônica de sinalização NF- $\kappa$ B por meio da ativação de outras proteínas TRAF, tais como TRAF2, TRAF3, e TRAF5.

Os heterodímeros de NF- $\kappa$ B2 e RelB compõem uma forma não canônica de NF- $\kappa$ B, e estes heterodímeros são ativados por uma via de sinalização distinta particularmente importante para a biogênese dos órgãos linfoides e para a sobrevivência dos linfócitos B imaturos. Os dois receptores principais que induzem a via de NF- $\kappa$ B não canônica ou alternativa, o LT $\beta$ R (receptor de linfotóxina  $\beta$ ) e o BAFFR (Receptor BAFF), ativam um complexo tipo IKK que contém homodímeros IKK $\alpha$ . Isso leva à ubiquitinação e degradação de uma parte do dímero NF- $\kappa$ B-RelB e à liberação da proteína ativa.

## Resumo



Os receptores de sinalização normalmente estão localizados na superfície celular e iniciam a sinalização no citosol, em seguida, ocorre uma fase nuclear durante a qual a expressão do gene é alterada.

Muitos tipos diferentes de receptores de sinalização contribuem para a imunidade inata e adaptativa, uma das categorias mais importantes são os receptores do sistema imunológico que pertencem a uma família de receptores em que as tirosinoquinases não receptoras fosforilam os motivos ITAM contendo tirosina nas caudas citoplasmáticas de proteínas no complexo receptor.

Alguns dos outros tipos de receptores de interesse na imunologia incluem os da família de receptores tirosinoquinase, os receptores nucleares, receptores serpentina heterotriméricos acoplados à proteína G, e receptores da família Notch. Os receptores de antígenos em células T e B, bem como os receptores de Fc de Ig, são membros da família de receptores imunes.

Receptores de antígeno podem produzir resultados muito diferentes, dependendo da afinidade e da valência do antígeno que pode recrutar diferentes números de ITAMs.

Os correceptores, tais como o CD4 ou CD8 nas células T e CD21 (CR2) em células B, melhoram a sinalização dos receptores de antígenos. Os correceptores ligam-se ao mesmo complexo antigênico que está sendo reconhecido pelo receptor de antígenos.

A sinalização de receptores de antígenos pode ser atenuada por receptores inibitórios.

O complexo TCR é formado por cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR que contribuem para o reconhecimento do antígeno e pelas cadeias de sinalização contendo ITAM CD3  $\gamma$ ,  $\delta$ , e  $\epsilon$ , bem como o homodímero  $\zeta$ . As cadeias CD3 contêm um ITAM cada, ao passo que cada cadeia  $\zeta$  contém três ITAMs.

A ligação do TCR resulta na fosforilação das tirosinas do CD3 e dos ITAMs  $\zeta$  por quinases da família Src e o recrutamento de ZAP-70 para os fosfo-ITAMs, no qual cada domínio SH2 de ZAP-70 se liga a uma tirosina de ITAM fosforilada.

A ZAP-70 ativada fosforila resíduos de tirosina nos adaptadores, e enzimas subsequentes são recrutadas para o sinalossomo.

As enzimas que medeiam a troca de GTP para GDP em proteínas G pequenas como Ras e Rac ajudam a iniciar as vias da MAP quinase. Estas vias levam à indução ou ativação dos fatores de transcrição tais como Jun e Fos, componentes do fator de transcrição AP-1.

A ativação da PLC $\gamma$ 1 leva à liberação de IP3 de PIP2, e IP3 induz a liberação de cálcio dos estoques intracelulares. O esgotamento de cálcio a partir de armazenamentos intracelulares facilita a abertura de CRAC, um canal operado por armazenamento na superfície da célula que mantém os níveis do cálcio intracelular aumentados. O cálcio se liga à calmodulina e ativa as proteínas subsequentes, incluindo a calcineurina, uma fosfatase que facilita a entrada do fator de transcrição

NFAT no núcleo.

O diacilglicerol é gerado na membrana quando a PLC $\gamma$ 1 libera IP3 de PIP2. O DAG pode ativar a PKC- $\theta$ , que, entre outras coisas, pode contribuir para a ativação do NF- $\kappa$ B.

Uma quinase lipídica chamada PI3-quinase converte o PIP2 em PIP3. O PIP3 pode recrutar e ativar proteínas que contêm o domínio PH para a membrana plasmática. O PIP3 ativa a Itk em células T e a Btk em células B. Ele ativa a PDK1, uma quinase que pode fosforilar a uma quinase subsequente chamada Akt que medeia a sobrevivência celular.

Os receptores coestimulatórios iniciam a sinalização separadamente dos receptores de antígeno, mas os estímulos da sinalização a partir de receptores de antígenos e de receptores coestimuladores produzem efeitos sinérgicos no núcleo. O maior receptor coestimulatório nas células T é o CD28.

A sinalização de células T pode ser inibida pelas fosfatases que podem ser recrutadas por esses receptores inibitórios como CTLA-4 e DP-1.

A sinalização de células T também é atenuada pelas ligases de ubiquitina E3, que podem contribuir para o monoubiquitinação e degradação lisossomal de proteínas de sinalização ativadas.

O receptor de células B é constituído por imunoglobulinas ligadas à membrana e um heterodímero de Ig $\alpha$  e Ig $\beta$  ligados por pontes dissulfeto associadas. Tanto Ig $\alpha$  quanto Ig $\beta$  contêm motivos ITAM nas suas caudas citoplasmáticas. As vias de sinalização ligadas ao BCR são muito semelhantes às vias de sinalização subsequentes ao TCR.

A atenuação da sinalização do receptor imune nas células B, nas células T, e nas células NK, entre outras, é mediada por receptores inibitórios que frequentemente contêm motivos contendo inibidores de tirosina ou ITIMs em suas caudas citoplasmáticas.

Outro importante mecanismo de atenuação de sinal envolve a ubiquitinação de proteínas de sinalização por ubiquitina ligases E3.

Os receptores de citocinas podem ser divididos em algumas categorias amplas com base em considerações estruturais e mecanismos de sinalização.

Muitos receptores de citocinas usam tirosinoquinasas não receptoras chamadas JAKs para fosforilar os fatores de transcrição chamados STATs.

Alguns receptores de citocinas, tais como os da família de receptores do TNF ativam ou tanto a via canônica como a não canônica de sinalização de NF- $\kappa$ B.

A sinalização canônica do NF- $\kappa$ B é ativada dos diversos receptores, incluindo os receptores da família de citocinas de TNF, os receptores TLR, os membros da família de IL-1R, e os receptores de antígenos. A via envolve a ativação de IKK $\beta$  no complexo IKK, a fosforilação do inibidor I $\kappa$ B $\alpha$  ativado por IKK $\beta$ , a ubiquitinação e degradação proteossômica de I $\kappa$ B $\alpha$  e transporte de NF- $\kappa$ B para o núcleo.

## Leituras selecionadas

### Sinalização pelos Receptores Imunológicos

- Call, M. E., Wucherpfennig, K. W. Common themes in the assembly and architecture of activating immune receptors. *Nature Reviews Immunology*. 2007; 7:841–850.
- Cannons, J. L., Tangye, S. G., Schwartzberg, P. L. SLAM family receptors and SAP adaptors in immunity. *Annual Review of Immunology*. 2011; 29:665–705.
- Vallabhapurapu, S., Karin, M. Regulation and function of NF- $\kappa$ B transcription factors in the immune system. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:693–733.
- Yuan, J. S., Kousis, P. C., Suliman, S., Visan, I., Guidos, C. J. Functions of notch signaling in the immune system: consensus and controversies. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:343–365.

### Estrutura e Sinalização do Receptor das Células T

- Brownlie, R. J., Zamoyska, R. T cell receptor signaling networks: branched, diversified, and bonded. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:257–269.
- Burkhardt, J. K., Carrizosa, E., Shaffer, M. H. The actin cytoskeleton in T cell activation. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:233–259.
- Fooksman, D. R., Vardhana, S., Vasiliver-Shamis, G., Liese, J., Blair, D. A., Waite, J., Sacristan, C., Victora, G. D., Zanin-Zhorov, A., Dustin, M. L. Functional anatomy of T cell activation and synapse formation. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:79–105.
- Gallo, E. M., Cante-Barrett, K., Crabtree, G. R. Lymphocyte calcium signaling from membrane to nucleus. *Nature Immunology*. 2006; 7:25–32.
- Hogan, P. G., Lewis, R. S., Rao, A. Molecular basis of calcium signaling in lymphocytes: STIM and ORAI. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:491–533.
- Kuhns, M. S., Davis, M. M., Garcia, K. C. Deconstructing the form and function of the TCR/CD3 complex. *Immunity*. 2006; 24:133–139.
- MacIver, N. J., Michalek, R. D., Rathmell, J. C. Metabolic regulation of T lymphocytes. *Annual Review of immunology*. 2013; 31:259–283.
- Okkenhaug, K. Signaling by the phosphoinositide 3-kinase family in immune cells. *Annual Review of immunology*. 2013; 31:675–704.
- Pearce, E. L., Poffenberger, M. C., Chang, C. H., Jones, R. G. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science*. 2013; 342:1242454.
- Rudolph, M. G., Stanfield, R. L., Wilson, I. A. How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:419–466.
- Smith-Garvin, J. E., Koretzky, G. A., Jordan, M. S. T cell activation. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:591–619.

van der Merwe, P., Dushek, O. Mechanisms for T cell receptor triggering. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:47–55.

Waickman, A. T., Powell, J. D. Mammalian target of rapamycin integrates diverse inputs to guide the outcome of antigen recognition in T cells. *Journal of Immunology*. 2012; 188:4721–4729.

### **Estrutura e Sinalização dos Receptores das Células B**

Harwood, N. E., Batista, F. D. Early events in B cell activation. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:185–210.

Kurosaki, T., Shinohara, H., Baba, Y. B cell signaling and fate decision. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:21–55.

### **Atenuação dos Sinais nos Linfócitos**

Acuto, O., Bartolo, V. D., Michel, F. Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:699–712.

Pao, L. I., Badour, K., Siminovitch, K. A., Neel, B. G. Nonreceptor protein-tyrosine phosphatases in immune cell signaling. *Annual Review of Immunology*. 2007; 25:473–523.

Smith, K. G., Clatworthy, M. R. FcγRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:328–343.

Sun, S. C. Deubiquitylation and regulation of the immune response. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:501–511.

### **Receptores de Citocinas**

O’Shea, J. J., Holland, S. M., Staudt, L. M. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. *New England Journal of Medicine*. 2013; 368:161–170.

## CAPÍTULO 8

# Desenvolvimento de Linfócitos e Rearranjo dos Genes dos Receptores de Antígenos

### VISÃO GERAL DO DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS

Comprometimento com as Linhagens de Células B e T e Proliferação de Progenitores

Epigenética, MicroRNAs e Desenvolvimento de Linfócitos

Rearranjo e Expressão dos Genes dos Receptores de Antígenos

Processos de Seleção que Moldam o Repertório dos Linfócitos B e T

### REARRANJO DOS GENES DOS RECEPTORES DE ANTÍGENOS NOS LINFÓCITOS B E T

Organização dos Genes das Ig e do TCR nas Linhagens Germinativas  
Recombinação V(D)J

Geração da Diversidade nas Células B e T

### DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS B

Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos B

Seleção do Repertório de Células B Maduras

### DESENVOLVIMENTO DOS LINFÓCITOS T

Papel do Timo na Maturação da Célula T

Estágios de Maturação das Células T

Processos da Seleção na Maturação das Células T  $\alpha\beta$  Restritas ao MHC

Linfócitos T  $\gamma\delta$

### RESUMO

Linfócitos expressam receptores de antígenos altamente diversos que são capazes de reconhecer uma grande variedade de substâncias estranhas. Esta diversidade é gerada durante o desenvolvimento dos linfócitos B e T maduros a partir de células precursoras que não expressam receptores de antígenos e não podem reconhecer e responder aos antígenos. O processo pelo qual os progenitores dos

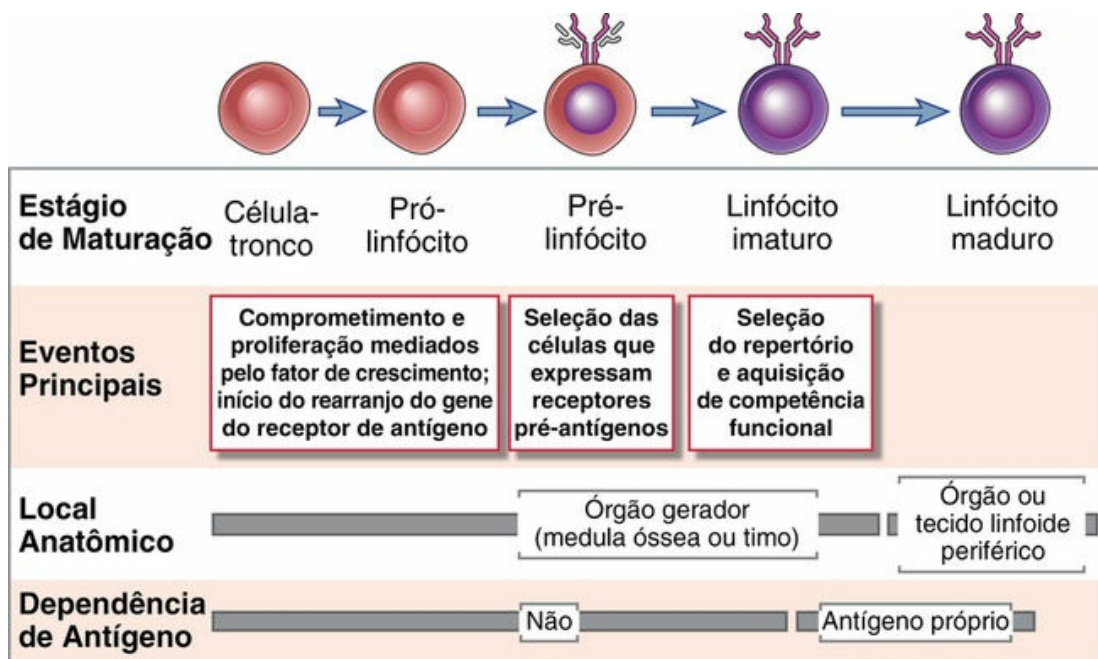
linfócitos no timo e na medula óssea se diferenciam em linfócitos maduros localizados em tecidos linfoides periféricos é denominado **desenvolvimento de linfócitos** ou **maturação de linfócitos** (os termos desenvolvimento e maturação são usados alternativamente neste contexto). A grande coleção de diferentes receptores de antígenos — portanto, especificidades — expressos por linfócitos B e T é produzida durante a maturação destas células. A maturação é iniciada por sinais de receptores de superfície celular que têm duas funções principais: eles promovem a proliferação de progenitores e iniciam o rearranjo dos genes dos receptores de antígenos específicos. O rearranjo dos genes dos receptores de antígenos é um evento-chave no comprometimento de uma célula progenitora com a linhagem de linfócitos B ou T.

Começamos este capítulo considerando o processo de comprometimento com a linhagem de linfócitos B e T e discutindo alguns princípios e mecanismos comuns de desenvolvimento de células B e T. Em seguida, há uma descrição dos processos que são particulares do desenvolvimento de células B e, então, daqueles particulares das células T.

## Visão geral do desenvolvimento de linfócitos

A maturação dos linfócitos B e T envolve uma série de eventos que ocorrem nos órgãos linfoides geradores (Fig. 8-1). Estes eventos incluem os seguintes:





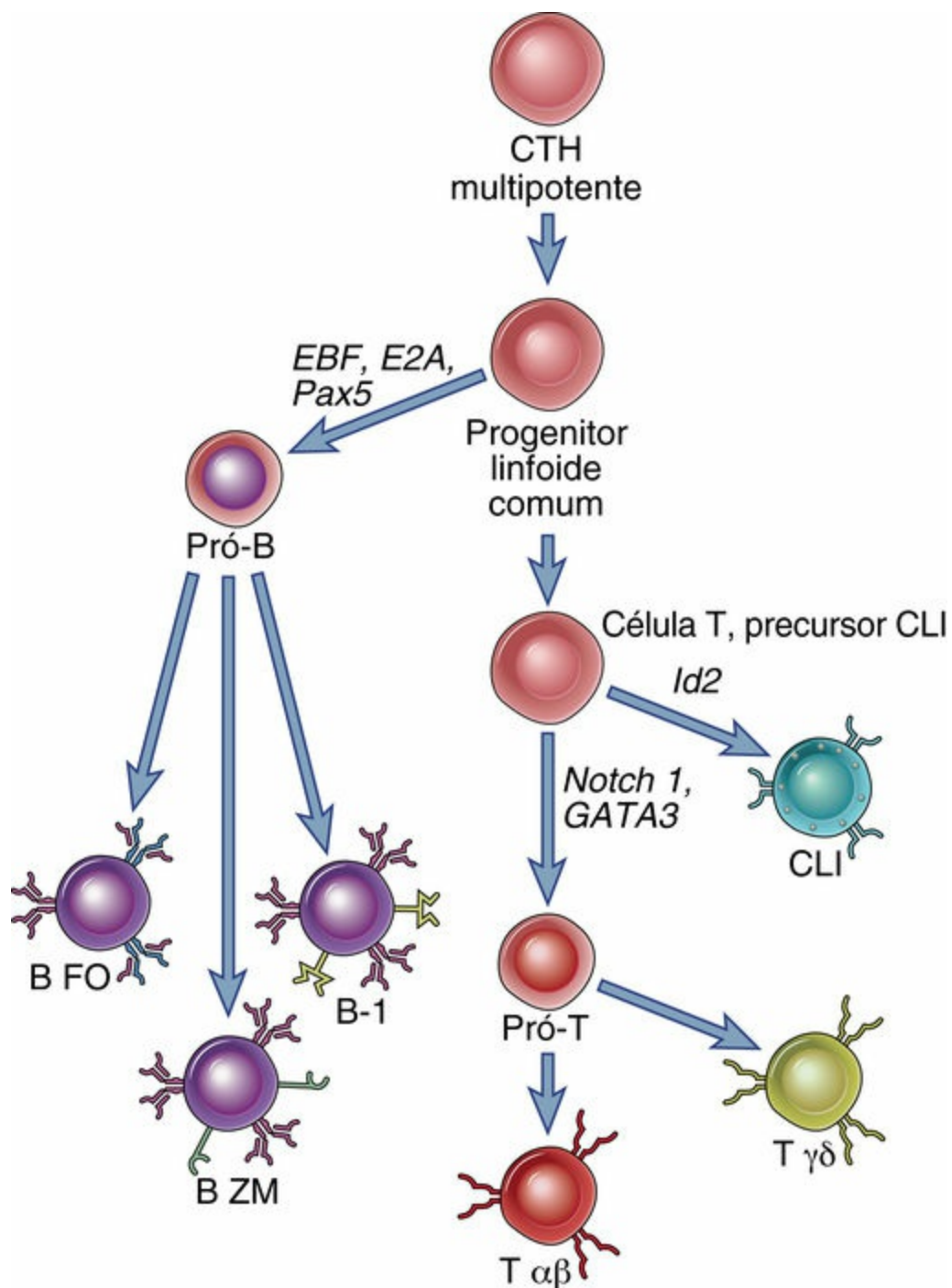
**FIGURA 8-1** Estágios da maturação de linfócitos.

O desenvolvimento de ambos os linfócitos B e T envolve a sequência de estágios de maturação apresentada. A ilustração mostra a maturação das células B, mas os estágios básicos da maturação das células T são semelhantes.

- **O comprometimento de células progenitoras** com a linhagem linfoide B ou linfoide T.
- **Proliferação** de progenitoras e células imaturas comprometidas em estágios iniciais específicos do desenvolvimento, proporcionando um grande reservatório de células capazes de gerar linfócitos úteis.
- **O rearranjo sequencial e ordenado dos genes dos receptores de antígenos** e a expressão de proteínas dos receptores de antígenos (os termos rearranjo e recombinação são usados alternadamente).
- **Eventos de seleção** que preservam as células que produziram proteínas receptoras de antígeno funcionais e eliminam células potencialmente perigosas que reconhecem fortemente antígenos próprios. Esses pontos de controle durante o desenvolvimento asseguram o amadurecimento dos linfócitos que expressam os receptores funcionais com especificidades úteis e sua entrada no sistema imune periférico.
- **Diferenciação das células B e T em subpopulações funcionalmente e fenotipicamente distintas.** As células B se desenvolvem em células foliculares, da zona marginal e B-1, e as células T se desenvolvem em linfócitos T  $\alpha\beta$  CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, células NKT e células  $\gamma\delta$ . As funções especializadas dessas diferentes populações de linfócitos são discutidas em capítulos posteriores.

## Comprometimento com as Linhagens de Células B e T e Proliferação de Progenitores

***Células-tronco pluripotentes no fígado fetal e na medula óssea, conhecidas como células-tronco hematopoéticas (CTH), dão origem a todas as linhagens de células sanguíneas, incluindo linfócitos.*** As CTH amadurecem e geram progenitores linfóides que podem originar células B, células T, células linfóides inatas e algumas células dendríticas (Fig. 8-2). A maturação das células B a partir dos progenitores comprometidos com essa linhagem ocorre principalmente na medula óssea e, antes do nascimento, no fígado fetal. As células-tronco derivadas do fígado fetal originam principalmente um tipo de célula B denominada célula B-1, enquanto as CTH derivadas da medula óssea originam a maioria das células B circulantes (células B foliculares), bem como um subgrupo de células B, denominado células B da zona marginal. Os precursores de linfócitos T deixam o fígado fetal antes do nascimento e a medula óssea durante a vida e circulam até o timo, onde completam sua maturação. A maioria das células T, que são células T  $\alpha\beta$ , se desenvolve a partir das CTH derivadas da medula óssea, enquanto a maioria das células T  $\gamma\delta$  se origina das CTH do fígado fetal. Em geral, as células B e T que são geradas no início da vida fetal possuem receptores de antígenos menos variados. Apesar de suas diferentes localizações anatômicas, os eventos de maturação inicial de ambos os linfócitos B e T são fundamentalmente semelhantes.



**FIGURA 8-2** Células-tronco pluripotentes dão origem a diferentes linhagens B e T. As células-tronco hematopoéticas (CTH) dão origem a diferentes progenitores para vários tipos de células sanguíneas. Uma destas populações de progenitores (*mostrada aqui*) é denominada progenitor linfoide comum (PLC). Os PLCs dão origem principalmente a células B e T, mas também podem contribuir com células NK e algumas células dendríticas (*não mostradas aqui*). As células pró-B podem, eventualmente, diferenciar-se em células B foliculares

(FO), células B da zona marginal (ZM) e células B-1. As células pró-T podem comprometer-se com as linhagens de células T  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ . O comprometimento com diferentes linhagens é conduzido por vários fatores de transcrição, indicados em itálico. *CLI*, células linfoides inatas.

***O comprometimento com a linhagem B ou T depende das instruções recebidas de vários receptores de superfície celular, que induzem reguladores de transcrição específicos que levam um progenitor linfóide comum a assumir, de modo específico, o destino de uma célula B ou uma célula T.*** Os receptores de superfície celular e fatores de transcrição que contribuem para o comprometimento induzem a expressão das proteínas envolvidas em rearranjos do gene dos receptores de antígenos, descritos posteriormente no capítulo, e tornam os *loci* dos genes dos receptores de antígenos acessíveis a essas proteínas. No caso de células B em desenvolvimento, o locus da cadeia pesada da imunoglobulina (Ig), inicialmente em uma configuração inacessível à cromatina, é aberto, de modo que torna-se acessível às proteínas que medeiam o rearranjo e expressão dos genes das Ig. No desenvolvimento de células T  $\alpha\beta$ , o locus do gene  $\beta$  do receptor de células T (TCR) é o primeiro a se tornar disponível. Além dos genes envolvidos no processo do rearranjo dos genes dos receptores de antígenos, os genes que levam a uma diferenciação subsequente das células T e B são expressos neste estágio.

***Diferentes conjuntos de fatores de transcrição norteiam o desenvolvimento das linhagens de células B e T a partir de precursores não comprometidos (Fig. 8-2).*** Os fatores de transcrição Notch-1 e GATA-3 comprometem-se no desenvolvimento de linfócitos para a linhagem de células T. A família Notch de proteínas são moléculas de superfície celular clivadas proteoliticamente quando interagem com ligantes específicos nas células vizinhas. As porções intracelulares clivadas das proteínas Notch migram para o núcleo e modulam a expressão de genes-alvo específicos. A Notch-1 é ativada em células progenitoras linfóides e, juntamente com a GATA-3, induz a expressão de vários genes que são necessários para o desenvolvimento de células T  $\alpha\beta$ . Alguns destes genes codificam componentes do pré-TCR e as proteínas necessárias para a recombinação V(D)J, descrita posteriormente. Os fatores de transcrição EBF, E2A e Pax-5 induzem a expressão dos genes necessários para o desenvolvimento de células B. Estes incluem os genes que codificam as proteínas Rag-1 e Rag-2, as cadeias leves substitutas e as proteínas Ig $\alpha$  e Ig $\beta$  que contribuem para a sinalização por meio do receptor da célula pré-B e do receptor da célula B. O papel destes receptores no desenvolvimento da célula B será descrito mais adiante neste capítulo.

***Durante o desenvolvimento das células B e T, as células progenitoras comprometidas proliferam-se, primeiramente, em resposta às citocinas e,***

**posteriormente, em resposta a sinais gerados por um pré-receptor de antígeno, que seleciona as células que reorganizam de maneira efetiva o primeiro conjunto de genes dos receptores de antígenos.** A proliferação garante que um reservatório suficientemente grande de células progenitoras seja gerado para eventualmente proporcionar um repertório altamente diverso de linfócitos maduros específicos para antígenos. Em roedores, a citocina interleucina-7 (IL-7) provoca a proliferação de ambos os progenitores das células B e T; em humanos, a IL-7 é necessária para a proliferação dos progenitores das células T, mas não para progenitores na linhagem B. A IL-7 é produzida por células do estroma na medula óssea e por células epiteliais e outras células no timo. Camundongos com mutações específicas no gene da IL-7 ou no gene do receptor da IL-7 apresentam uma maturação defeituosa dos precursores de linfócitos para além dos estágios iniciais e, como resultado, deficiências profundas nas células T e B maduras. As mutações da cadeia  $\gamma$  comum, uma proteína que é compartilhada por receptores de diversas citocinas, incluindo IL-2, IL-7 e IL-15, dentre outras, dão origem a um distúrbio de imunodeficiência em humanos denominado **imunodeficiência combinada grave ligada ao X (X-SCID)** (Cap. 21). Esta doença é caracterizada por um bloqueio no desenvolvimento das células T e células NK, mas com desenvolvimento normal das células B, refletindo a necessidade da IL-7 no desenvolvimento das células T em humanos e da IL-15 para as células NK.

A maior expansão proliferativa de precursores de linfócitos ocorre após o rearranjo efetivo dos genes que codificam uma das duas cadeias do receptor de antígenos das células T ou B, produzindo um pré-receptor de antígenos (descrito posteriormente). Os sinais gerados por pré-receptores de antígenos são responsáveis por uma expansão muito maior dos linfócitos em desenvolvimento do que citocinas como IL-7.

## Epigenética, MicroRNAs e Desenvolvimento de Linfócitos

**Muitos eventos nucleares no desenvolvimento de linfócitos são regulados por mecanismos epigenéticos.** A epigenética refere-se aos mecanismos que controlam a expressão de genes (bem como o rearranjo de genes no desenvolvimento de linfócitos) que vão além da sequência concreta de DNA em genes individuais. O DNA existe em cromossomos ligados fortemente a histonas e proteínas não histonas, formando o que é conhecido como cromatina. O DNA na cromatina é enrolado em torno de um núcleo de proteína de octâmeros de histonas, formando estruturas chamadas de nucleossomos, que podem estar bem separados de outros nucleossomos ou compactados densamente. A cromatina pode, então, existir na forma de estruturas compactadas de maneira frouxa, denominadas eucromatina, em que os genes estão disponíveis e são transcritos, ou como estruturas muito compactas, denominadas heterocromatina, em que os genes são

mantidos em um estado silenciado. Deste modo, a organização estrutural de porções de cromossomos varia em diferentes células, tornando certos genes disponíveis para a ligação de fatores de transcrição, enquanto esses mesmos genes podem estar indisponíveis para fatores de transcrição em outras células.

Os mecanismos que tornam genes disponíveis ou indisponíveis na cromatina são considerados mecanismos epigenéticos. Estes incluem a metilação de DNA em certos resíduos de citosina, que geralmente silencia os genes, modificações pós-tradução das caudas das histonas dos nucleossomos (p. ex., acetilação, metilação e ubiquitinação) que pode tornar os genes ou ativos ou inativos dependendo da histona modificada e da natureza da modificação, remodelação ativa da cromatina por máquinas de proteínas denominadas complexos de remodelação que também podem acentuar ou suprimir a expressão de genes e o silenciamento da expressão gênica por RNAs não codificadores.

Vários componentes críticos do desenvolvimento de linfócitos são regulados por mecanismos epigenéticos.

- Modificações de histonas em *loci* do gene dos receptores de antígenos são necessários para o recrutamento de proteínas que medeiam a recombinação genética para formar genes funcionais de receptores de antígenos.
- O comprometimento com a linhagem CD4 em comparação com CD8 durante o desenvolvimento de células T depende de mecanismos epigenéticos que silenciam a expressão do gene CD4 nas células T CD8<sup>+</sup>. O silenciamento envolve modificações da cromatina que deixam o gene CD4 em um estado de heterocromatina inacessível.
- No [Capítulo 7](#), discutimos microRNAs (miRNAs) no contexto da ativação das células T. Eles também contribuem de forma significativa para a modulação da expressão gênica e proteica durante o desenvolvimento. Como mencionado no [Capítulo 7](#), Dicer é uma enzima-chave na geração de miRNA. A supressão de Dicer na linhagem T resulta na perda preferencial de células T reguladoras e o consequente desenvolvimento de um fenótipo autoimune semelhante ao observado na ausência de FoxP3 (discutido nos Caps. 15 e 21). A perda de Dicer na linhagem B resulta em um bloqueio na transição da célula pró-B para pré-B (discutido mais detalhadamente na seção seguinte), principalmente por ser permissivo para a apoptose de células pré-B. Os membros de uma família de miRNA específica, a família miR17-92, desempenham um papel essencial na prevenção da morte por apoptose de células pré-B, inibindo diretamente a expressão de Bim, uma proteína pró-apoptótica da família Bcl-2, e também inibindo a expressão de PTEN, uma fosfatase inositol que contribui positivamente para a indução da expressão de Bim. Estudos de ablação de genes têm revelado que outros miRNAs específicos também estão envolvidos em outras etapas no desenvolvimento das células B e T.



## Rearranjo e Expressão dos Genes dos Receptores de Antígenos

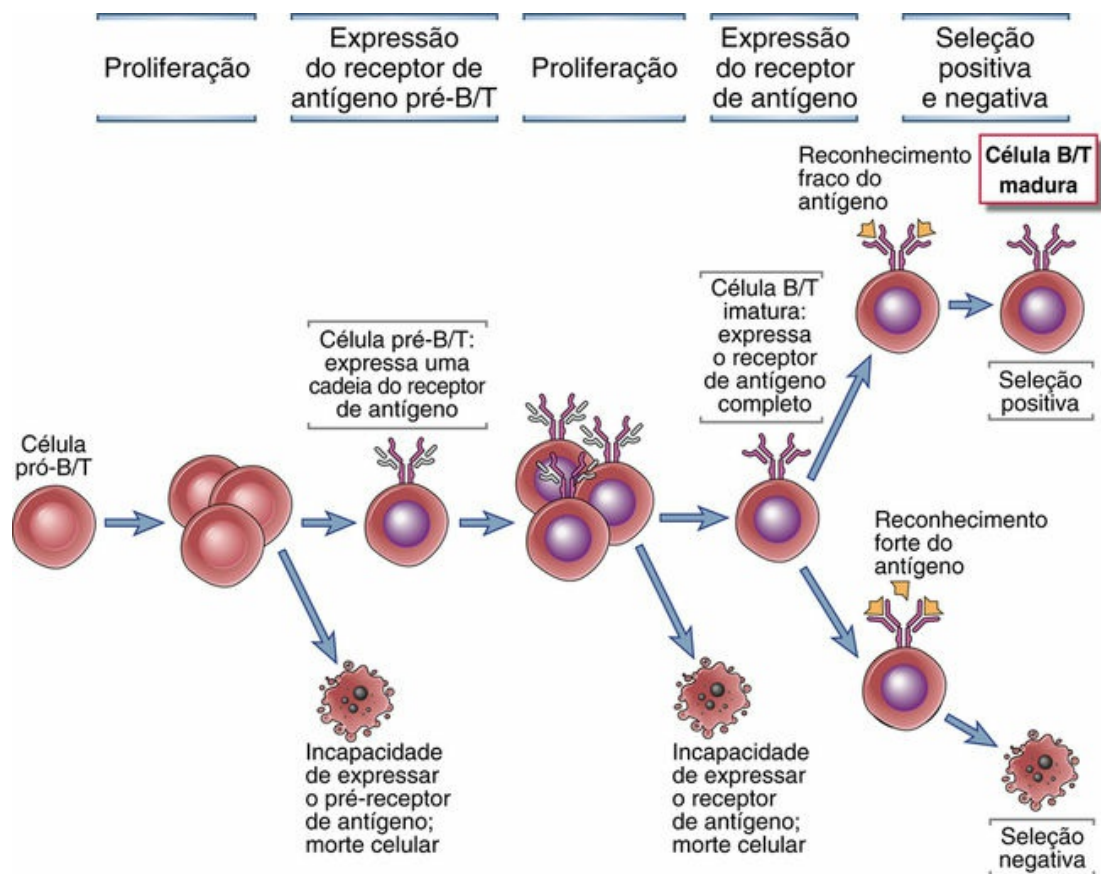
***O rearranjo dos genes dos receptores de antígenos é um evento-chave no desenvolvimento de linfócitos que é responsável pela geração de um repertório diverso.*** Conforme discutido no [Capítulo 7](#), cada clone de linfócitos B ou T produz um receptor de antígeno com uma estrutura única de ligação a antígenos. Em qualquer indivíduo, podem existir  $10^7$  ou mais clones de linfócitos B e T, cada qual com um único receptor. A capacidade de cada indivíduo de gerar estes repertórios de linfócitos extremamente diversos evoluiu de tal forma que não exige um número igualmente grande de genes de receptores de antígenos diferentes; caso contrário, grande parte do genoma seria dedicada a codificar o grande número de moléculas de Ig e TCR. Os genes de receptores de antígenos funcionais são produzidos nas células B imaturas na medula óssea e nas células T imaturas no timo por um processo de rearranjo gênico, que é capaz de gerar uma grande quantidade de éxons que codificam regiões variáveis usando uma fração relativamente pequena do genoma. Em qualquer um dos linfócitos em desenvolvimento, um dos vários segmentos gênicos da região variável é selecionado aleatoriamente e junta-se a um segmento de DNA mais abaixo na cadeia. Os eventos de rearranjo de DNA que levam à produção de receptores de antígenos não são dependentes ou influenciados pela presença de antígenos. Em outras palavras, conforme propôs a hipótese de seleção clonal, diversos receptores de antígenos são gerados e expressos antes de entrar em contato com os antígenos ([Fig. 1-7](#)). Discutiremos os detalhes moleculares do rearranjo dos genes dos receptores de antígenos mais adiante neste capítulo.

## Processos de Seleção que Moldam o Repertório dos Linfócitos B e T

***O processo de desenvolvimento de linfócitos contém numerosas etapas intrínsecas, denominadas pontos de controle, nas quais as células em desenvolvimento são testadas e somente continuam a amadurecer se a etapa anterior do processo tiver sido concluída de maneira eficaz.*** Um destes pontos de controle baseia-se na produção bem-sucedida de uma das cadeias polipeptídicas da proteína do receptor de antígeno de duas cadeias, e um segundo ponto de controle exige a montagem de um receptor completo. O requisito para cruzar esses pontos de controle garante que apenas os linfócitos que tenham concluído de modo eficaz os processos de rearranjo do gene do receptor de antígeno, ou seja, os que tendem a ser funcionais, sejam selecionados para amadurecer. Os processos de seleção adicionais ocorrem depois que os receptores de antígeno são expressos e servem para eliminar linfócitos autorreativos potencialmente nocivos e comprometer as células em desenvolvimento com determinadas linhagens. Os princípios gerais

desses eventos de seleção serão resumidos a seguir.

**Os pré-receptores de antígenos e receptores de antígenos emitem sinais a linfócitos em desenvolvimento que são necessários para a sobrevivência dessas células e sua proliferação e maturação contínua** (Fig. 8-3). Os pré-receptores de antígenos, denominados pré-BCRs nas células B e de pré-TCRs nas células T, são estruturas de sinalização expressas durante o desenvolvimento das células B e T que contêm apenas uma das duas cadeias polipeptídicas presentes em um receptor de antígeno maduro. Os pré-BCRs contêm a cadeia pesada  $\mu$  das Ig e os pré-TCRs contêm a cadeia  $\beta$  do TCR. Para expressar as proteínas  $\mu$  das Ig e  $\beta$  do TCR, as células B ou T devem sofrer rearranjos no gene do receptor de antígeno. Isto envolve a abertura de um locus específico do gene do receptor (como um locus do gene do TCR nas células e um locus do gene das Ig nas células B) e a junção de segmentos de DNA nesse locus para gerar um gene de receptor de antígeno funcional. Durante este processo, bases são acrescentadas ou removidas aleatoriamente entre os segmentos gênicos que estão sendo unidos, maximizando, então, a variabilidade entre receptores. Nas células B em desenvolvimento, o primeiro gene de receptor de antígeno a ser completamente rearranjado é o gene da cadeia pesada das Ig (IgH) (embora a convenção normal seja a de usar itálico para nome de genes, neste capítulo, nos referimos a genes, *loci* de genes, segmentos gênicos e éxons, e estes não foram deixados em itálico para manter a simplicidade). Nas células T  $\alpha\beta$ , a cadeia  $\beta$  do TCR é a primeira a ser rearranjada. As células da linhagem de linfócitos B nas quais o rearranjo dos genes da cadeia pesada das Ig foi bem-sucedido expressam a proteína da cadeia pesada  $\mu$  e montam um pré-receptor de antígenos conhecido como pré-BCR. De maneira análoga, as células T em desenvolvimento que realizam um rearranjo produtivo do gene da cadeia  $\beta$  do TCR sintetizam a proteína da cadeia  $\beta$  do TCR e montam um pré-receptor de antígeno conhecido como pré-TCR. Apenas cerca de uma em três células B e T em desenvolvimento que realizam o rearranjo de um gene de receptor de antígenos realiza um rearranjo interno e, portanto, é capaz de gerar uma proteína integral apropriada. Se as células realizam rearranjos externos nos *loci* da cadeia  $\mu$  das Ig ou  $\beta$  do TCR, não ocorre expressão dos pré-receptores de antígenos, as células não recebem os sinais de sobrevivência necessários e sofrem morte celular programada. Os complexos pré-BCR e pré-TCR fornecem sinais para a sobrevivência, proliferação, para o fenômeno de exclusão alélica (discutido posteriormente) e para a continuação do desenvolvimento das células da linhagem B e T em maturação. Assim, a expressão dos pré-receptores de antígenos é o primeiro ponto de controle durante o desenvolvimento de linfócitos.



**FIGURA 8-3** Pontos de controle na maturação dos linfócitos.

Durante o desenvolvimento, os linfócitos que expressam receptores necessários para continuar sua proliferação e maturação são selecionados para sobreviver, enquanto as células que não expressam receptores funcionais morrem por apoptose. A seleção positiva e a seleção negativa preservam as células com especificidades úteis. A presença de múltiplos pontos de controle garante que somente células com receptores úteis completem sua maturação.

**As células B e T em desenvolvimento expressam receptores de antígenos completos e são selecionadas para a sobrevivência com base no que esses receptores podem ou não reconhecer.** Os linfócitos cuja passagem pelo ponto de controle tenha sido bem-sucedida seguem ao rearranjo e expressão de genes que codificam a segunda cadeia do BCR ou TCR e expressam o receptor de antígeno completo enquanto ainda estão imaturos. Neste estágio imaturo, as células potencialmente nocivas que reconhecem fortemente estruturas próprias podem ser eliminadas ou induzidas a alterar os seus receptores de antígenos, e as células que expressam receptores de antígenos úteis podem ser preservadas (Fig. 8-3). O processo denominado **seleção positiva** facilita a sobrevivência dos linfócitos potencialmente úteis e este evento de desenvolvimento está ligado ao comprometimento à linhagem, processo pelo qual os subgrupos de linfócitos são

gerados. Na linhagem de células T, a seleção positiva garante a maturação das células T cujos receptores reconhecem moléculas de MHC próprias. Além disso, a expressão do correceptor adequado em uma célula T (CD8 ou CD4) é combinada com o reconhecimento do tipo adequado de molécula de MHC (MHC classe I ou MHC classe II, respectivamente). As células T maduras cujos precursores tenham sido selecionados positivamente por moléculas de MHC próprio no timo são capazes de reconhecer antígenos de peptídeos estranhos apresentados pelas mesmas moléculas de MHC próprio em células apresentadoras de antígenos em tecidos periféricos. Na linhagem de células B, a seleção positiva preserva as células que expressam receptores e está associada à geração de diferentes subgrupos, discutida mais tarde.

A **seleção negativa** é o processo que elimina ou altera os linfócitos em desenvolvimento cujos receptores de antígenos ligam-se fortemente a antígenos próprios presentes nos órgãos linfoides geradores. Ambas as células B e T em desenvolvimento são suscetíveis à seleção negativa durante um breve período após a expressão inicial dos receptores de antígenos. As células T em desenvolvimento com uma alta afinidade por antígenos próprios são eliminadas por apoptose, um fenômeno conhecido como **deleção clonal**. Células B imaturas altamente autorreativas podem ser induzidas a realizar mais rearranjos no gene das Ig e, assim, evitar a autorreatividade. Este fenômeno é denominado **edição do receptor**. Se a edição falha, as células B autorreativas morrem, processo também denominado deleção clonal. A seleção negativa de linfócitos imaturos é um mecanismo importante para a manutenção da tolerância a muitos antígenos próprios; isso também é denominado **tolerância central** porque se desenvolve nos órgãos linfoides centrais (geradores) (Cap. 15).

Com esta introdução, seguiremos a uma discussão mais detalhada sobre a maturação dos linfócitos, começando pelo evento-chave no processo, o rearranjo e a expressão dos genes dos receptores de antígenos.

## **Rearranjo dos genes dos receptores de antígenos nos linfócitos B e T**

**Os genes que codificam os diversos receptores de antígeno de linfócitos B e T são gerados pelo rearranjo, em cada linfócito, de diferentes segmentos gênicos da região variável (V) com segmentos gênicos de diversidade (D) e junção (J).** Um novo éxon rearranjado é gerado para cada gene dos receptores de antígenos por meio da fusão de um segmento gênico V acima, distante e específico, com um segmento abaixo no mesmo cromossomo. Este processo especializado de rearranjo de genes em locais específicos é denominado **recombinação V(D)J**. A elucidação dos mecanismos do rearranjo dos genes dos receptores de antígenos, e, portanto, a base da geração da diversidade imunológica, representa um dos marcos

da imunologia moderna.

As primeiras ideias sobre como milhões de diferentes receptores de antígeno poderiam ser gerados a partir de uma quantidade limitada de DNA codificador no genoma originam-se de análises das sequências de aminoácidos de moléculas de Ig. Estas análises mostraram que as cadeias polipeptídicas de muitos anticorpos diferentes do mesmo isótipo compartilhavam sequências idênticas nas suas extremidades C-terminais (correspondentes aos domínios constantes das cadeias pesadas e leves dos anticorpos), mas diferiram consideravelmente nas sequências de suas extremidades N-terminais, que correspondem aos domínios variáveis das imunoglobulinas (Cap. 5). Ao contrário de um dos princípios centrais da genética molecular, enunciado como a hipótese um gene-um polipeptídeo, foi postulado, em 1965, que cada cadeia do anticorpo é, na realidade, codificada por pelo menos dois genes, um variável e outro constante, e que os dois são combinados fisicamente no nível do DNA ou do RNA mensageiro (mRNA) para, eventualmente, dar origem a proteínas de Ig funcionais. A prova formal desta hipótese veio mais de uma década mais tarde, quando Susumu Tonegawa demonstrou que a estrutura de genes das Ig em células de um tumor que produz anticorpos, denominado mieloma ou plasmacitoma, é diferente daquela em tecidos embrionários ou em tecidos não linfóides não comprometidos com a produção das Ig. Estas diferenças surgem porque os segmentos de DNA que são separados dentro dos *loci* hereditários que codificam as cadeias pesadas e leves das Ig são agrupados e unidos apenas em células B em desenvolvimento, mas não em outros tecidos ou tipos celulares. Descobriu-se que rearranjos semelhantes ocorrem durante o desenvolvimento das células T nos *loci* que codificam as cadeias polipeptídicas de TCRs. O rearranjo dos genes dos receptores de antígenos é melhor compreendido descrevendo inicialmente a organização não rearranjada de genes das Ig e do TCR na linhagem germinativa, e, em seguida, o seu rearranjo durante a maturação de linfócitos.

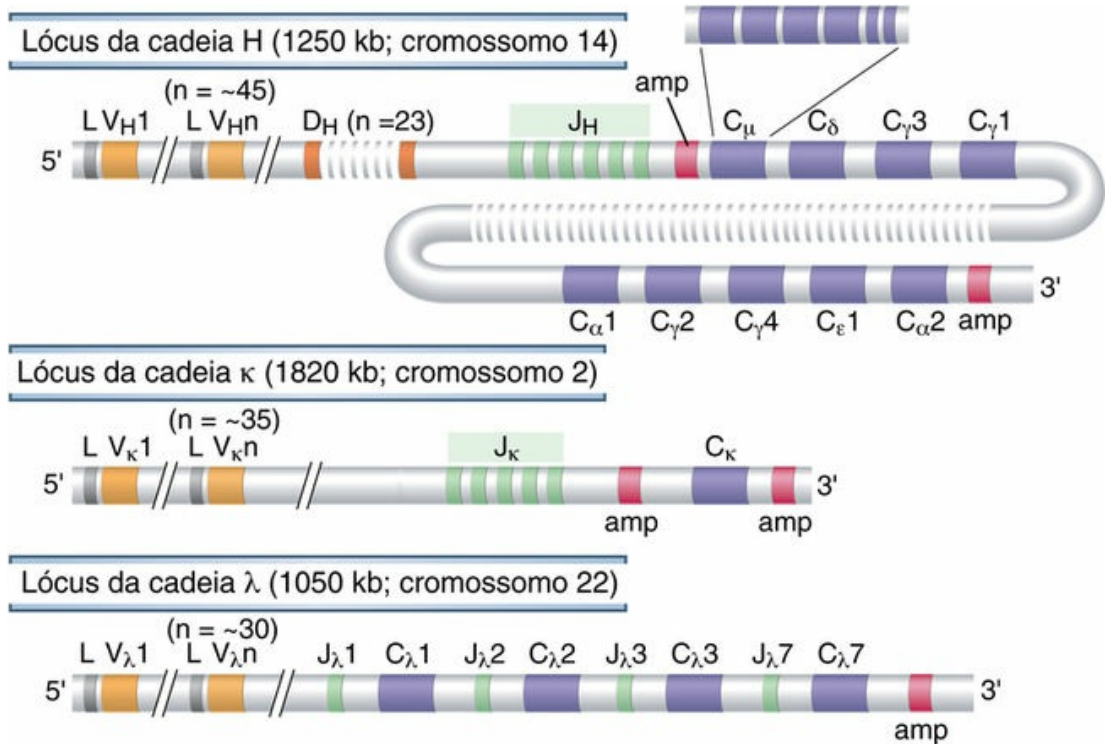
## Organização dos Genes das Ig e do TCR nas Linhagens Germinativas

***As organizações das linhagens germinativas em loci genéticos das Ig e do TCR são fundamentalmente semelhantes e são caracterizadas pela segregação espacial de muitas sequências diferentes que codificam domínios variáveis capazes e relativamente poucas sequências que codificam os domínios constantes das proteínas do receptor; sequências de regiões variáveis distintas são unidas a sequências de regiões constantes em diferentes linfócitos.*** Descreveremos inicialmente os *loci* das Ig e, em seguida, os *loci* do TCR.

### Organização dos Loci dos Genes das Ig

Três *loci* separados codificam, respectivamente, todas as cadeias pesadas das Ig, a cadeia leve  $\kappa$  das Ig, e a cadeia leve  $\lambda$  das Ig. Cada *locus* está em um cromossomo diferente. A organização dos genes das Ig humanas é ilustrada na [Figura 8-4](#) e a relação dos segmentos gênicos após o rearranjo aos domínios das proteínas de cadeia pesada e leve das Ig é apresentada na [Figura 8-5, A](#). Os genes das Ig são organizados essencialmente da mesma maneira em todos os mamíferos, embora suas localizações cromossômicas e o número e sequência dos diferentes segmentos gênicos em cada *locus* possam variar.

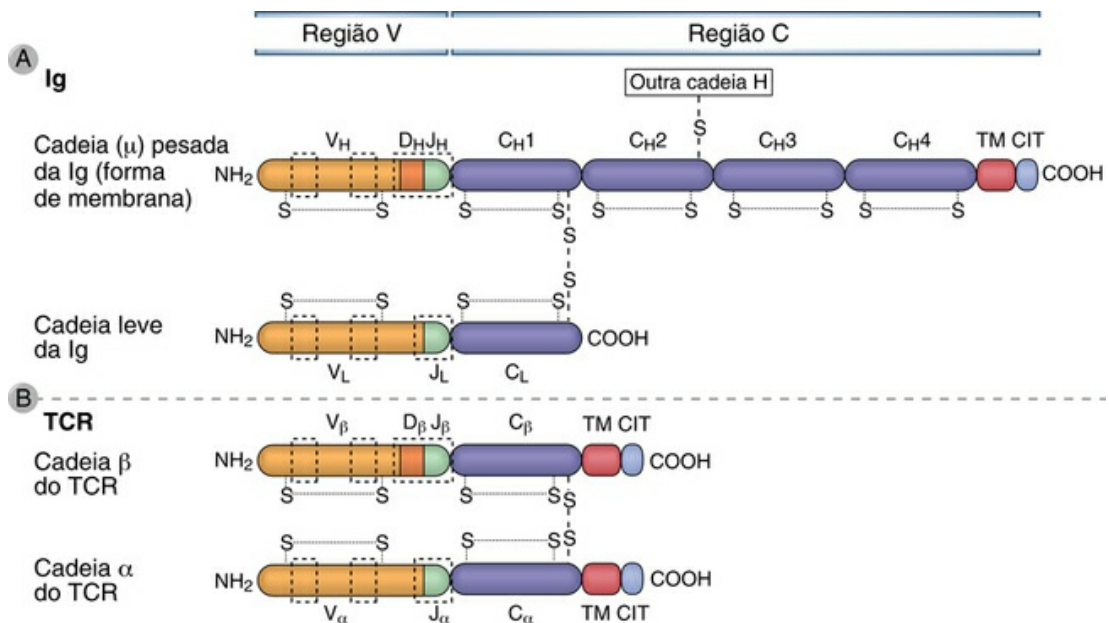




**FIGURA 8-4** Organização da linhagem germinativa nos *loci* da Ig humana.

Os *loci* da cadeia pesada, da cadeia leve  $\kappa$  e da cadeia leve  $\lambda$  humanas são ilustrados. Apenas genes funcionais são mostrados; pseudogenes foram omitidos para manter a simplicidade. Éxons e íntrons não estão representados em escala. Cada gene  $C_H$  é mostrado como um retângulo único, mas é composto de vários éxons, conforme ilustrado para  $C_\mu$ .

Os segmentos gênicos são indicados conforme descrito a seguir: *L*, líder (frequentemente denominado sequência sinal); *V*, variável; *D*, diversidade; *J*, junção; *C*, constante; *amp*, amplificador. Nesta figura e nas figuras subsequentes, as estruturas tubulares representam segmentos de dupla fita de cromossomo, sendo que as extremidades 5' e 3' se referem às fitas codificadoras.



**FIGURA 8-5** Domínios das proteínas das Ig e do TCR.

Os domínios das cadeias pesada e leve das Ig são ilustrados em **A**, e os domínios das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR são ilustrados em **B**. A relação entre os segmentos gênicos das Ig e do TCR e a estrutura do domínio das cadeias polipeptídicas do receptor de antígeno estão indicadas. As regiões V e C de cada polipeptídeo estão codificadas por diferentes segmentos gênicos. As localizações das pontes dissulfeto (S-S) intracadeias e intercadeias são aproximadas. As áreas nos retângulos tracejados são regiões hipervariáveis (determinadoras de complementariedade). Na cadeia  $\mu$  da Ig e nas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR, os domínios transmembrana (TM) e citoplasmático (CIT) estão codificados por éxons separados.

Na extremidade 5' de cada locus das Ig, há um agrupamento de genes V (variáveis), com cada gene V no agrupamento contendo cerca de 300 pares de bases. O número de genes V varia consideravelmente entre os diferentes *loci* das Ig e entre diferentes espécies. Por exemplo, em humanos, há aproximadamente 35 genes V no locus  $\kappa$  da cadeia leve humana, cerca de 30 no locus  $\lambda$  e cerca de 45 genes V funcionais no locus da cadeia pesada, enquanto nos camundongos, o locus  $\kappa$  possui cerca de 30 genes V, o locus  $\lambda$  da cadeia leve possui apenas dois genes V e o locus da cadeia pesada possui mais de 1.000 genes V, dos quais cerca de 250 são funcionais. Os segmentos de gene V para cada locus são espaçados por intervalos longos de DNA de até 2.000 quilobases de comprimento. Localizado na extremidade 5' de cada segmento V, há um éxon líder que codifica 20 a 30 resíduos N-terminais da proteína traduzida. Estes resíduos são moderadamente hidrofóbicos e

compõem o peptídeo líder (ou de sinal). As sequências de sinal são encontradas em todas as proteínas secretadas e transmembrana recém-sintetizadas e estão envolvidas no direcionamento de polipeptídios nascentes que estão sendo traduzidos em ribossomos ligados à membrana ao lúmen do retículo endoplasmático. Aqui, as sequências de sinal são rapidamente clivadas e elas não estão presentes nas proteínas maduras. Acima de cada éxon líder, há um promotor do gene V em que a transcrição pode ser iniciada, mas, conforme discutido posteriormente, esta ocorre de maneira mais eficiente após o rearranjo.

Nas distâncias variadas na extremidade 3' dos genes V, há vários segmentos J (junção) que estão intimamente ligados a éxons abaixo da região constante. Os segmentos J são de normalmente 30 a 50 pares de bases de comprimento e são separados por sequências não codificadoras. Entre os segmentos V e J no locus de IgH, há segmentos adicionais conhecidos como segmentos D (diversidade). Os segmentos D não são encontrados nos *loci* da cadeia leve das Ig. Quanto aos genes V, o número de genes D e J varia em diferentes *loci* das Ig e em diferentes espécies.

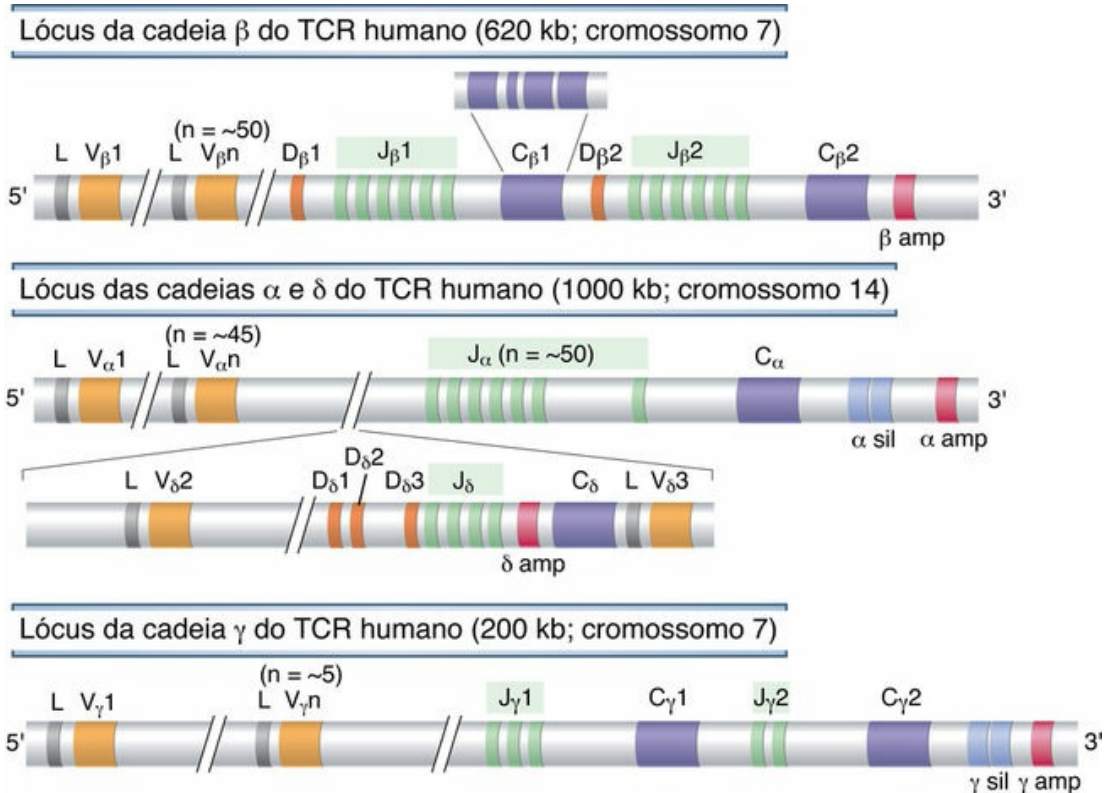
Cada locus das Ig possui um arranjo e número de genes da região C diferente. Nos seres humanos, o locus  $\kappa$  da cadeia leve das Ig possui um único gene C ( $C_{\kappa}$ ) e o locus  $\lambda$  da cadeia leve possui quatro genes C funcionais ( $C_{\lambda}$ ). O locus da cadeia pesada das Ig possui nove genes C ( $C_H$ ), dispostos em uma organização tandem, que codificam as regiões C dos nove diferentes isotipos e subtipos das Ig (Cap. 5). Cada um dos genes  $C_{\kappa}$  e  $C_{\lambda}$  é composto de um único éxon que codifica todo o domínio C das cadeias leves. Em contraste, cada gene  $C_H$  é composto de cinco ou seis éxons. Cada três ou quatro éxons (cada qual de tamanho semelhante ao de um segmento gênico V) codificam um domínio  $C_H$  da cadeia pesada das Ig, e dois éxons menores codificam para as extremidades carboxiterminais da forma de membrana de cada cadeia pesada das Ig, incluindo os domínios transmembrana e citoplasmáticos das cadeias pesadas (Fig. 8-5, A).

Em uma proteína de cadeia leve das Ig ( $\kappa$  ou  $\lambda$ ), o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V e J; na proteína da cadeia pesada das Ig, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V, D e J (Fig. 5-8, A). No caso dos domínios V das cadeias  $\beta$  do TCR e H das Ig, os resíduos juncionais entre os segmentos V e D rearranjados e os segmentos D e J, bem como as sequências dos próprios segmentos D e J, compõem a terceira região hipervariável, também conhecida como região determinante de complementaridade 3 ou CDR3. As sequências juncionais entre os segmentos J e V rearranjados, bem como o próprio segmento J, compõem a terceira região hipervariável das cadeias leves das Ig. CDR1 e CDR2 são codificados em cada segmento gênico V da linhagem germinativa. Os domínios V e C das moléculas Ig compartilham características estruturais, incluindo uma estrutura terciária denominada dobra da Ig. Conforme discutimos no Capítulo 5, as proteínas que incluem esta estrutura são membros da superfamília das Ig.

Sequências não codificadoras nos *loci* das Ig desempenham papéis importantes na recombinação e expressão gênica. Como veremos mais adiante, as sequências que ditam a recombinação de diferentes segmentos gênicos são encontradas adjacentes a cada segmento codificador nos genes das Ig. Os promotores de genes V e outros elementos reguladores de atuação *cis*, tais como regiões de controle de locus, amplificadores e silenciadores, que regulam a expressão gênica no nível da transcrição.

### **Organização dos Loci do Gene do TCR**

Cada locus do TCR nas linhagens germinativas é organizado de uma forma muito semelhante aos *loci* das Ig descritos anteriormente, com um agrupamento na extremidade 5' de vários segmentos gênicos V, seguidos por segmentos D (apenas nos *loci* de  $\beta$  e  $\delta$ ), seguidos de um agrupamento de segmentos J, todos acima dos genes da região C (Fig. 8-6). No locus  $\beta$  humano, há cerca de 50 segmentos gênicos V, 2 D e 12 J, e no locus  $\alpha$ , há 45 segmentos V e 50 J. Os *loci* de  $\gamma$  e  $\delta$ , no geral, possuem menos segmentos gênicos do que os *loci*  $\alpha$  e  $\beta$ , com um total de apenas 7 genes V. Acima de cada gene V do TCR encontra-se um éxon que codifica um peptídeo líder, e acima de cada éxon líder encontra-se um promotor para cada gene V. Nas proteínas  $\beta$  e  $\delta$  do TCR, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V, D e J, e nas proteínas  $\alpha$  e  $\gamma$  do TCR, o domínio V é codificado pelos segmentos gênicos V e J. Há dois genes C em cada um dos *loci*  $\beta$  e  $\gamma$  do TCR humano, cada qual com seu próprio agrupamento de segmentos J associado na extremidade 5', e somente um gene C em cada um dos *loci* de  $\alpha$  e  $\gamma$ . Cada gene da região C do TCR é composto de quatro éxons que codificam o domínio das Ig da região C extracelular, uma pequena região de dobradiça, o segmento transmembranar, e a cauda citoplasmática.



**FIGURA 8-6** Organização dos *loci* dos TCR humanos na linhagem germinativa.

Os *loci* das cadeias  $\beta$ ,  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  do TCR humano são ilustrados, conforme indicado. Os éxons e íntrons não estão representados em escala e pseudogenes não funcionais não estão ilustrados. Cada gene C é mostrado como uma única faixa, mas é composto de vários éxons, conforme ilustrado para  $C_{\beta 1}$ . Os segmentos gênicos são indicados conforme descrito a seguir: *L*, líder (normalmente denominado sequência sinal); *V*, variável; *D*, diversidade; *J*, junção; *C*, constante; *amp*, amplificador; *sil*, silenciador (sequências que regulam a transcrição do gene *TCR*).

A relação entre os segmentos do gene do TCR e as porções correspondentes das proteínas do TCR que eles codificam é apresentada na [Figura 8-5, B](#). Assim como nas moléculas de Ig, os domínios V e C do TCR assumem uma estrutura terciária de dobra da Ig, e, portanto, o TCR é um membro da superfamília de proteínas das Ig.

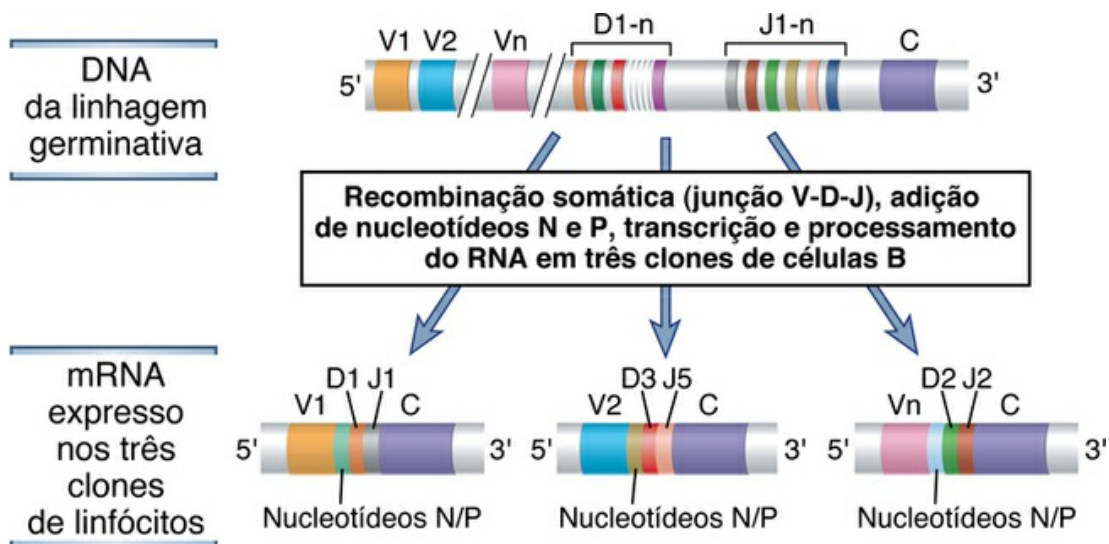
## Recombinação V(D)J

A organização na linhagem germinativa dos *loci* das Ig e do TCR descrita na seção anterior existe em todos os tipos de células no corpo. Os genes da linhagem germinativa não podem ser transcritos para mRNAs que codificam proteínas de

receptores de antígeno funcionais. Os genes dos receptores de antígenos funcionais são criados apenas nos linfócitos B e T em desenvolvimento, após os eventos de rearranjo de DNA que colocam os segmentos gênicos V, (D) e J escolhidos aleatoriamente em contiguidade.

**O processo de recombinação V(D)J em qualquer locus de Ig ou TCR envolve a seleção de um gene V, um segmento D (quando presente) e um segmento J em cada linfócito e o rearranjo de um desses segmentos, de modo a formar um único éxon V(D)J que codificará para a região variável de uma proteína do receptor de antígeno (Fig. 8-7).** Nos *loci* da cadeia leve das Ig e das cadeias  $\alpha$  e  $\gamma$  do TCR, nas quais faltam segmentos D, um único rearranjo junta um gene V selecionado aleatoriamente a um segmento J, também selecionado aleatoriamente. Os *loci* das cadeias H das Ig e  $\beta$  e  $\delta$  do TCR contêm segmentos D, e nestes *loci*, dois eventos de rearranjo distintos devem ser iniciados separadamente, juntando um primeiro D a um J e, em seguida, um segmento V para ser fundido a um segmento DJ. Cada evento de rearranjo envolve uma série de etapas sequenciais. Primeiramente, a cromatina deve ser aberta em regiões específicas do cromossomo para tornar os segmentos gênicos de receptores de antígenos acessíveis às enzimas que medeiam a recombinação. Em seguida, dois segmentos gênicos selecionados devem ser aproximados um do outro, atravessando uma distância cromossômica considerável. A seguir, quebras são introduzidas na dupla fita nas extremidades codificadoras destes dois segmentos, nucleotídeos são acrescentados ou removidos nas extremidades quebradas, e, finalmente, as extremidades processadas são ligadas para produzir genes de receptores de antígenos clonais únicos, porém diversos, que podem ser transcritos de maneira eficiente. As regiões C encontram-se abaixo do éxon V(D)J rearranjado separado pelo íntron J-C da linhagem germinativa. Esse gene reorganizado é transcrito para formar um transcrito de RNA primário (nuclear). O processamento (*splicing*) subsequente do RNA reúne o éxon líder, o éxon V(D)J e os éxons da região C, formando um mRNA que pode ser traduzido em ribossomos ligados à membrana para produzir uma das cadeias do receptor de antígenos. A utilização de diferentes combinações dos segmentos V, D, e J e a adição e remoção de nucleotídeos nas junções contribuem para a diversidade tremenda dos receptores de antígeno, como discutiremos em mais detalhes mais adiante.



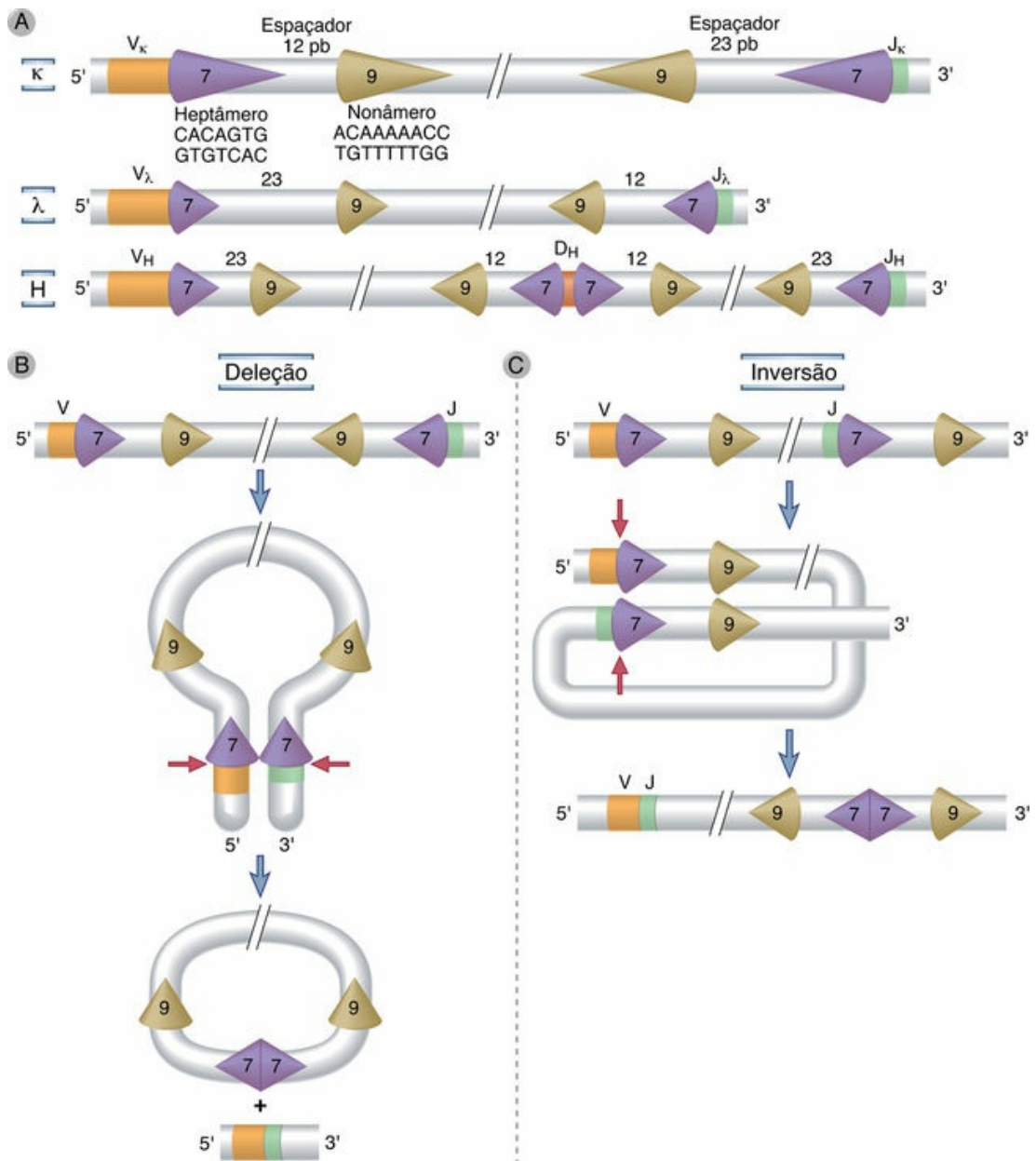


**FIGURA 8-7** Diversidade dos genes dos receptores de antígenos.

A partir do DNA da mesma linhagem germinativa, é possível gerar seqüências de DNA recombinadas e mRNAs que diferem em suas junções V-D-J. No exemplo apresentado, três mRNAs de receptores de antígeno diferentes são produzidos a partir do DNA da mesma linhagem germinativa por meio do uso de diferentes segmentos gênicos e a adição de nucleotídeos às junções.

### Sinais de Reconhecimento que Conduzem a Recombinação V(D)J

**Proteínas específicas de linfócitos que medeiam a recombinação V(D)J reconhecem certas seqüências de DNA, denominadas seqüências de sinais de recombinação (RSSs), localizadas na extremidade 3' de cada segmento gênico V, na extremidade 5' de cada segmento J e em ambos os lados de cada segmento D (Fig. 8-8, A).** As RSSs consistem em um trecho altamente conservado de 7 nucleotídeos, denominado heptâmero, geralmente CACAGTG, localizado adjacente à seqüência codificadora, seguido de um espaçador de exatamente 12 ou 23 nucleotídeos não conservados, depois de um trecho rico em AT e altamente conservado de 9 nucleotídeos, denominado nonâmero. Os espaçadores de 12 e 23 nucleotídeos correspondem aproximadamente a uma ou duas voltas de uma hélice de DNA, respectivamente, e presume-se que levam dois heptâmeros diferentes a posições que são, simultaneamente, acessíveis às enzimas que catalisam o processo de recombinação.



**FIGURA 8-8** Recombinação V(D)J.

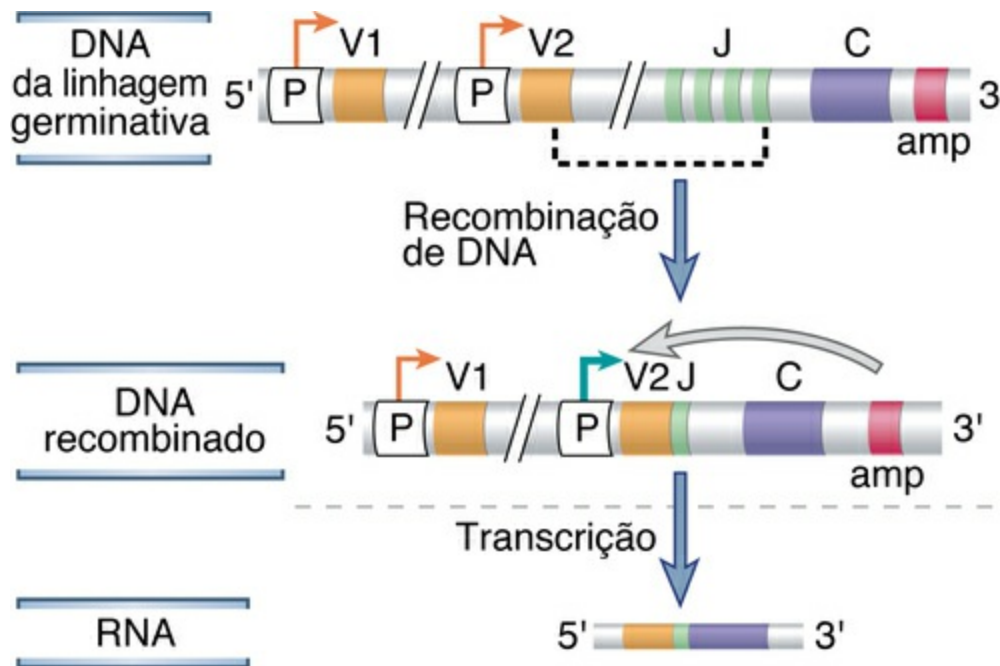
As seqüências de DNA e os mecanismos envolvidos na recombinação dos *loci* do gene da Ig estão representados. As mesmas seqüências e mecanismos se aplicam nas recombinações nos *loci* do TCR. **A**, As seqüências de heptâmero (7 pb) e nonâmero (9 pb) conservadas, separadas por espaçadores de 12 ou 23 pb, estão localizadas adjacentes aos segmentos V e J (para os *loci* κ e λ) ou aos segmentos V, D e J (no *locus* da cadeia H). A recombinase V(D)J reconhece essas seqüências sinal e aproxima os éxons. **B, C**, A recombinação dos éxons V e J pode ocorrer por deleção do DNA interveniente e ligação dos segmentos V e J (**B**) ou, se a RSS estiver a 3' de um

segmento J, por inversão do DNA seguida de ligação dos segmentos gênicos adjacentes **(C)**. As setas vermelhas indicam os locais onde as sequências da linhagem germinativa são clivadas antes de sua ligação a outros segmentos gênicos da Ig e do TCR.

Durante a recombinação V(D)J, são geradas quebras da dupla fita entre o heptâmero da RSS e a sequência de codificação V, D ou J adjacente. Na recombinação de V a J na cadeia leve da Ig, por exemplo, as quebras serão feitas nas extremidades 3' de um segmento V e 5' de um segmento de J. Um DNA dupla fita interveniente contendo extremidades de sinais (as extremidades que contêm o heptâmero e o resto da RSS) é removido com a forma de um círculo e as extremidades codificadoras V e J são unidas (Fig. 8-8, B). Em alguns genes V, especialmente no locus  $\kappa$  da Ig, as RSSs encontram-se nas extremidades 3' de um  $V_{\kappa}$  e 3' de um  $J_{\kappa}$ , e, portanto, não estão de frente uma para a outra. Nesses casos, o DNA interveniente e os segmentos V e J são alinhados adequadamente; as RSSs fundidas não sofrem deleção, mas são retidas no cromossomo (Fig. 8-8, C). A maioria dos rearranjos dos genes da Ig e do TCR ocorre por deleção; a inversão é a base de até 50% dos rearranjos no locus  $\kappa$  da Ig. A recombinação ocorre entre dois segmentos somente se um dos segmentos estiver ladeado por um espaçador de 12 nucleotídeos e o outro estiver ladeado por um espaçador de 23 nucleotídeos; trata-se da chamada regra 12/23. Portanto, um segmento de codificação com uma RSS cujo espaçador abrange uma única volta da hélice do DNA sempre se recombina com um segmento de codificação com uma RSS cujo espaçador abrange duas voltas da hélice. O tipo de RSSs ladeadas (uma volta ou duas voltas) garante a recombinação dos segmentos gênicos adequados. Por exemplo, no locus de cadeia pesada da Ig, as RSSs que ladeiam os segmentos V e J possuem espaçadores de 23 nucleotídeos (duas voltas) e, portanto, não podem juntar-se diretamente; a recombinação de D a J ocorre primeiro, seguida pela recombinação de V a DJ, e isso é possível porque os segmentos D estão cercados, de ambos os lados, por espaçadores de 12 nucleotídeos, permitindo a junção D-J e depois V-DJ. As RSSs descritas aqui são exclusivas de genes das Ig e do TCR. Portanto, a recombinação V(D)J pode ocorrer nos genes dos receptores de antígeno, mas não em outros genes.

Uma das consequências da recombinação V(D)J é que o processo aproxima os promotores, localizados imediatamente na extremidade 5' dos genes V, dos amplificadores inferiores que estão localizados nos íntrons J-C e também na extremidade 3' dos genes da região C (Fig. 8-9). Estes amplificadores maximizam a atividade da transcrição dos promotores de genes V e são, portanto, importantes para a transcrição em alto nível dos genes V rearranjados nos linfócitos. Como os genes das Ig e do TCR são locais de múltiplos eventos de recombinação do DNA nas células B e T, e como esses locais se tornam ativos para transcrição após a

recombinação, os genes de outros *loci* podem ser translocados anormalmente para esses *loci* e, como resultado, podem ser transcritos de maneira anormal. Nos tumores de linfócitos B e T, os oncogenes são frequentemente translocados para os *loci* dos genes das Ig ou do TCR. Estas translocações cromossômicas são frequentemente acompanhadas de uma transcrição acentuada dos oncogenes e são um dos fatores que promovem o desenvolvimento de tumores linfoides.



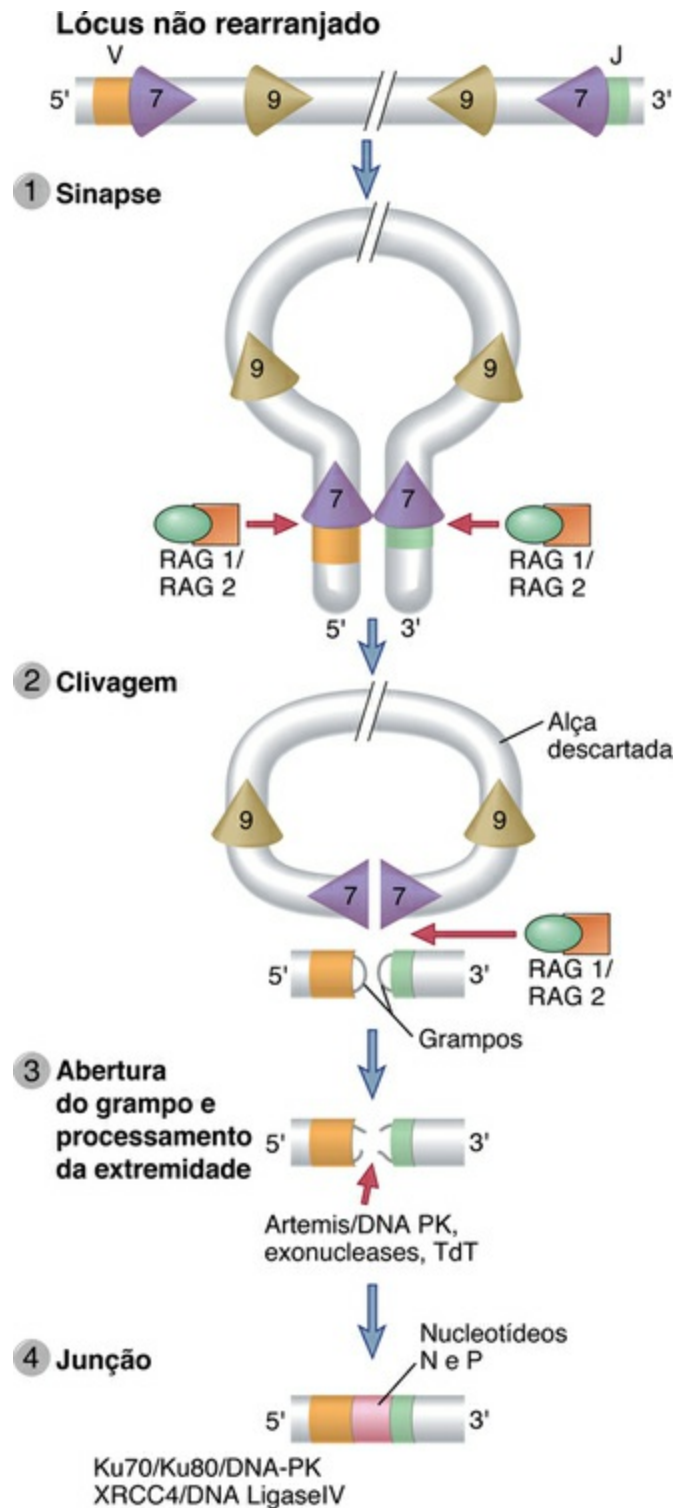
**FIGURA 8-9** Regulação da transcrição dos genes da Ig. A recombinação V-D-J aproxima as sequências promotoras (mostradas como P) do amplificador (amp). O amplificador promove a transcrição do gene V rearranjado (V2, cujo promotor ativo está indicado por uma seta verde grossa). Muitos genes de receptores possuem um amplificador no íntron J-C e outro a 3' da região C. Somente o amplificador a 3' está ilustrado aqui.

## O Mecanismo da Recombinação V(D)J

***O rearranjo de genes das Ig e do TCR representa um tipo especial de evento de recombinação não homóloga do DNA, mediado pelas atividades coordenadas de várias enzimas, algumas das quais são encontradas apenas nos linfócitos em desenvolvimento, enquanto outras são enzimas ubíquas de reparo de quebras de dupla fita do DNA (DSBR).*** Embora o mecanismo de recombinação V(D)J seja razoavelmente bem compreendido e seja descrito aqui, ainda não se determinou como exatamente os *loci* específicos se tornam acessíveis

ao maquinário envolvido na recombinação. É provável que a acessibilidade dos *loci* das Ig e do TCR para as enzimas que medeiam a recombinação é regulada nas células B e T em desenvolvimento por vários mecanismos, incluindo alterações epigenéticas na estrutura da cromatina e do DNA, conforme discutido anteriormente, e a atividade de transcrição basal nos *loci* dos genes.

O processo de recombinação V (D) J pode ser dividido em quatro eventos distintos que seguem um fluxo sequencial (Fig. 8-10.):



**FIGURA 8-10** Eventos sequenciais durante a recombinação V(D)J.

A sinapse e a clivagem do DNA no limite entre o heptâmero e o segmento codificador são mediadas por Rag-1 e Rag-2. O grampo da extremidade codificadora é aberto pela endonuclease Artemis e as extremidades quebradas são reparadas pela maquinaria de junção de extremidade não



homóloga presente em todas as células. Observe que as duas fitas de DNA são mostradas nos grampos, mas não nas outras ilustrações esquemáticas dos genes.

1. **Sinapse**: As porções do cromossomo nas quais o gene do receptor de antígeno está localizado tornam-se acessíveis para a maquinaria de recombinação. Dois segmentos codificadores selecionados e suas RSSs adjacentes são aproximados por um evento formador de uma alça cromossômica e são mantidos na posição para a clivagem, processamento e junção subsequentes.

2. **Clivagem**: As quebras na dupla fita são realizadas enzimaticamente nas junções das sequências codificadoras de RSS por uma maquinaria que é específica das células linfoides. Duas proteínas codificadas por genes específicos das células linfoides, que são denominados **gene ativador da recombinação 1** e **gene ativador da recombinação 2** (*RAG1* e *RAG2*), formam um complexo contendo duas moléculas de cada proteína, que desempenha um papel essencial na recombinação V(D)J. O complexo Rag-1/Rag-2 também é conhecido como **recombinase V(D)J**. A proteína Rag-1, de maneira semelhante a uma endonuclease de restrição, reconhece a sequência de DNA na junção entre um heptâmero e um segmento de codificação e a cliva, mas ela somente está enzimaticamente ativa quando complexada à proteína Rag-2. A proteína Rag-2 pode ajudar a ligar o tetrâmero Rag-1/Rag-2 a outras proteínas, incluindo fatores de acessibilidade, que levam essas proteínas até *loci* gênicos de receptores abertos específicos em determinados momentos e em estágios definidos do desenvolvimento dos linfócitos. A Rag-1 e a Rag-2 contribuem para manter os segmentos gênicos unidos durante o processo de dobramento ou sinapse cromossômica. A Rag-1, então, faz um corte (em uma fita de DNA) entre a extremidade de codificação e o heptâmero. O OH 3' liberado da extremidade de codificação, em seguida, ataca uma ligação fosfodiéster na outra fita de DNA, formando um grampo covalente. A extremidade de sinal (incluindo o heptâmero e o restante da RSS) não forma um grampo e é produzida como um terminal de DNA dupla fita rombo que não sofre processamento. Esta quebra da dupla fita mantém um grampo fechado de um segmento codificador justaposto ao grampo fechado da outra extremidade codificadora e duas extremidades de sinais de recombinação rombas são posicionadas uma ao lado da outra. A Rag-1 e a Rag-2, além de gerarem as quebras da dupla fita, também mantêm as extremidades do grampo e as extremidades rombas unidas antes da modificação das extremidades codificadoras e do processo de ligação.

Os genes *RAG* são específicos de células linfoides e somente são expressos nas células B e T em desenvolvimento. As proteínas Rag são expressas principalmente nos estágios G<sub>0</sub> e G<sub>1</sub> do ciclo celular e são inativadas nas células em proliferação. Acredita-se que a limitação da clivagem e recombinação do DNA aos estágios G<sub>0</sub> e G<sub>1</sub> minimiza o risco de gerar quebras inadequadas do DNA durante a replicação do

DNA ou durante a mitose. Camundongos sem genes *Rag1* ou *Rag2* funcionais (camundongos *knockout Rag*) não conseguem desenvolver linfócitos B ou T, e a deficiência de Rag-1 ou Rag-2 também é uma causa rara de SCID, na qual todos os linfócitos estão ausentes no paciente.

3. **Abertura do grampo e processamento da extremidade:** As extremidades codificadoras clivadas são modificadas pela adição ou remoção das bases, gerando, assim, uma maior diversidade. Após a formação de quebras da dupla fita, os grampos devem ser resolvidos (abertos) nas junções codificadoras e as bases podem ser acrescentadas ou removidas das extremidades codificadoras para garantir uma diversificação ainda maior. **Artemis** é uma endonuclease que abre os grampos nas extremidades codificadoras. Na ausência da Artemis, os grampos não podem ser abertos e as células T e B maduras não podem ser geradas. Mutações na ARTEMIS são uma causa rara de SCID, semelhante àquela em pacientes com mutações em *RAG1* ou *RAG2* (Cap. 21). Uma enzima específica das células linfoides, denominada desoxinucleotidil transferase terminal (TdT), acrescenta bases às extremidades quebradas do DNA e será discutida mais adiante no capítulo no contexto da diversidade juncional.

4. **Junção:** As extremidades codificadoras clivadas e as extremidades de sinais são unidas e ligadas por um processo de reparação de quebra de dupla fita que é encontrado em todas as células, denominado junção não homóloga de extremidade. Vários fatores ubíquos participam deste processo. Ku70 e Ku80 são proteínas de ligação de extremidades que se ligam às quebras e recrutam a subunidade catalítica da proteína quinase dependente de DNA (DNA-PK), uma enzima de reparo da dupla fita do DNA. Esta enzima é deficiente em camundongos portadores da mutação da imunodeficiência combinada grave (*scid*) e mutações no gene que codifica esta enzima também foram descobertas em pacientes com SCID humana (Cap. 21). Assim como os camundongos deficientes em *Rag*, os camundongos *scid* não produzem linfócitos maduros. A DNA-PK também fosforila e ativa Artemis, que, como já mencionado, está envolvida no processamento da extremidade. A ligação das extremidades clivadas e processadas é mediada pela DNA ligase IV e XRCC4, sendo esta última uma subunidade não catalítica, porém essencial, da ligase.

## Geração da Diversidade nas Células B e T

**A diversidade dos repertórios das células B e T é criada por combinações aleatórias dos segmentos gênicos da linhagem germinativa que são aproximados e pela adição ou deleção aleatória de sequências nas junções entre os segmentos antes de serem unidos.** Vários mecanismos genéticos contribuem para esta diversidade, e a importância relativa de cada mecanismo varia entre os diferentes *loci* dos receptores de antígenos (Tabela 8-1).

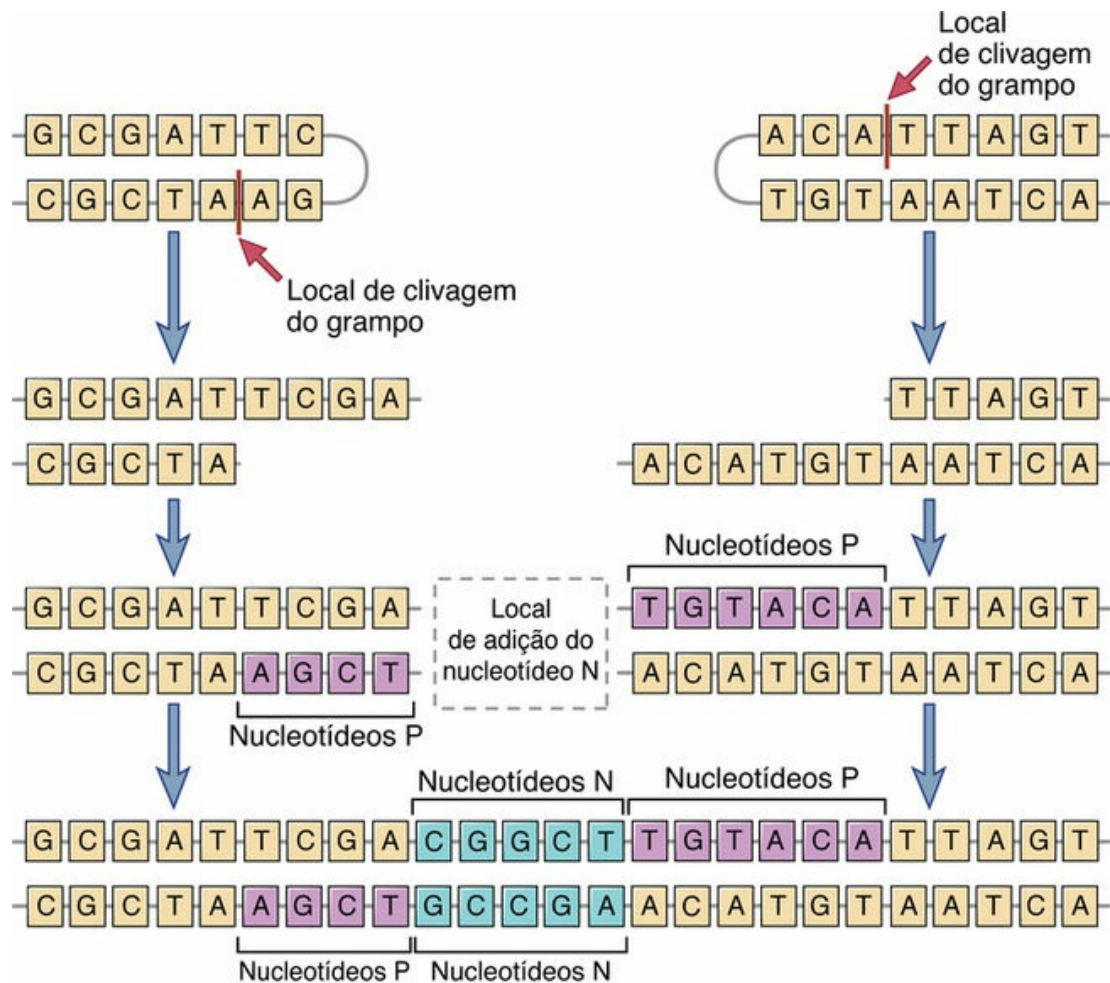
**Tabela 8-1****Contribuições de Diferentes Mecanismos à Geração de Diversidade nos Genes da Ig e do TCR**

Mecanismo	Ig		TCR $\alpha\beta$			TCR $\gamma\delta$	
	Cadeia pesada $\kappa$	$\lambda$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	
Segmentos variáveis (V)	45	35	30	45	50	5	2
Segmentos de diversidade (D)	23	0	0	0	2	0	3
Segmentos D lidos em todas as três fases de leitura	Raros	-	-	-	Frequentes	-	Frequentes
Diversificação da região N	V-D, D-J	Nenhuma	V-J	V-D, D-J	V-J	V-D1, D1-D2, D1-J	
Segmentos de junção (J)	6	5	4	55	12	5	4
Repertório potencial total com diversidade juncional	$\sim 10^{11}$			$\sim 10^{16}$		$\sim 10^{18}$	

O número potencial de receptores de antígenos com diversidade juncional é muito maior do que a quantidade que pode ser gerada somente por combinações dos segmentos gênicos V, D e J. Observe que, embora o limite superior do número de proteínas da Ig e do TCR que podem ser expressas seja muito grande, estima-se que cada indivíduo possua na ordem de  $10^7$  clones de células B e T, com especificidades e receptores distintos; em outras palavras, apenas uma fração do repertório potencial pode, de fato, ser expressa.

- **Diversidade combinatória. O rearranjo V(D)J aproxima vários segmentos gênicos da linhagem germinativa que podem combinar-se de forma aleatória, e diferentes combinações produzem diferentes receptores de antígenos.** O maior número possível de combinações destes segmentos de genes é o produto do número de segmentos gênicos V, J e D (se presente) em cada locus do receptor de antígeno. Portanto, a quantidade de diversidade combinatória que pode ser gerada em cada locus reflete o número de segmentos gênicos V, J e D e naquele locus. Após a síntese das proteínas do receptor de antígeno, a diversidade combinatória é aumentada pela justaposição de duas regiões V diferentes geradas aleatoriamente (ou seja,  $V_H$  e  $V_L$  nas moléculas de Ig e  $V_\alpha$  e  $V_\beta$  nas moléculas de TCR). Portanto, a diversidade combinatória total é teoricamente o produto da diversidade combinatória de cada uma das duas cadeias associadas. O verdadeiro grau de diversidade combinatória nos repertórios de Ig e TCR expressos em qualquer indivíduo é, provavelmente, consideravelmente menor do que o máximo teórico. Isso ocorre porque nem todas as recombinações dos segmentos gênicos são igualmente prováveis de ocorrer, e nem todos os pares de cadeias leves e pesadas das Ig ou  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR podem formar receptores de antígenos funcionais. Em especial, como o número de segmentos V, D e J em cada locus é limitado ([Tabela 8-1](#)), o maior número possível de combinações é da ordem de milhares. Isto é, evidentemente, muito menor do que a diversidade dos receptores de antígenos em linfócitos maduros.

- **Diversidade juncional. A maior contribuição para a diversidade de receptores de antígeno é feita pela remoção ou adição de nucleotídeos nas junções dos segmentos V e D, D e J ou V e J no momento em que esses segmentos são unidos.** Uma maneira pela qual isso pode ocorrer é se endonucleases removerem os nucleotídeos das sequências da linhagem germinativa nas extremidades dos segmentos do gene recombinação. Além disso, novas sequências de nucleotídeos, não presentes na linha germinativa, podem ser adicionadas às junções (Fig. 8-11). Conforme descrito anteriormente, os segmentos de codificação (p. ex., segmentos gênicos V e J) que são clivados por Rag-1 formam alças em forma de grampo cujas extremidades são muitas vezes clivadas assimetricamente pela enzima Artemis, fazendo com que uma fita de DNA esteja mais longa do que a outra. A fita mais curta deve ser estendida com nucleotídeos complementares à mais longa antes da ligação dos dois segmentos. A fita mais longa funciona como um modelo para a adição de pequenas extensões de nucleotídeos denominados nucleotídeos P e este processo introduz novas sequências nos cruzamentos V-D-J. Outro mecanismo de diversidade juncional é a adição aleatória de até 20 nucleotídeos não codificados com auxílio de um molde, denominados nucleotídeos N (Fig. 8-11). A diversificação da região N é mais comum nas cadeias pesadas das Ig e nas cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  do TCR do que nas cadeias  $\kappa$  ou  $\lambda$  das Ig. Esta adição de novos nucleotídeos é mediada pela enzima **desoxinucleotidil transferase terminal (TdT)**. Em camundongos com deficiência induzida de TdT por knockout de genes, a diversidade dos repertórios das células B e T é substancialmente menor do que em camundongos normais. A adição de nucleotídeos P e N nos locais de recombinação podem introduzir alterações na estrutura, gerando, teoricamente, códon de terminação em dois de cada três eventos de junção (se o número total de bases adicionadas não for um múltiplo de três). Estes genes não podem produzir proteínas funcionais, mas esta ineficiência é o preço que se paga para gerar diversidade.



**FIGURA 8-11** Diversidade juncional.

Durante a junção de diferentes segmentos gênicos, a adição ou a remoção de nucleotídeos pode levar à geração de novas sequências de nucleotídeos e aminoácidos na junção. Os nucleotídeos (sequências P) podem ser adicionados a grampos clivados assimetricamente com o auxílio de um molde. Outros nucleotídeos (regiões N) podem ser adicionados nos locais das junções V-D, V-J ou D-J, sem o auxílio de um molde, pela ação da enzima TdT. Estas adições geram novas sequências que não estão presentes na linhagem germinativa.

**Devido à diversidade juncional, anticorpos e moléculas do TCR mostram a maior variabilidade nas junções das regiões V e C, que formam a terceira região hipervariável ou CDR3 (Fig. 8-5).** Na verdade, devido à diversidade juncional, o número de diferentes sequências de aminoácidos que estão presentes nas regiões CDR3 de moléculas de Ig e TCR são muito maiores do que os números que podem ser codificados por segmentos gênicos da linhagem germinativa. As regiões CDR3 das Ig e do TCR são também as porções mais importantes destas

moléculas para a determinação da especificidade da ligação ao antígeno (Caps. 5 e 7). Assim, a maior diversidade de receptores de antígeno está concentrada nas regiões dos receptores mais importantes para a ligação ao antígeno.

Embora o limite teórico para o número de proteínas de Ig e TCR que podem ser produzidas seja enorme ([Tabela 8-1](#)), o número real de receptores de antígenos em células B ou T expressas em cada indivíduo é provavelmente da ordem de apenas  $10^7$ . Isso pode refletir o fato de que a maioria dos receptores, que são gerados por recombinação aleatória de DNA, não passa pelos processos de seleção necessários para a maturação.

Uma aplicação clínica do conhecimento da diversidade juncional é a determinação da clonalidade de tumores linfóides que surgiram a partir de células B ou T. Este teste laboratorial é comumente utilizado para identificar tumores monoclonais linfócitos e para distinguir os tumores de proliferações policlonais. Como cada clone de linfócito expressa uma região CDR3 do receptor de antígeno exclusiva, a sequência de nucleotídeos no local de recombinação V (D) J serve como um marcador específico para cada clone. Assim, através da medição do comprimento ou determinação da sequência das regiões juncionais dos genes da Ig ou do TCR em diferentes proliferações de células

B ou T, utilizando ensaios de reação em cadeia da polimerase, pode-se estabelecer se estas lesões surgiram de um único clone (indicando um tumor) ou de forma independente a partir de diferentes clones (implicando uma proliferação não neoplásica de linfócitos). O mesmo método pode ser usado para identificar os pequenos números de células tumorais no sangue ou tecidos.

Com esta base, pode-se prosseguir a uma discussão sobre o desenvolvimento de linfócitos B e, em seguida, a maturação de células T.

## Desenvolvimento de linfócitos B

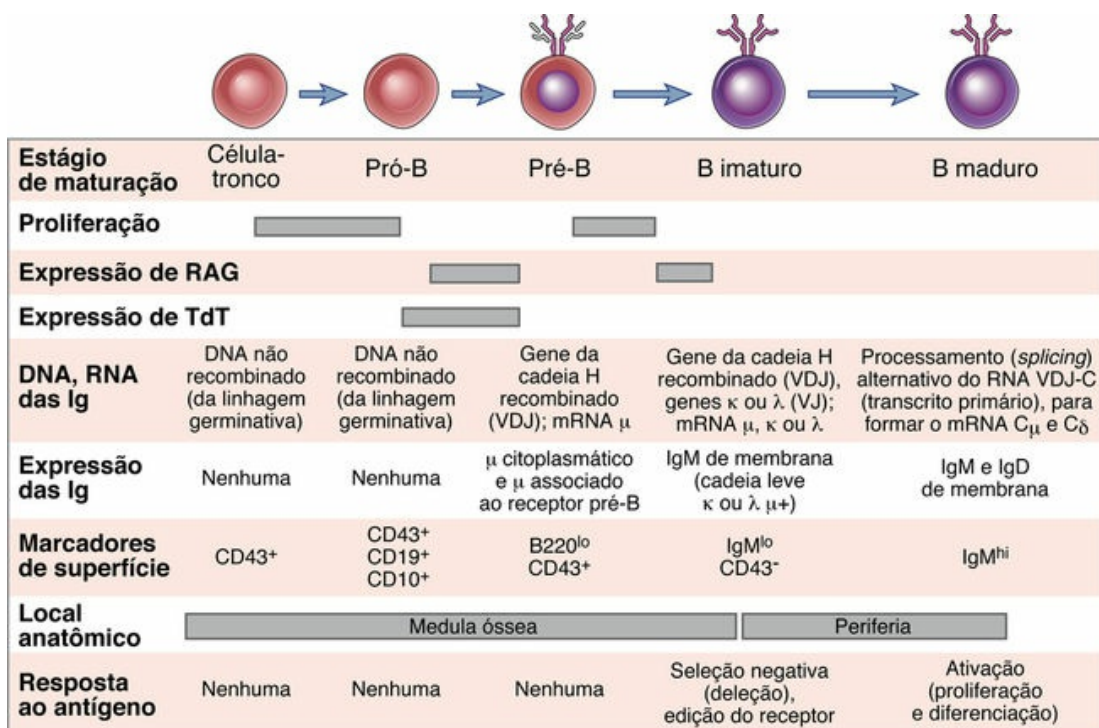
***Os principais eventos durante a maturação dos linfócitos B são o rearranjo e expressão de genes de Ig em uma ordem precisa, a seleção e proliferação de células B em desenvolvimento no ponto de controle do pré-receptor de antígenos e a seleção do repertório de células B maduras.*** Antes do nascimento, os linfócitos B se desenvolvem a partir de precursores comprometidos no fígado fetal, e após o nascimento, as células B são geradas na medula óssea. A maioria dos linfócitos B surgem dos progenitores da medula óssea adulta que inicialmente não expressam a Ig. Estes precursores se desenvolvem em células B imaturas que expressam moléculas de IgM ligadas à membrana, e, em seguida, deixam a medula óssea para continuar a amadurecer, principalmente no baço. As células que amadurecem em células B foliculares no baço expressam IgM e IgD na superfície da célula e adquirem a capacidade de recircular e ocupar todos os órgãos linfóides periféricos. Estas células B foliculares dirigem-se para folículos linfóides e são



capazes de reconhecer e responder a antígenos estranhos. Estima-se que o desenvolvimento de uma célula B madura a partir de um progenitor linfóide leve 2 a 3 dias em seres humanos.

## Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos B

**Durante sua maturação, as células da linhagem de linfócitos B passam por estágios distintos, cada qual caracterizado por diferentes marcadores de superfície celular e um padrão específico de expressão do gene de Ig (Fig. 8-12).** As principais etapas e os eventos em cada uma são descritos a seguir.



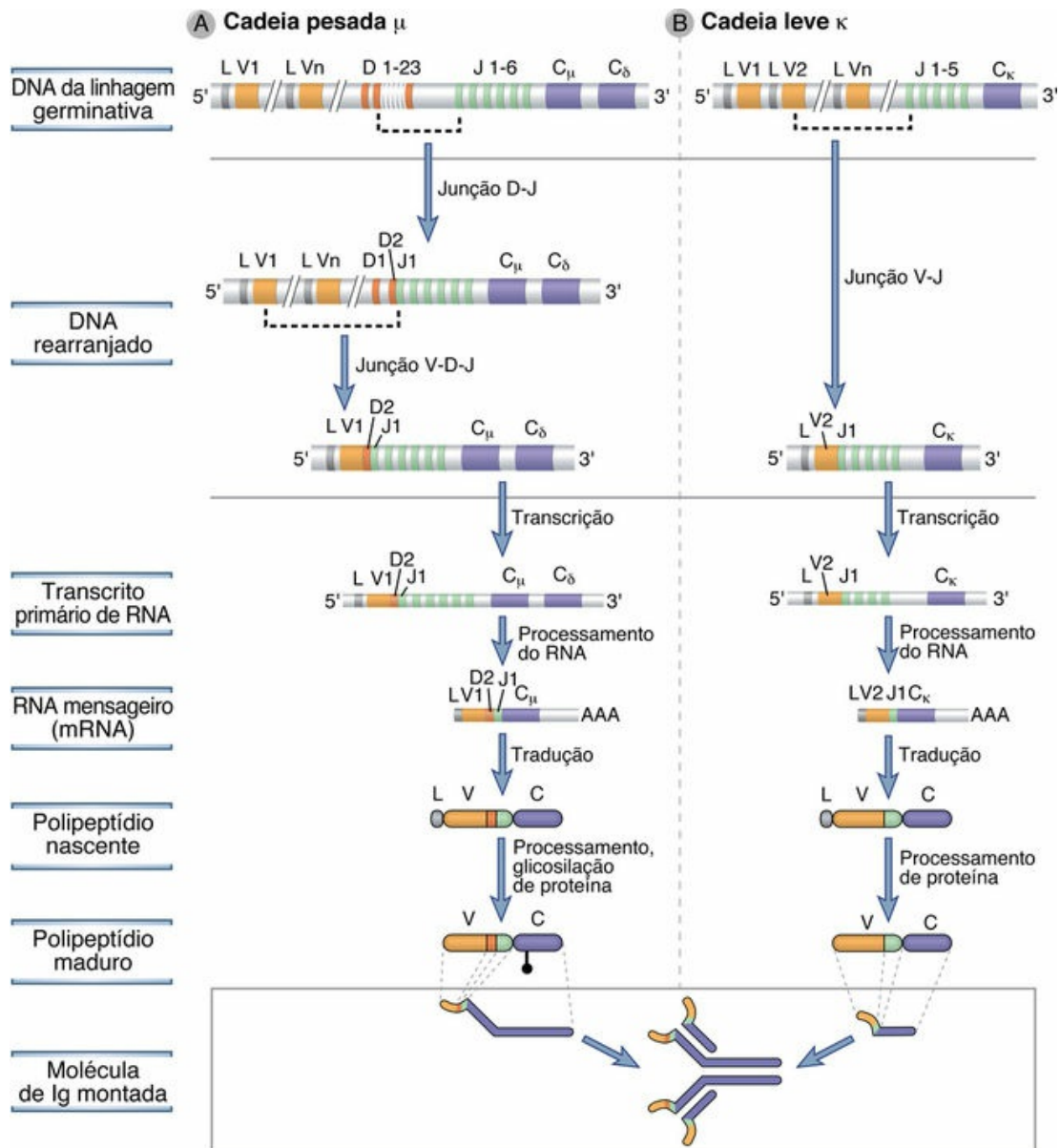
**FIGURA 8-12** Estágios de maturação da célula B.

Os eventos correspondentes a cada estágio da maturação da célula B a partir da célula-tronco da medula óssea até o linfócito B maduro são ilustrados. Vários marcadores de superfície, além dos mostrados, têm sido utilizados para definir diferentes estágios de maturação da célula B.

### Os Estágios Pró-B e Pré-B de Desenvolvimento da Célula B

**A primeira célula da medula óssea comprometida com a linhagem de células B é chamada de célula pró-B.** As células pró-B não produzem Ig, mas podem ser distinguidas de outras células imaturas pela expressão de moléculas de superfície restritas à linhagem B, como CD19 e CD10. As proteínas Rag-1 e Rag-2 são

expressas inicialmente nesse estágio, e a primeira recombinação de genes da Ig ocorre no locus da cadeia pesada. Esta recombinação aproxima um segmento gênico D e um J, com deleção do DNA intercalado entre eles (Fig. 8-13, A). Os segmentos D que estão a 5' do segmento D rearranjado e os segmentos J que estão a 3' do segmento J rearranjado são eliminados por esta recombinação (p. ex., D1 e J2 a J6 na Fig. 8-13, A). Após o evento de recombinação D-J, um dos vários genes V a 5' une-se à unidade DJ, dando origem ao éxon VDJ rearranjado. Nesta etapa, todos os segmentos V e D entre os genes V e D reorganizados também sofrem deleção. A recombinação V-a-DJ no locus da cadeia pesada H da Ig ocorre apenas em precursores dos linfócitos B comprometidos e é um evento crítico na expressão da Ig, porque somente o gene V rearranjado é subsequentemente transcrito. A enzima TdT, que catalisa a adição, sem auxílio de molde, dos nucleotídeos N juncionais, é expressada de modo mais abundante durante o estágio pró-B, quando a recombinação VDJ ocorre no locus H da Ig, e os níveis de TdT diminuem antes de completar a recombinação V-J do gene da cadeia leve. Portanto, a diversidade juncional atribuída à adição de nucleotídeos N é mais proeminente nos genes da cadeia pesada do que nos genes da cadeia leve.



**FIGURA 8-13** Recombinação e expressão dos genes das cadeias leve e pesada da Ig.

A seqüência dos eventos de recombinação do DNA e expressão gênica é mostrada para a cadeia pesada  $\mu$  da Ig (A) e a cadeia leve  $\kappa$  da Ig (B). No exemplo mostrado em A, a região V da cadeia pesada  $\mu$  é codificada pelos éxons V1, D2 e J1. No exemplo mostrado em B, a região V da cadeia  $\kappa$  é codificada pelos éxons V2 e J1.

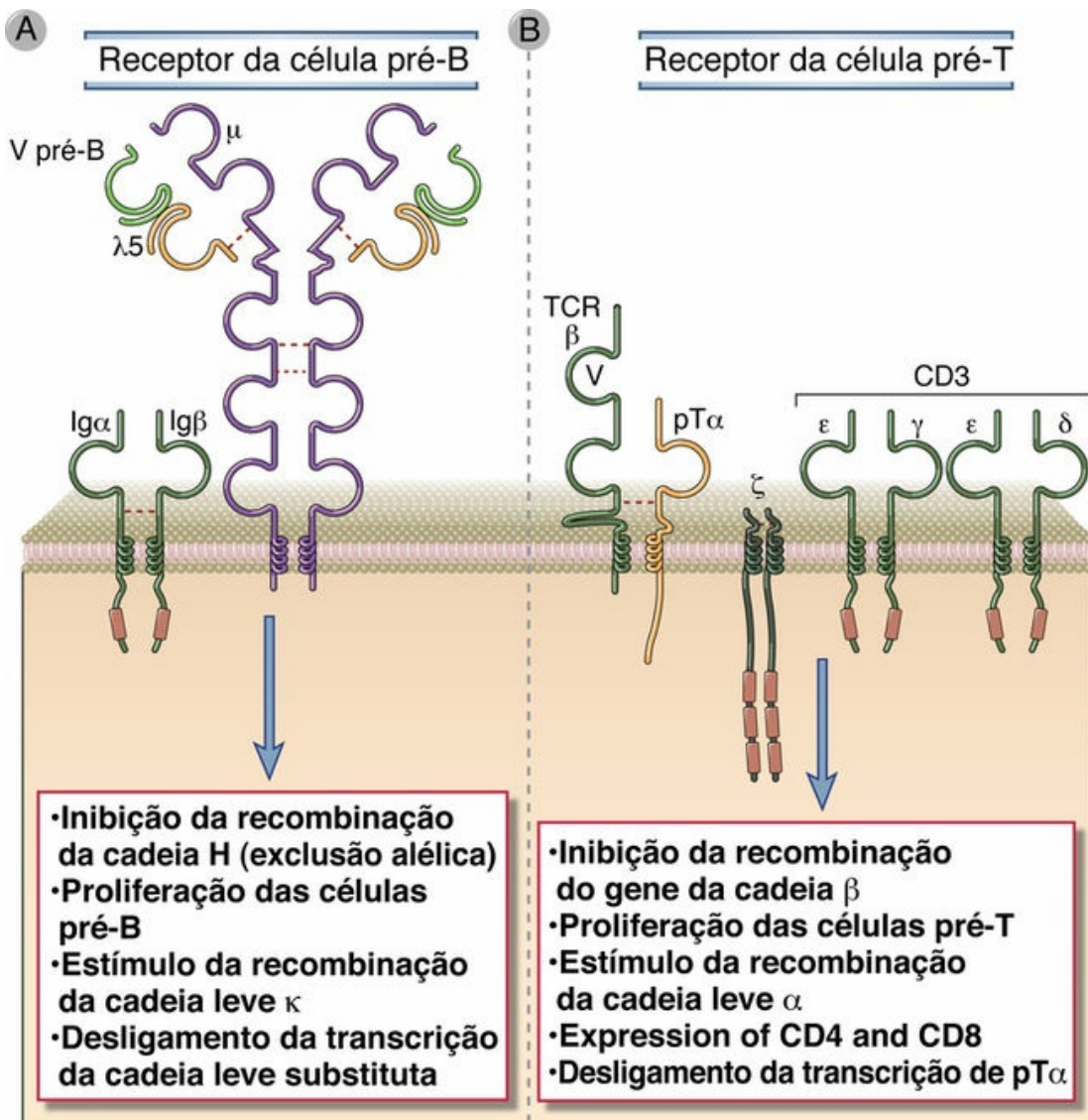
Os éxons da região C da cadeia pesada se mantêm separados do complexo VDJ pelo DNA que contém os segmentos J distais e o íntron J-C. O gene da cadeia pesada da Ig rearranjado é transcrito para produzir um transcrito primário, que inclui o complexo VDJ rearranjado e os éxons C<sub>μ</sub>. O RNA nuclear C<sub>μ</sub> é clivado **abaixo** de um de dois locais de poliadenilação de consenso, e vários nucleotídeos de adenina,

denominados caudas poli-A, são adicionados à extremidade 3'. Este RNA nuclear sofre *splicing*, um evento de processamento de DNA, no qual os íntrons são removidos e os éxons são unidos. No caso do RNA  $\mu$ , os íntrons entre o éxon líder e o éxon VDJ, entre o éxon VDJ e o primeiro éxon do locus  $C_{\mu}$ , e entre cada éxon subsequente da região constante de  $C_{\mu}$  são removidos, dando origem a um mRNA processado para a cadeia pesada  $\mu$ . Se o mRNA for derivado de um locus de Ig em que o rearranjo foi produtivo, a tradução do mRNA da cadeia pesada  $\mu$  rearranjada conduz à síntese da proteína  $\mu$ . Para que o rearranjo seja produtivo (na fase de leitura correta), as bases devem ser adicionadas ou removidas nas junções em múltiplos de três, garantindo que o gene da Ig rearranjado será capaz de codificar corretamente uma proteína da Ig. Aproximadamente metade de todas as células pró-B fazem rearranjos produtivos no locus H da Ig em pelo menos um cromossomo, e podem, assim, passar a sintetizar a proteína da cadeia pesada  $\mu$ . Apenas células que fazem rearranjos produtivos sobrevivem e se diferenciam.

Uma vez realizado um rearranjo produtivo de  $\mu$  da Ig, a célula deixa de ser chamada de célula pró-B e já está diferenciada no estágio pró-B. As **células pré-B** são células da linhagem B em desenvolvimento que expressam a proteína  $\mu$  da Ig, mas que ainda devem rearranjar seus *loci* da cadeia leve. A célula pré-B expressa a cadeia pesada  $\mu$  na superfície celular, em associação a outras proteínas, em um complexo denominado receptor da célula pré-B, que possui vários papéis importantes na maturação da célula B.

## O Receptor da Célula Pré-B

**Complexos da cadeia pesada  $\mu$ , cadeias leves substitutas e proteínas de transdução de sinais, denominadas  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$ , formam o receptor pré-antígeno na linhagem B, conhecido como receptor da célula pré-B (pré-BCR).** A cadeia pesada  $\mu$  associa-se às proteínas pré-B  $\lambda 5$  e V, também denominadas cadeias leves substitutas porque são estruturalmente homólogas às cadeias leves  $\kappa$  e  $\lambda$ , mas não são variáveis (ou seja, são idênticas em todas as células pré-B) e são sintetizadas apenas para formar células pró-B e pré-B (Fig. 8-14, A). O  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  também fazem parte do receptor de células B nas células B maduras (Cap. 7). Os sinais originados do pré-BCR são responsáveis pela maior expansão proliferativa das células da linhagem B na medula óssea. Não se sabe o que o pré-BCR reconhece; o ponto de vista consensual atualmente é que este receptor funciona de maneira independente de ligante e que é ativado pelo processo de montagem. A importância dos pré-BCR é ilustrada por estudos de camundongos *knockouts* e casos raros de deficiências humanas desses receptores. Por exemplo, em camundongos, o *knockout* do gene que codifica a cadeia  $\mu$  ou uma das cadeias leves resulta em números significativamente reduzidos de células B maduras, porque o desenvolvimento é bloqueado no estágio pró-B.



**FIGURA 8-14** Receptores das células pré-B e pré-T.

Os receptores das células pré-B (A) e pré-T (B) são expressados durante os estágios de maturação das células pré-B e pré-T, respectivamente, e os dois receptores compartilham estruturas e funções semelhantes. O receptor da célula pré-B é composto da cadeia pesada  $\mu$  e uma cadeia leve substituta invariável. A cadeia leve substituta é composta de duas proteínas, a proteína pré-B V, que é homóloga ao domínio V da cadeia leve, e uma proteína  $\lambda.5$  que está ligada covalentemente à cadeia pesada  $\mu$  por uma ponte dissulfeto. O receptor da célula pré-T é composto da cadeia  $\beta$  do TCR e da cadeia  $\alpha$  pré-T ( $pT\alpha$ ) invariável. O receptor da célula pré-B está associado às moléculas sinalizadoras  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$ , que fazem parte do complexo BCR nas células B maduras (Cap. 9), e o receptor da célula pré-T associa-se às proteínas CD3 e  $\zeta$ , que fazem parte do



complexo TCR nas células T maduras (Cap. 7).

**A expressão do pré-BCR é o primeiro ponto de controle na maturação de células B.** Muitas moléculas de sinalização relacionadas ao pré-BCR e ao BCR são necessárias para as células passarem, com sucesso, pelo ponto de controle mediado pelo pré-BCR na transição de célula pró-B para pré-B. Uma quinase, denominada tirosinoquinase de Bruton (Btk), é ativada abaixo do pré-BCR e é necessária para a transmissão de sinais a partir deste receptor que medeiam a sobrevivência, proliferação e maturação no estágio de células pré-B e além. Em humanos, mutações do gene *BTK* resultam na doença denominada **agamaglobulinemia ligada ao X (XLA)**, a qual é caracterizada por uma falha de maturação das células B (Cap. 21). Em uma cepa de camundongos denominada Xid (para imunodeficiência ligada ao X), as mutações em *btk* resultam em um defeito menos grave de células B, porque as células pré-B murinas expressam uma segunda quinase semelhante à Btk, denominada Tec, que compensa parcialmente o Btk defeituoso.

**O pré-BCR regula o rearranjo adicional dos genes da Ig de duas maneiras.** Primeiramente, se uma proteína  $\mu$  for produzida a partir do locus da cadeia pesada recombinado em um cromossomo e formar um pré-BCR, este receptor sinaliza para inibir de maneira irreversível o rearranjo do locus da cadeia pesada da Ig no outro cromossomo. Se o primeiro rearranjo for não produtivo, o alelo da cadeia pesada no outro cromossomo pode completar o rearranjo VDJ no locus H da Ig. Assim, em qualquer clone de células B, um alelo da cadeia pesada é rearranjado de maneira produtiva e expressado, e o outro é retido na configuração da linhagem germinativa ou rearranjado de forma não produtiva. Como resultado, uma célula B individual pode expressar uma proteína da cadeia pesada da Ig codificada por apenas um dos dois alelos herdados. Este fenômeno é denominado **exclusão alélica**, e garante que todas as células B expressarão um receptor único, mantendo, assim, a especificidade clonal. Se os dois alelos forem submetidos a rearranjos gênicos de H da Ig não produtivos, a célula em desenvolvimento não poderá produzir as cadeias pesadas da Ig, não poderá gerar um sinal de sobrevivência dependente do pré-BCR e, portanto, será submetida à morte celular programada. A exclusão alélica da cadeia pesada da Ig envolve mudanças na estrutura da cromatina no locus da cadeia pesada, que limitam a acessibilidade à recombinase V(D)J.

A segunda maneira pela qual o pré-BCR regula a produção do receptor de antígeno é por meio do estímulo do rearranjo do gene da cadeia leve  $\kappa$ . No entanto, a expressão da cadeia  $\mu$  não é absolutamente necessária para a recombinação do gene da cadeia leve, como mostrado pela descoberta de que camundongos *knockouts* sem o gene  $\mu$  iniciam o rearranjo do gene da cadeia leve em algumas células B em desenvolvimento (que, naturalmente, não podem expressar receptores de antígeno funcionais e prosseguir à maturação). O pré-BCR também contribui para



a inativação da expressão do gene da cadeia leve substituta conforme as células pré-B amadurecem.

## Células B Imaturas

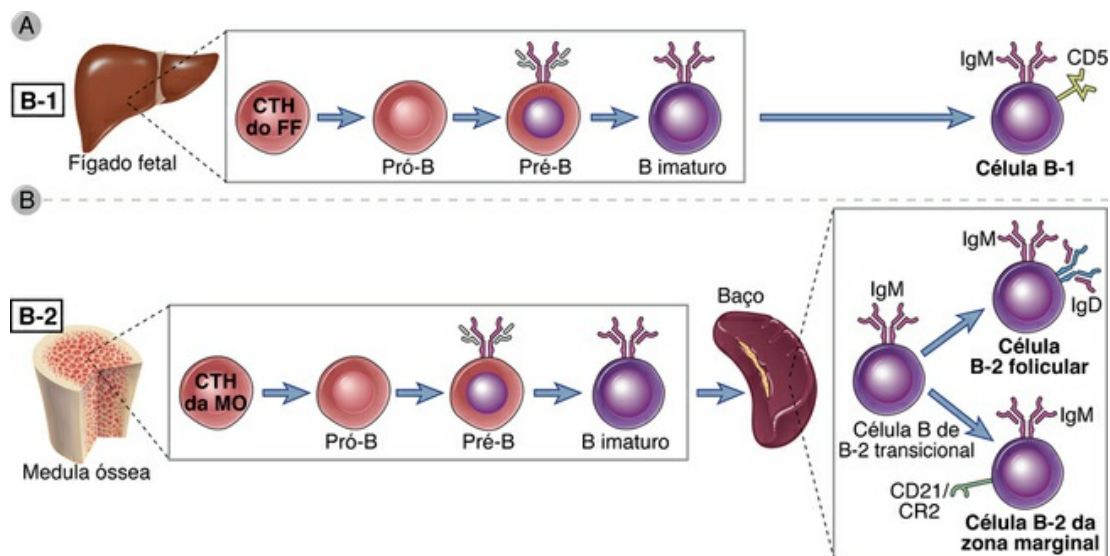
**Após o estágio de células pré-B, cada célula B em desenvolvimento rearranja, inicialmente, um gene da cadeia leve  $\kappa$ .** Se o rearranjo for interno, produzirá uma proteína da cadeia leve  $\kappa$ , que se associa à cadeia  $\mu$  sintetizada anteriormente para produzir uma proteína de IgM completa. Se o locus  $\kappa$  não for rearranjado de maneira produtiva, a célula pode rearranjar o locus  $\lambda$  e, novamente, produzir uma molécula de IgM completa (a indução do rearranjo do gene da cadeia leve  $\lambda$  ocorre principalmente quando os receptores da célula B que expressam  $\kappa$  da Ig são autorreativos, conforme será discutido posteriormente). A célula B que expressa IgM é denominada **célula B imatura**. A recombinação de DNA no locus da cadeia leve  $\kappa$  ocorre de maneira semelhante à no locus da cadeia pesada da Ig (Fig. 8-13, B). Não há segmentos D nos loci da cadeia leve, e, portanto, a recombinação envolve somente a junção de um segmento V a um segmento J, formando um éxon VJ. Este éxon VJ se mantém separado da região C por um íntron, e esta separação é retida no transcrito primário de RNA. O processamento (*splicing*) do transcrito primário resulta na remoção do íntron entre os éxons VJ e C e gera um mRNA que é traduzido para produzir a proteína  $\kappa$  ou  $\lambda$ . No locus  $\lambda$ , um processamento (*splicing*) alternativo de RNA pode levar ao uso de um dos quatro éxons  $C_\lambda$  funcionais, mas não há diferenças funcionais conhecidas entre os tipos resultantes de cadeias leves  $\lambda$ . A produção de uma proteína  $\kappa$  evita o rearranjo de  $\lambda$ , e, conforme explicado anteriormente, o rearranjo de  $\lambda$  ocorre somente se o rearranjo de  $\kappa$  não tiver sido produtivo ou se ocorrer a deleção de uma cadeia leve  $\kappa$  rearranjada autorreativa. Como resultado, um clone de células B pode expressar somente um de dois tipos de cadeias leves; este fenômeno é denominado exclusão do isotipo de cadeia leve. Assim como no locus da cadeia pesada, um gene  $\kappa$  ou  $\lambda$  é expressado a partir de somente um de dois cromossomos pais em qualquer célula B, e o outro alelo é excluído. Além disso, como para as cadeias pesadas, se os dois alelos de ambas as cadeias  $\kappa$  e  $\lambda$  forem rearranjados de maneira não funcional em uma célula B em desenvolvimento, esta célula não consegue receber sinais de sobrevivência que são normalmente gerados pelo BCR e morre.

As moléculas de IgM montadas são expressadas na superfície celular em associação a Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ , onde funcionam como receptores específicos para antígenos. Em células que não são fortemente autorreativas, o BCR emite sinais tônicos independentes de ligantes que mantêm as células B vivas e também medeia o desligamento da expressão do gene *RAG*, evitando, assim, o rearranjo adicional de genes da Ig. As células B imaturas não se proliferam e não se diferenciam em resposta a antígenos. Na realidade, quando reconhecem antígenos na medula óssea com alta afinidade, o que pode ocorrer quando as células B expressam receptores

para antígenos próprios multivalentes que estão presentes na medula óssea, as células B podem passar por edição do receptor ou morte celular, conforme descrito adiante. Estes processos são importantes para a seleção negativa de células B fortemente autorreativas. As células B imaturas que não são altamente autorreativas deixam a medula óssea e completam sua maturação no baço antes de migrar para outros órgãos linfóides periféricos.

## Subgrupos de Células B Maduras

**Subgrupos distintos de células B se desenvolvem a partir de diferentes progenitores** (Fig. 8-15). As CTH derivadas do fígado fetal são as precursoras das células B-1. As CTH derivadas da medula óssea dão origem à maioria das células B. Estas células passam rapidamente por dois estágios de transição e podem se comprometer com o desenvolvimento em **células B da zona marginal** ou em **células B foliculares**. A afinidade do receptor de células B com antígenos próprios pode contribuir para o direcionamento da diferenciação de uma célula B em amadurecimento em uma célula B folicular ou em uma célula B da zona marginal.



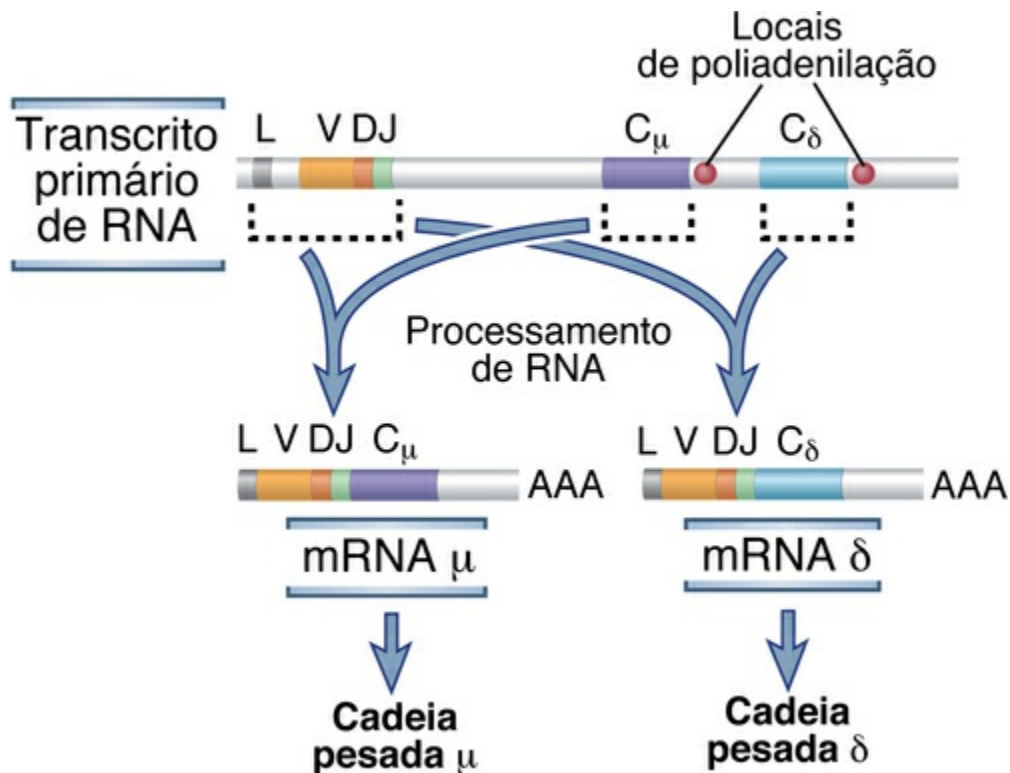
**FIGURA 8-15** Subgrupos de linfócitos B.

**A**, A maioria das células B que se desenvolvem a partir das células-tronco derivadas do fígado fetal se diferenciam na linhagem B-1. **B**, Os linfócitos B oriundos dos precursores da medula óssea após o nascimento dão origem à linhagem B-2. Os dois subconjuntos principais de linfócitos B são derivados dos precursores das células B de B-2. As células B foliculares são linfócitos recirculantes; as células B da zona marginal são abundantes no baço de roedores, mas também podem ser encontradas nos linfonodos em humanos.

## Células B Foliculares

### **A maioria das células B maduras pertence ao subgrupo de células B foliculares e produz IgD além de IgM.**

Cada uma destas células B coexpressa as cadeias pesadas  $\mu$  e  $\delta$  usando o mesmo éxon VDJ para gerar o domínio V e em associação à mesma cadeia leve  $\kappa$  ou  $\lambda$  para produzir dois receptores de membrana com a mesma especificidade antigênica. A expressão simultânea, em uma única célula B, do mesmo éxon VDJ rearranjado em dois transcritos, um incluindo éxons  $C_\mu$  e o outro, éxons  $C_\delta$ , ocorre por meio do processamento (*splicing*) alternativo do RNA (Fig. 8-16). Um longo transcrito primário de RNA é produzido contendo a unidade de VDJ rearranjada, bem como os genes  $C_\mu$  e  $C_\delta$ . Se o transcrito primário for clivado e poliadenilado depois dos éxons  $\mu$ , os íntrons são retirados de modo que o éxon VDJ fique contíguo com éxons  $C_\mu$ ; isso resulta na produção de um mRNA  $\mu$ . Se, no entanto, o complexo VDJ não estiver ligado a éxons  $C_\mu$ , mas unido a éxons  $C_\delta$ , ocorre a produção de um mRNA  $\delta$ . A tradução subsequente resulta na síntese de uma proteína da cadeia pesada  $\mu$  ou  $\delta$  completa. Assim, a poliadenilação seletiva e o processamento (*splicing*) alternativo permitem que uma célula B produza simultaneamente mRNAs maduros e proteínas de dois isotipos de cadeia pesada diferentes. Os mecanismos precisos que regulam a escolha da poliadenilação ou locais aceptores de processamento pelos quais o VDJ rearranjado é unido a  $C_\mu$  ou  $C_\delta$  são pouco compreendidos, bem como os sinais que determinam quando e por que uma célula B expressa ambos IgM e IgD, e não apenas IgM. A coexpressão de IgM e IgD é acompanhada pela capacidade de recircular e a aquisição da competência funcional, e é por isso que as células B  $IgM^+IgD^+$  são também denominadas **células B maduras**. Esta correlação entre a expressão de IgD e aquisição de competência funcional levou à sugestão de que o IgD é essencial para a ativação do receptor de células B maduras. No entanto, não há nenhuma evidência de uma diferença funcional entre o IgM de membrana e o IgD de membrana. Além disso, o *knockout* do gene  $\delta$  da Ig em camundongos não tem um impacto significativo na maturação ou nas respostas induzidas por antígenos das células B. As células foliculares B também são muitas vezes denominadas de células B recirculantes, porque migram de um órgão linfóide ao próximo, residindo em nichos especializados conhecidos como folículos de células B (Cap. 2). Nestes nichos, as células B são mantidas, em parte, por sinais de sobrevivência entregues por uma citocina da família do fator de necrose tumoral (TNF) denominada BAFF ou BlyS (Cap. 12).



**FIGURA 8-16** Coexpressão de IgM e IgD.

O processamento alternativo do transcrito de RNA primário resulta na formação de um mRNA  $\mu$  ou  $\delta$ . As linhas tracejadas indicam os segmentos da cadeia H que são unidos por processamento (*splicing*) do RNA.

As células B maduras virgens são responsivas aos antígenos, a menos que as células encontrem antígenos que reconheçam com alta afinidade e aos quais elas respondam, morrem em alguns meses. No [Capítulo 12](#), será discutido como estas células respondem a antígenos e como o padrão de expressão do gene da Ig se altera durante a diferenciação das células B induzidas por antígenos.

### Células B Marginais e da Zona B-1

**Um subgrupo de linfócitos B, denominado células B-1, expressa uma diversidade limitada de receptores de antígenos e pode ter funções exclusivas.** Estas células se desenvolvem a partir de CTH derivadas do fígado fetal e são melhor definidas em roedores. A maioria das células B-1 murinas expressam a molécula CD5. Em adultos, grandes números de células B-1 são encontrados como uma população autorrenovável no peritônio e nas mucosas. As células B-1 se desenvolvem mais cedo durante a ontogenia do que as células foliculares e da zona marginal, expressam um repertório relativamente limitado de genes V e exibem uma diversidade juncional muito menor do que as células B convencionais (já que a TdT não é expressada no fígado fetal). As células B-1 secretam espontaneamente anticorpos IgM que frequentemente reagem a lipídios e polissacarídeos microbianos,

assim como lipídios oxidados produzidos por peroxidação lipídica. Estes anticorpos são algumas vezes chamados de anticorpos naturais porque estão presentes em indivíduos sem imunização evidente, embora possivelmente a flora microbiana no intestino seja a fonte de antígenos que estimulam sua produção. As células B-1 contribuem para a produção rápida de anticorpos contra microrganismos em tecidos particulares, tais como o peritônio. Nas mucosas, metade das células secretoras de IgA na lâmina própria pode ser derivada de células B-1. As células B-1 são análogas às células T  $\gamma\delta$ , pois ambas possuem repertórios de receptores de antígenos de diversidade limitada e presume-se que ambas respondem a antígenos que são encontrados comumente nas interfaces do epitélio com o ambiente externo.

Em humanos, as células semelhantes a B-1 foram descritas, mas CD5 não é um marcador de definição para essas células, já que também é encontrado em células B transitórias e algumas populações de células B ativadas.

***As células da zona B marginal estão localizadas primariamente nas proximidades do seio marginal no baço e são semelhantes às células B-1 em relação à sua diversidade limitada e sua capacidade de responder a antígenos polissacarídios e gerar anticorpos naturais.*** As células B da zona marginal existem tanto em camundongos como em humanos e expressam IgM e o correceptor CD21. Em camundongos, as células B da zona marginal existem apenas no baço, enquanto em humanos, podem ser encontradas no baço e nos linfonodos. As células da zona B marginal respondem muito rapidamente a microrganismos transportados pelo sangue e diferenciam-se em plasmócitos secretores de IgM de vida curta. Embora elas geralmente mediem respostas imunes humorais dependentes de células T a patógenos circulantes, as células da zona B marginal também parecem ser capazes de mediar algumas respostas imunes dependentes de células T.

## Seleção do Repertório de Células B Maduras

O repertório de células B maduras é selecionado positivamente a partir do grupo das células B imaturas. Como veremos posteriormente, a seleção positiva é bem definida em linfócitos T e é responsável por combinar os TCR em células T  $CD8^+$  e  $CD4^+$  recém-geradas com a sua capacidade de reconhecer moléculas próprias de MCH classe I e classe II, respectivamente. Não há nenhuma restrição comparável para o reconhecimento de antígenos das células B. No entanto, a seleção positiva parece ser um fenômeno geral voltado principalmente para a identificação de linfócitos que tenham completado seu programa de rearranjo do gene do receptor de antígeno com sucesso. Apenas as células B que expressam moléculas de Ig de membrana funcionais recebem sinais derivados do BCR constitutivos (tônicos), os quais, conforme descrito anteriormente, são necessários para manter as células B imaturas vivas. Os antígenos próprios podem influenciar a intensidade do sinal do BCR e,

assim, a escolha subsequente da linhagem de células B periféricas durante a maturação de células B.

As células B imaturas que reconhecem antígenos próprios com alta afinidade podem ser induzidas a alterar suas especificidades por um processo denominado **edição de receptor**. O reconhecimento de um antígeno pelas células B imaturas induz a reativação dos genes *RAG* e o rearranjo e na produção de uma nova cadeia leve de Ig, permitindo que a célula expresse um receptor de células B diferente (editado), que não é autorreativo. O éxon VJk original, que codifica o domínio variável do gene de uma cadeia leve autorreativa, normalmente sofre deleção e é substituído por um novo rearranjo envolvendo um segmento de gene Vk acima e um Jk abaixo. Se o processo de edição não conseguir gerar um rearranjo da cadeia leve κ produtivo interno em qualquer cromossomo, a célula B imatura ativada pode, então, continuar a rearranjar o locus da cadeia leve λ, que está localizado em um cromossomo diferente. Quase todas as células B que carregam cadeias leves λ são, portanto, células que antes eram autorreativas e passaram por edição do receptor.

Se a edição do receptor falhar, as células B imaturas que expressam receptores de alta afinidade para antígenos próprios e que encontram estes antígenos na medula óssea ou no baço podem morrer por apoptose. Este processo também é denominado **seleção negativa**. Os antígenos que medeiam a seleção negativa — geralmente, antígenos próprios abundantes ou polivalentes, como ácidos nucleicos, lipídios ligados à membrana e proteínas de membrana — emitem fortes sinais aos linfócitos B imaturos que expressam IgM, os quais expressam receptores específicos para estes antígenos próprios. Tanto a edição do receptor quanto a deleção são responsáveis por manter a tolerância das células B aos antígenos próprios presentes na medula óssea (Cap. 15).

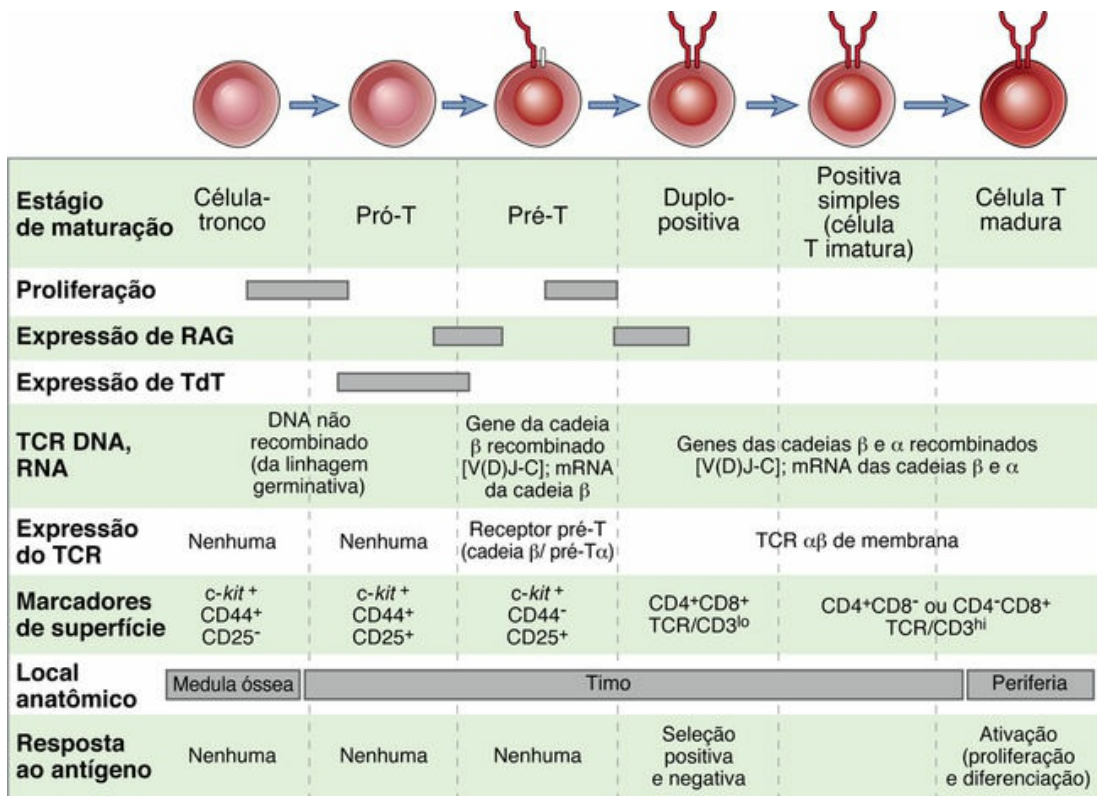
Quando a transição ao estágio de célula B madura IgM<sup>+</sup> IgD<sup>+</sup> é realizada, o reconhecimento do antígeno leva à proliferação e à diferenciação, e não à edição do receptor ou à apoptose. Como resultado, as células B maduras que reconhecem antígenos com alta afinidade em tecidos linfoides periféricos são ativadas, e este processo leva às respostas imunes humorais. As células B foliculares produzem a maioria das respostas de anticorpos dependentes de células T auxiliares a antígenos proteicos (Cap. 12).

## Desenvolvimento dos linfócitos T

***O desenvolvimento dos linfócitos T maduros a partir de progenitores comprometidos envolve o rearranjo sequencial e a expressão de genes do TCR, a proliferação celular, a seleção induzida por antígeno e o comprometimento com subgrupos fenotipicamente e funcionalmente distintos (Fig. 8-17).*** Isto se assemelha à maturação das células B de várias maneiras. No entanto, a maturação das células T possui algumas características



únicas que refletem a especificidade da maioria dos linfócitos T aos antígenos peptídicos próprios associados ao MHC e à necessidade de um microambiente especial para a seleção de células com esta especificidade.



**FIGURA 8-17** Estágios da maturação da célula T.

Os eventos correspondentes a cada estágio da maturação da célula T a partir da célula-tronco da medula óssea até o linfócito T maduro são ilustrados. Vários marcadores de superfície, além dos mostrados, têm sido utilizados para definir diferentes estágios de maturação da célula T.

## Papel do Timo na Maturação da Célula T

**O timo é o principal local de maturação das células T.** Suspeitou-se desta função do timo primeiramente devido às deficiências imunológicas associadas à falta de um timo. A ausência congênita do timo, como ocorre na síndrome de DiGeorge em humanos ou na cepa de camundongo *nude*, é caracterizada por baixos números de células T maduras na circulação e nos tecidos linfoides periféricos e deficiências graves da imunidade mediada por células T (Cap. 21). Se o timo for removido de um camundongo neonato, este animal não conseguirá desenvolver células T maduras. O primórdio do timo se desenvolve a partir da endoderme da terceira bolsa faríngea e

do mesênquima derivado da crista neural subjacente e é subsequentemente populado por precursores derivados de medula óssea. O timo involui com a idade e é praticamente indetectável em humanos pós-púberes, resultando em uma liberação relativamente reduzida de células T maduras. No entanto, a maturação de células T continua ao longo da vida adulta, como indicado pela reconstituição bem-sucedida do sistema imunológico em indivíduos adultos que recebem transplante de medula óssea. É provável que o remanescente do timo involuído seja adequado para que ocorra alguma maturação de células T. Como as células T de memória possuem uma vida útil longa (talvez de mais de 20 anos em humanos) e se acumulam com a idade, a necessidade de gerar novas células T diminui à medida que as pessoas envelhecem.

**Os linfócitos T originam-se de precursores que surgem no fígado fetal e na medula óssea adulta e se alojam no timo.** Estes precursores são progenitores multipotentes que entram no timo por meio da corrente sanguínea, atravessando o endotélio de uma vênula pós-capilar na região de junção corticomedular do timo. Em camundongos, os linfócitos imaturos são detectados pela primeira vez no timo no 11<sup>o</sup>. dia de gestação normal de 21 dias. Isso corresponde a cerca de 7 ou 8 semanas de gestação em humanos. As células T em desenvolvimento no timo são denominadas **timócitos**. Os timócitos mais imaturos são encontrados no seio subcapsular e na região cortical exterior do timo. A partir daqui, os timócitos migram para dentro e através do córtex, onde a maioria dos eventos de maturação subsequentes ocorrem. É no córtex que os timócitos expressam inicialmente os TCRs  $\gamma\delta$  e  $\alpha\beta$ . As células T  $\alpha\beta$  amadurecem em células T CD4<sup>+</sup> restritas ao MHC de classe II ou CD8<sup>+</sup> restritas ao MHC de classe I à medida que saem do córtex e entram na medula. A partir da medula, os timócitos positivos unicamente para CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> saem do timo por meio da circulação. A maturação das células T  $\alpha\beta$  será discutida nas seções seguintes, e a das células T  $\gamma\delta$ , no final do capítulo.

**O ambiente do timo proporciona estímulos que são necessários para a proliferação e maturação dos timócitos.** Muitos destes estímulos vêm de células tímicas diferentes das células T em maturação. Dentro do córtex, as células epiteliais corticais tímicas formam uma malha de longos processos citoplasmáticos, em torno dos quais os timócitos devem passar para atingir a medula. As células epiteliais de um tipo distinto, conhecidas como células epiteliais tímicas medulares, também estão presentes na medula óssea e podem desempenhar um papel único na apresentação de antígenos próprios para a seleção negativa de células T em desenvolvimento (Cap. 15). As células dendríticas derivadas da medula óssea estão presentes na junção corticomedular e dentro da medula, e os macrófagos estão presentes principalmente no interior da medula. A migração de timócitos através desta disposição anatômica permite interações físicas entre os timócitos e essas outras células que são necessárias para a maturação e seleção dos linfócitos T. As células

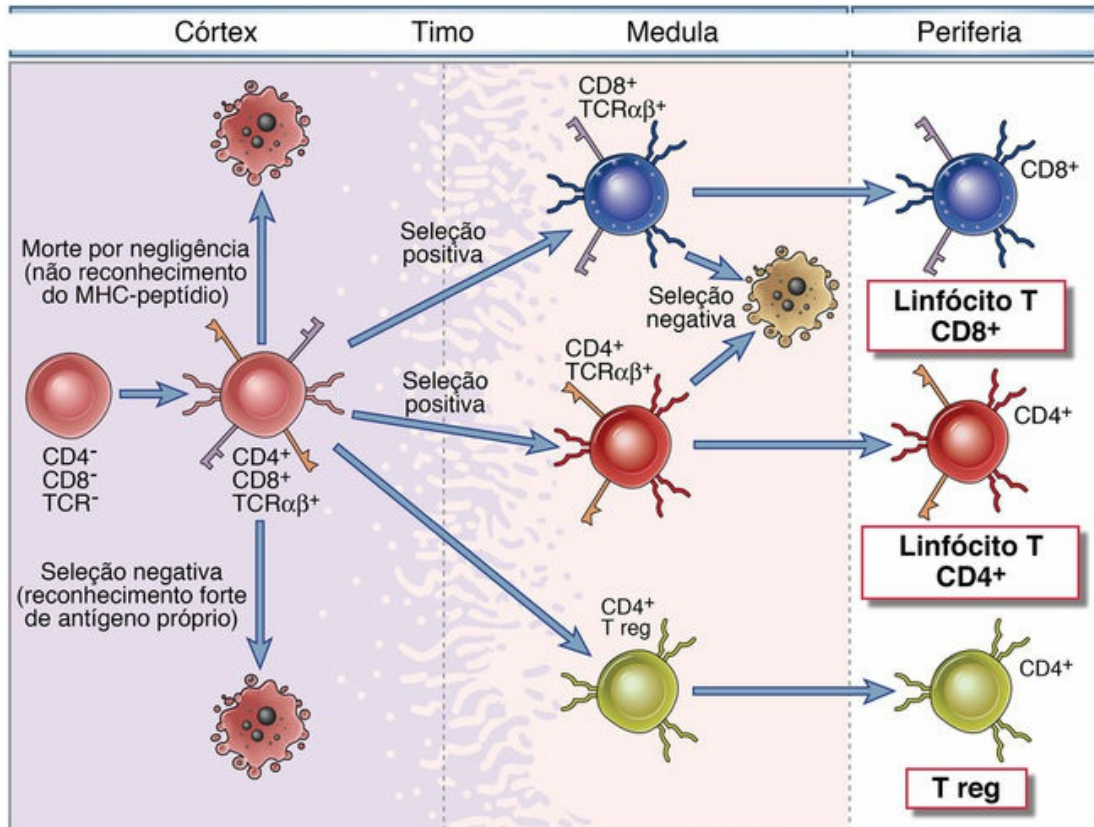
epiteliais e dendríticas do timo expressam moléculas de MHC classe I e classe II. As interações de timócitos em maturação com estas moléculas de MHC são essenciais para a seleção do repertório de células T maduras, como será discutido posteriormente.

O movimento das células para dentro e através do timo é conduzido por quimiocinas. Os progenitores de timócitos expressam o receptor de quimiocina CCR9, que se liga à quimiocina CCL25, produzida no córtex do timo. A entrada de precursores no timo depende de CCL25 e CCR9. Quimiocinas como CCL21 e CCL19, que são reconhecidas pelo receptor de quimiocina CCR7 em timócitos, medeiam o movimento das células T em desenvolvimento direcionado do córtex para a medula. Eventualmente, os linfócitos T recém-formados, que expressam o receptor de esfingosina 1-fosfato (Cap. 3), deixam a medula do timo seguindo um gradiente de esfingosina 1-fosfato, entrando na corrente sanguínea.

As células do estroma do timo, incluindo células epiteliais, secretam IL-7, que foi mencionada anteriormente como um fator de crescimento linfopoiético crítico. As taxas de proliferação celular e morte apoptótica são extremamente elevadas em timócitos corticais. Um único precursor dá origem a uma grande progênie, e 95% destas células morrem por apoptose antes de chegar à medula. A morte celular se deve a uma combinação de fatores, incluindo a incapacidade de rearranjar de maneira produtiva o gene da cadeia  $\beta$  do TCR e, portanto, de passar no ponto de controle seleção pré-TCR/ $\beta$  (descrito posteriormente), o fato de a célula não ser selecionada positivamente por moléculas de MHC próprias no timo, e a seleção negativa induzida por antígenos próprios (Fig. 8-3).

## Estágios de Maturação das Células T

***Durante a maturação das células T, há uma ordem precisa pela qual os genes do TCR são rearranjados e pela qual o TCR e os correceptores CD4 e CD8 são expressos*** (Fig. 8-18; Fig. 8-17). No camundongo, a expressão do TCR  $\gamma\delta$  na superfície ocorre primeiro, dentro de 3 a 4 dias depois da chegada das células precursoras no timo, e o TCR  $\alpha\beta$  é expresso 2 ou 3 dias mais tarde. Nos timos fetais humanos, a expressão de TCR  $\gamma\delta$  começa em cerca de 9 semanas de gestação, seguida da expressão do TCR  $\alpha\beta$  com 10 semanas.



**FIGURA 8-18** Maturação das células T no timo.

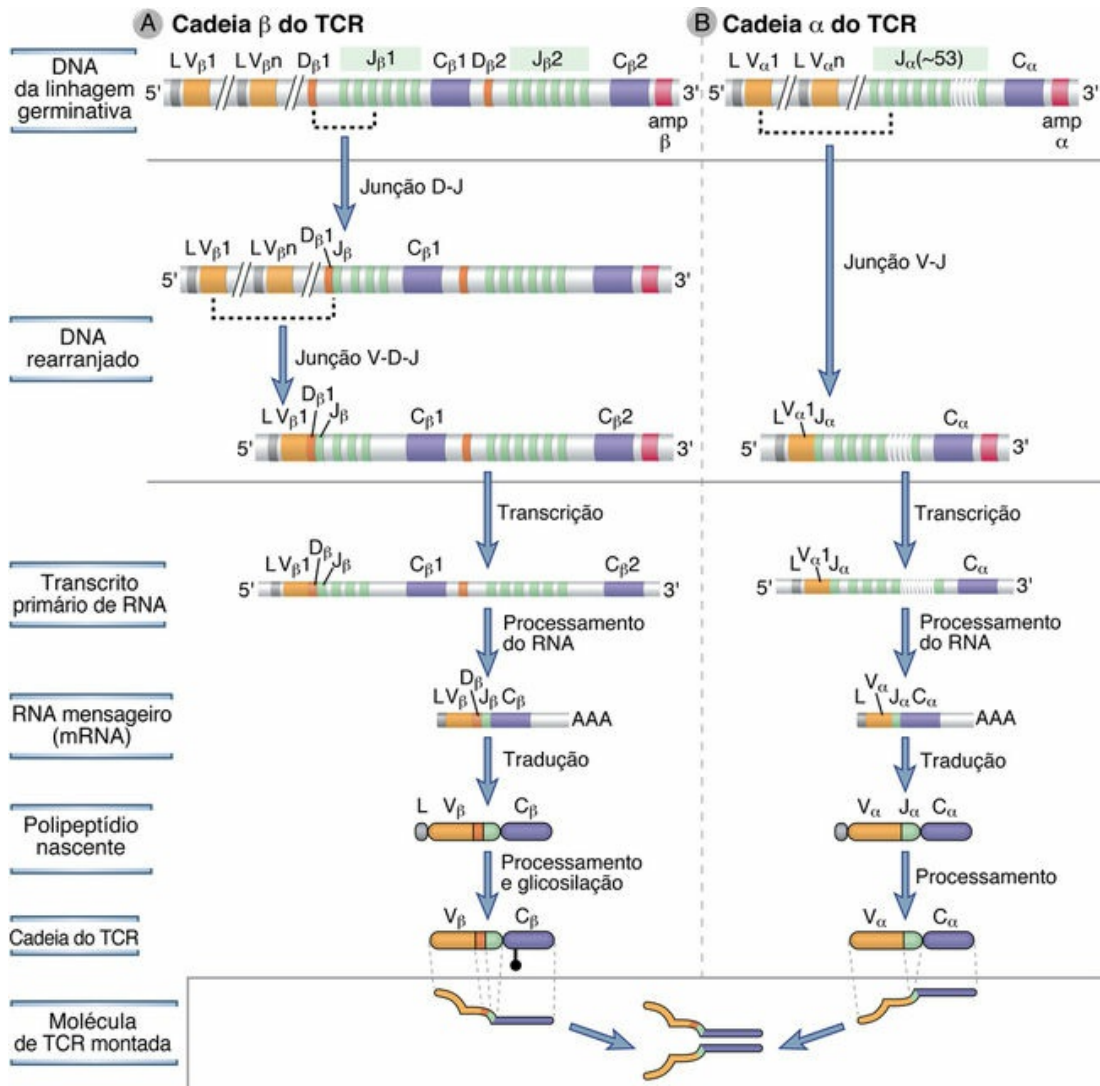
Os precursores das células T viajam da medula óssea até o timo através da corrente sanguínea. No córtex do timo, os progenitores das células T  $\alpha\beta$  expressam TCRs e os correceptores CD4 e CD8. Os processos de seleção eliminam as células T autorreativas no córtex no estágio duplo-positivo (DP) e também tímócitos medulares positivos simples (PS). Eles promovem a sobrevivência dos tímócitos cujos TCRs se ligam a moléculas de MHC com baixa afinidade. A diferenciação funcional e fenotípica para células T CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> ou CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup> ocorre na medula, e as células T maduras são liberadas na circulação. Algumas células duplo-positivas diferenciam-se em células T reguladoras (Cap.15). O desenvolvimento de células T  $\gamma\delta$  não é mostrado.

### Timócitos Duplo-Negativos

Os tímócitos corticais mais imaturos, recém-chegados da medula óssea, contêm genes de TCR na sua configuração de linhagem germinativa e não expressam TCR, CD3, cadeias  $\zeta$ , CD4 ou CD8; estas células são denominadas **tímócitos duplo-negativos**. Considera-se que os tímócitos neste estágio também estejam no estágio de células pró-T de maturação. A maioria (> 90%) dos tímócitos duplo-negativos que

sobrevivem a processos de seleção do timo acabarão por dar origem a células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> restritas ao MHC que expressam TCR  $\alpha\beta$ , e o restante destes tímócitos dará origem a células T  $\gamma\delta$ . As proteínas Rag-1 e Rag-2 são expressas primeiramente no estágio duplo-negativo do desenvolvimento das células T e são necessárias para o rearranjo de genes do TCR. Os rearranjos D $\beta$ -a-J $\beta$  no locus da cadeia pesada  $\beta$  do TCR ocorrem primeiro; estes envolvem a junção do segmento gênico D $\beta$ 1 a um dos seis segmentos J $\beta$ 1 ou a junção do segmento D $\beta$ 2 a um dos seis segmentos J $\beta$ 2 (Fig. 8-19, A). Os rearranjos V $\beta$ -a-DJ $\beta$  ocorrem na transição entre o estágio pró-T e o estágio pré-T subsequente durante o desenvolvimento das células T  $\alpha\beta$ . As sequências de DNA entre os segmentos submetidos a rearranjo, incluindo os genes D, J, e possivelmente C $\beta$ 1 (se os segmentos D $\beta$ 2 e J $\beta$ 2 forem usados), sofrem deleção durante este processo de rearranjo. Os transcritos nucleares primários dos genes  $\beta$  do TCR contêm o íntron entre o éxon VDJ $\beta$  recombinado e o gene C $\beta$  relevante (assim como os 3 íntrons adicionais entre os 4 éxons que compõem cada gene C $\beta$ , indicados na figura como um único éxon para facilitar). Caudas poli-A são acrescentadas após a clivagem do transcrito primário abaixo das regiões de poliadenilação de consenso localizadas a 3' da região C $\beta$ , e as sequências entre o éxon VDJ e C $\beta$  são unidas para formar um mRNA maduro, em que os segmentos VDJ estão justapostos ao primeiro éxon de um dos dois genes C $\beta$  (dependendo de qual segmento J foi selecionado durante o processo de rearranjo). A tradução deste mRNA dá origem a uma proteína da cadeia  $\beta$  do TCR de comprimento integral. Os dois genes C $\beta$  parecem ser funcionalmente intercambiáveis e uma célula T nunca muda de um gene C para outro. Além disso, o uso de qualquer gene C $\beta$  não influencia a função ou especificidade do TCR. Os promotores nas regiões flangeadoras 5' dos genes V $\beta$  atuam juntamente com um amplificador potente, que está localizado a 3' do gene C $\beta$ 2, assim que os genes V são aproximados do gene C por recombinação VDJ. Esta proximidade do promotor ao amplificador é responsável por uma transcrição específica da célula T de alto nível do gene da cadeia  $\beta$  do TCR rearranjado.





**FIGURA 8-19** Recombinação e expressão dos genes das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR.

A sequência dos eventos de recombinação do DNA e expressão gênica é mostrada para a cadeia  $\beta$  do TCR **(A)** e a cadeia  $\alpha$  do TCR **(B)**. No exemplo mostrado em **A**, a região variável (V) da cadeia  $\beta$  do TCR inclui os segmentos gênicos  $V_{\beta 2}$  e  $D_{\beta 1}$  e o terceiro segmento J no agrupamento  $J_{\beta 1}$ . A região constante (C) neste exemplo é codificada pelos éxons do gene  $C_{\beta 1}$ , representados como um único éxon para facilitar. Observe que, no locus da cadeia  $\beta$  do TCR, o rearranjo inicia-se com a junção D-a-J, seguida da junção V-a-DK. Em humanos, 14 segmentos  $J_{\beta}$  foram identificados e nem todos são mostrados na figura. No exemplo mostrado em **B**, a região V da cadeia  $\alpha$  do TCR inclui o gene  $V_{\alpha 1}$  e o segundo segmento J do agrupamento  $J_{\alpha}$  (este agrupamento é constituído de pelo menos 61 segmentos  $J_{\alpha}$  em humanos;



nem todos são mostrados aqui).

## Receptor da Célula Pré-T

***Se um rearranjo produtivo (ou seja, interno) do gene da cadeia  $\beta$  do TCR ocorrer em uma determinada célula T duplo-negativa, a proteína da cadeia  $\beta$  do TCR será expressa na superfície celular em associação a uma proteína invariante, denominada pré-T $\alpha$ , e com as proteínas CD3 e  $\zeta$ , para formar o complexo do receptor da célula pré-T (pré-TCR) (Fig. 8-14, B).*** O pré-TCR medeia a seleção das células pré-T em desenvolvimento que rearranjam de maneira produtiva a cadeia  $\beta$  do TCR. Após a adição e remoção de bases durante o rearranjo de gene, cerca de metade de todas as células pré-T em desenvolvimento possui novas bases no gene da cadeia  $\beta$  do TCR que são múltiplos de três (em pelo menos um cromossomo  $\beta$  do TCR), e, portanto, apenas aproximadamente metade de todas as células pré-T em desenvolvimento expressam de maneira bem-sucedida a proteína  $\beta$  do TCR. A função do complexo de pré-TCR no desenvolvimento das células T é semelhante à do complexo pré-BCR que contém uma cadeia leve substituída no desenvolvimento das células B. Os sinais do pré-TCR medeiam a sobrevivência das células pré-T que tenham rearranjado de maneira produtiva o gene da cadeia  $\beta$  do TCR e contribuem para a maior expansão proliferativa durante o desenvolvimento das células T. Os sinais do pré-TCR também iniciam a recombinação no locus da cadeia  $\alpha$  do TCR e conduzem a transição do estágio duplo-negativo para o duplo-positivo do desenvolvimento dos timócitos (discutido mais adiante). Estes sinais também inibem a continuação do rearranjo do locus da cadeia  $\beta$  do TCR, limitando, em grande parte, a acessibilidade do outro alelo à maquinaria de recombinação. Isto resulta na exclusão alélica da cadeia  $\beta$  exclusão alélica (isto é, as células T maduras expressam apenas um dos dois alelos da cadeia  $\beta$  herdados). Assim como nas células pré-B, não se sabe qual ligante o pré-TCR reconhece, se houver. Acredita-se que a sinalização do pré-TCR, como a sinalização do pré-BCR, seja geralmente iniciada de maneira independente de ligante, dependente da montagem efetiva do complexo pré-TCR. A sinalização do pré-TCR é mediada por várias quinases citossólicas e proteínas adaptadoras, que também estão ligadas à sinalização de TCR (Cap. 7). A função essencial do complexo pré-TCR na maturação das células T foi demonstrada por vários estudos com camundongos geneticamente mutados, em que a falta de qualquer um dos componentes do complexo pré-TCR (ou seja, a cadeia  $\beta$  de TCR, pré-T $\alpha$ , CD3,  $\zeta$  ou Lck) resulta em um bloqueio na maturação das células T no estágio duplo-negativo.

## Timócitos Duplo-Positivos

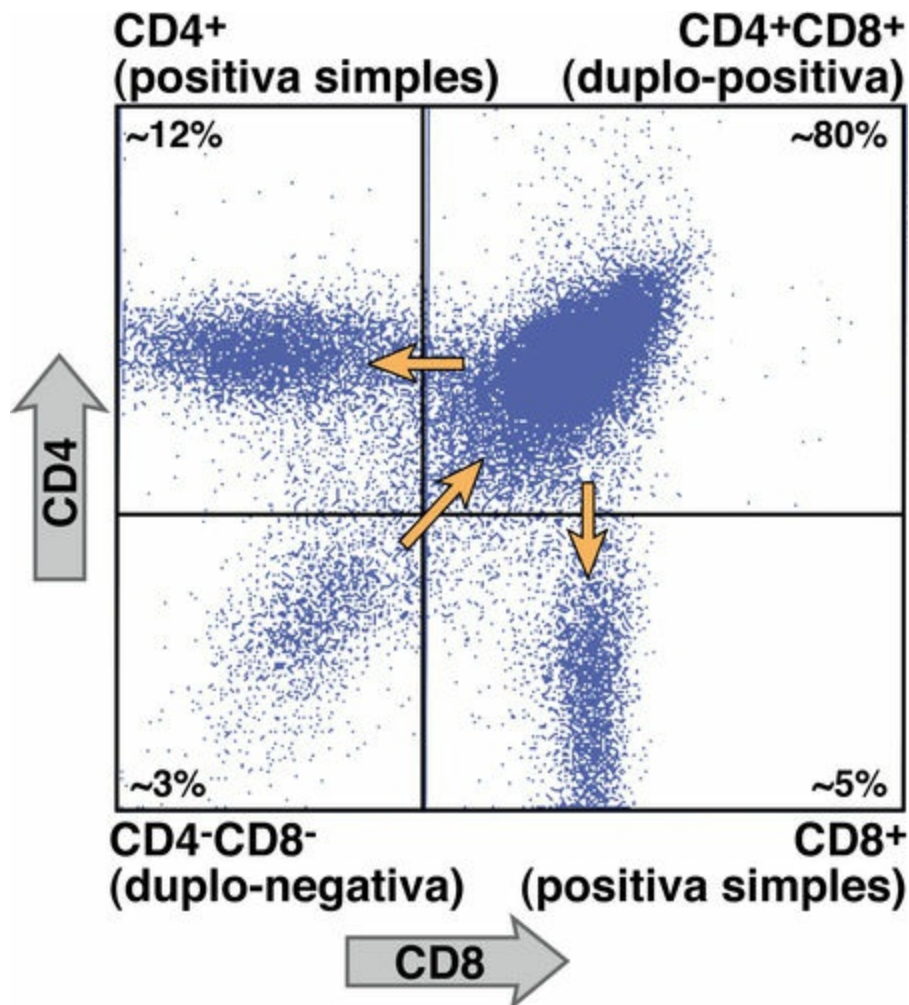
***Na próxima fase da maturação das células T, os timócitos expressam tanto CD4 e CD8 e são denominados timócitos duplo-positivos.*** A expressão de CD4

e CD8 é essencial para os eventos de seleção subsequentes, discutidos posteriormente. O rearranjo dos genes da cadeia  $\alpha$  do TCR e a expressão de heterodímeros  $\alpha\beta$  do TCR ocorre na população duplo-positiva  $CD4^+ CD8^+$  logo após as células atravessarem o ponto de controle do pré-TCR (Fig. 8-17 e 8-18). Uma segunda onda de expressão do gene *RAG* no final do estágio pré-T promove a recombinação dos genes  $\alpha$  do TCR. Como não existem segmentos D no locus de  $\alpha$  do TCR, o rearranjo consiste apenas na junção de segmentos V e J (Fig., 8-19, B). A grande quantidade de segmentos  $J_\alpha$  permite múltiplas tentativas de junção produtiva V-J em cada cromossomo, aumentando, assim, a probabilidade de que um TCR  $\alpha\beta$  funcional seja produzido. Em contraste com o locus da cadeia  $\beta$  do TCR, em que a produção da proteína e a formação do pré-TCR suprimem o rearranjo adicional, há pouca ou nenhuma exclusão alélica no locus da cadeia  $\alpha$ . Portanto, rearranjos produtivos de  $\alpha$  do TCR podem ocorrer em ambos os cromossomos, e, se isso acontecer, a célula T expressará duas cadeias  $\alpha$ . De fato, até 30% das células T periféricas maduras expressam dois TCR diferentes, com diferentes cadeias  $\alpha$ , mas a mesma cadeia  $\beta$ . É possível que apenas um dos dois TCRs diferentes participe da seleção positiva dirigida pelo MHC próprio, descrita posteriormente. A regulação da transcrição do gene da cadeia  $\alpha$  ocorre de maneira semelhante à da cadeia  $\beta$ . Há promotores a 5' de cada gene  $V_\alpha$  que têm um baixo nível de atividade e são responsáveis pela transcrição específica da célula T de alto nível quando aproximados de um amplificador da cadeia  $\alpha$ , localizado a 3' do gene de  $C\alpha$ . Rearranjos sem sucesso do gene  $\alpha$  do TCR nos dois cromossomos levam a uma falha da seleção positiva (discutida posteriormente). Os tímócitos da linhagem de células T  $\alpha\beta$  que não conseguirem realizar um rearranjo produtivo do gene da cadeia  $\alpha$  do TCR morrerão por apoptose.

A expressão do gene  $\alpha$  do TCR no estágio duplo-positivo leva à formação do TCR  $\alpha\beta$  completo, que é expresso na superfície celular em associação às proteínas CD3 e  $\zeta$ . A expressão coordenada das proteínas CD3 e  $\zeta$  e a montagem dos complexos TCR intactos são necessárias para a expressão de superfície. O rearranjo do gene  $\alpha$  do TCR resulta na deleção do locus  $\delta$  do TCR, que se situa entre os segmentos V (comuns a ambos os loci  $\alpha$  e  $\delta$ ) e segmentos  $J_\alpha$  (Fig. 8-6). Como resultado, esta célula T já não é capaz de se tornar uma célula T  $\gamma\delta$  e está completamente comprometida com a linhagem das células T  $\alpha\beta$ . A expressão dos genes *RAG* e a recombinação adicional do gene do TCR cessam após esse estágio de maturação.

**As células duplo-positivas que passam por processos de seleção bem-sucedidos continuam a amadurecer em células T  $CD4^+$  ou  $CD8^+$ , que são denominadas tímócitos positivos simples.** Assim, as fases de maturação das células T no timo podem ser prontamente distinguidas pela expressão de CD4 e CD8 (Fig. 8-20). Esta maturação fenotípica é acompanhada pelo comprometimento com diferentes programas funcionais após a ativação de órgãos linfoides secundários. As

células CD4<sup>+</sup> adquirem a capacidade de produzir citocinas em resposta ao estímulo subsequente de antígenos e expressar moléculas efectoras (tais como o ligante de CD40) que ativam os linfócitos B, células dendríticas e macrófagos, enquanto as células CD8<sup>+</sup> tornam-se capazes de produzir moléculas que destroem outras células. Os timócitos positivos simples maduros entram na medula do timo e, em seguida, deixam o timo para residir nos tecidos linfoides periféricos.



**FIGURA 8-20** Expressão de CD4 e CD8 em timócitos e seleção positiva das células T no timo.

A maturação dos timócitos pode ser seguida de mudanças na expressão dos correceptores CD4 e CD8. A imagem ilustra uma análise de citometria de fluxo de duas cores de timócitos usando anticorpos anti-CD4 e anti-CD8, cada qual marcado com um fluorocromo diferente. A porcentagem da contribuição de todos os timócitos para cada população principal é mostrada nos quatro quadrantes. O subgrupo menos maduro é o das células CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> (duplo-negativas). As setas indicam a sequência da maturação.

## Processos da Seleção na Maturação das Células T $\alpha\beta$ Restritas ao MHC

*A seleção das células T em desenvolvimento é dependente do reconhecimento de antígeno (complexos peptídeo-MHC) no timo e é*

**responsável por preservar as células úteis e eliminar as potencialmente nocivas.** O repertório de linfócitos T imaturos ou não selecionados é composto de células cujos receptores podem reconhecer qualquer antígeno peptídico (próprio ou estranho) apresentado por qualquer molécula de MHC (também própria ou estranha). Além disso, receptores que não reconhecem qualquer complexo peptídio-molécula de MHC podem, teoricamente, ser expressos. Em cada indivíduo, as únicas células T úteis são as específicas para peptídios estranhos apresentados pelas moléculas de MHC desse indivíduo, isto é, moléculas de MHC próprias. Quando os timócitos duplo-positivos expressam o TCR  $\alpha\beta$  pela primeira vez, esses receptores encontram peptídios próprios (os únicos peptídios normalmente presentes no timo) apresentados por moléculas de MHC próprias (as únicas moléculas de MHC disponíveis para apresentar peptídios), principalmente nas células epiteliais do timo presentes no córtex. O resultado deste reconhecimento é determinado principalmente pela afinidade do encontro entre o TCR e os complexos antígeno-MHC próprios. A **seleção positiva** é o processo que preserva as células T que reconhecem MHC próprio (com peptídios próprios) com baixa afinidade. Este reconhecimento preserva as células que podem ver antígenos apresentados por moléculas de MHC deste mesmo indivíduo. Ao mesmo tempo, as células tornam-se comprometidas com a linhagem de células CD4 ou CD8 com base em se o TCR em uma célula reconhece, respectivamente, moléculas de MHC classe II ou MHC classe I. Além disso, em cada indivíduo, as células T que reconhecem antígenos próprios com alta afinidade são potencialmente perigosas, porque este reconhecimento pode desencadear uma autoimunidade. A **seleção negativa** é o processo em que os timócitos cujos TCRs se ligam fortemente aos antígenos peptídios próprios em associação a moléculas de MHC próprias são eliminados (Fig. 8-18). O resultado final desses processos de seleção é que o repertório de células T maduras que deixam o timo é restrito ao MHC próprio e tolerante a muitos antígenos próprios, e apenas as células úteis completam sua maturação. Nas seções seguintes, discutiremos os detalhes da seleção positiva e negativa.

### **Seleção Positiva de Timócitos: Desenvolvimento do Repertório de Células T Restritas ao MHC Próprio**

**A seleção positiva é o processo em que os timócitos cujos TCRs se ligam com baixa afinidade (ou seja, fracamente) a complexos MHC próprio-peptídio próprio são estimulados para sobreviver (Fig. 8-18).** Os timócitos duplo-positivos são produzidos sem estimulação antigênica e começam a expressar TCRs  $\alpha\beta$  com especificidades geradas aleatoriamente que são provavelmente inclinados ao reconhecimento das estruturas semelhantes ao MHC. No córtex do timo, estas células imaturas encontram células epiteliais que estão exibindo uma variedade de peptídios próprios ligados a moléculas de MHC classe I e classe II. O reconhecimento fraco destes complexos peptídio próprio-MHC próprio promove a sobrevivência das células

T. Os timócitos cujos receptores não reconhecem moléculas de MHC próprio morrem por uma via padrão de apoptose; este fenômeno é chamado de morte por negligência (Fig. 8-18). Assim, a seleção positiva assegura que as células T sejam restritas ao MHC próprio.

***Durante a transição das células duplo-positivas para positivas simples, os timócitos com TCRs restritos ao MHC classe I tornam-se CD8<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>, e as células com TCRs restritos ao MHC classe II tornam-se CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>.*** As células T duplo-positivas imaturas expressam TCRs que podem reconhecer o MHC próprio classe I ou classe II. Dois modelos foram propostos para explicar o processo de comprometimento com a linhagem, que resulta da seleção de quais correceptores estão corretamente compatíveis com os TCRs que reconhecem uma classe específica de moléculas de MHC. O modelo estocástico ou probabilístico sugere que o comprometimento de células T imaturas com qualquer linhagem depende da probabilidade aleatória de uma célula duplo-positiva se diferenciar em uma célula T CD4<sup>+</sup> ou uma célula T CD8<sup>+</sup>. Neste modelo, uma célula que reconhece o MHC próprio classe I pode diferenciar-se aleatoriamente em uma célula T CD8<sup>+</sup> (com o correceptor apropriado) e sobreviver, ou em uma célula T CD4<sup>+</sup> (com o correceptor errado) que pode deixar de receber sinais de sobrevivência. Neste processo de diferenciação aleatória para células positivas simples, o correceptor não é compatível com o reconhecimento da classe correta de moléculas de MHC aproximadamente metade das vezes.

A visão mais aceita é a de que o processo de comprometimento com a linhagem relacionado à seleção positiva não é um processo aleatório, mas é conduzido por sinais específicos que instruem a célula T a se tornar CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>. Modelos de instrução sugerem que os TCRs restritos ao MHC classe I e pelo MHC classe II emitem diferentes sinais que induzem ativamente a expressão do correceptor correto e desligam a expressão do outro correceptor. Sabe-se que células duplamente positivas passam por um estágio de alta expressão de CD4 e baixa expressão de CD8. Se o TCR nesta célula for restrito ao MHC de classe I, quando identificar o MHC classe I adequado e o peptídeo próprio, ele receberá um sinal fraco porque os níveis do correceptor CD8 serão baixos e, além disso, o CD8 associa-se em menor extensão à tirosinoquinase Lck do que o CD4. Estes sinais fracos ativam fatores de transcrição, tais como Runx3, que mantêm o fenótipo de células T CD8<sup>+</sup> por meio da regulação da expressão de CD8 e de fatores de transcrição inferiores, e comprometem a célula T CD8<sup>+</sup> a se tornar um linfócito T citotóxico após a maturação completa e ativação por antígeno. Por outro lado, se o TCR da célula for restrito ao MHC classe II, quando identificar o MHC classe II, receberá um sinal mais forte porque os níveis de CD4 serão elevados e o CD4 associa-se relativamente bem à Lck. Estes sinais fortes ativam o fator de transcrição GATA3, o que compromete as células a se



tornarem CD4<sup>+</sup> e induz a expressão de um repressor denominado ThPoK, que impede a expressão de genes de definição das células T CD8<sup>+</sup>.

***Os peptídeos ligados a moléculas de MHC nas células epiteliais do timo desempenham um papel essencial na seleção positiva.*** No [Capítulo 6](#), foi descrito como as moléculas de MHC classe I e classe II na superfície celular sempre contêm peptídeos ligados. Estes peptídeos associados ao MHC nas células apresentadoras de antígeno do timo provavelmente possuem duas funções na seleção positiva— primeiramente, promovem a expressão de superfície celular estável de moléculas de MHC, e, segundo, podem influenciar as especificidades das células T que são selecionadas. É também evidente, em uma variedade de estudos experimentais, que alguns peptídeos são melhores que outros no suporte da seleção positiva e diferentes peptídeos selecionam repertórios de células T distintos. Tais resultados sugerem que o reconhecimento de antígeno específico, e não apenas o reconhecimento do MHC, tem algum papel na seleção positiva. Uma consequência da seleção positiva induzida pelo peptídeo próprio é que as células T que amadurecem têm a capacidade de reconhecer peptídeos próprios. Foi mencionado no [Capítulo 2](#) que a sobrevivência de linfócitos virgens antes do encontro com antígenos estranhos requer sinais de sobrevivência que são aparentemente gerados pelo reconhecimento de antígenos próprios nos órgãos linfoides periféricos. Os mesmos peptídeos próprios que medeiam a seleção positiva de timócitos duplo-positivos no timo podem estar envolvidos na preservação de células T maduras virgens (positivas simples) vivas em órgãos periféricos, como os gânglios linfáticos e o baço.

O modelo de seleção positiva baseado no reconhecimento fraco de antígenos próprios levanta uma questão fundamental: como a seleção positiva conduzida pelo reconhecimento fraco de antígenos próprios produz um repertório de células T maduras específico para antígenos estranhos? A resposta provável é que a seleção positiva permite que muitos clones diferentes de células T sobrevivam e se diferenciem, e muitas dessas células T que reconhecem peptídeos próprios com baixa afinidade irão, após o amadurecimento, reconhecer aleatoriamente peptídeos estranhos com uma afinidade suficientemente alta para serem ativadas e para gerar respostas imunes úteis.

### **Seleção Negativa de Timócitos: Tolerância Central**

***Os timócitos cujos receptores reconhecem complexos peptídeo-MHC no timo com alta afinidade sofrem apoptose (denominada seleção negativa) ou diferenciam-se em células T reguladoras (Fig. 8-18).*** Entre as células T duplo-positivas que são geradas no timo, algumas podem expressar TCRs que reconhecem antígenos próprios com alta afinidade. Os peptídeos presentes no timo são peptídeos próprios derivados de antígenos proteicos amplamente expressos, bem

como de algumas proteínas que se acredita serem restritas a determinados tecidos. (Lembre-se que os microrganismos que entram por vias comuns, ou seja, epitélios, são capturados e transportados para os linfonodos e tendem a não entrar no timo.) Em células T imaturas, uma das principais consequências do reconhecimento de antígeno com alta afinidade é o desencadeamento de apoptose, levando à morte, ou eliminação, das células. Portanto, muitos dos timócitos imaturos que expressam receptores com alta afinidade com antígenos próprios no timo morrem, resultando na seleção negativa do repertório de células T. Este processo elimina as células T autorreativas potencialmente mais prejudiciais e é um dos mecanismos que asseguram que o sistema imunológico não responda a muitos antígenos próprios, um fenômeno chamado de autotolerância. A tolerância induzida nos linfócitos imaturos pelo reconhecimento de antígenos próprios nos órgãos linfoides geradores (ou centrais) também é denominada tolerância central, para ser contrastada com a tolerância periférica induzida nos linfócitos maduros por antígenos próprios em tecidos periféricos. Os mecanismos e a importância fisiológica da tolerância imunológica serão discutidos em mais detalhes no [Capítulo 15](#).

A eliminação de células T autorreativas imaturas pode ocorrer no estágio duplo-positivo no córtex e nas células T positivas simples recém-geradas na medula. As células apresentadoras de antígeno do timo que medeiam a seleção negativa são, principalmente, as células dendríticas derivadas da medula óssea e macrófagos, ambos abundantes na medula, e células epiteliais tímicas medulares, enquanto as células epiteliais corticais são especialmente (e talvez exclusivamente) eficazes na indução da seleção positiva. As células T duplo-positivas são atraídas para a medula do timo por quimiocinas. Na medula, as células epiteliais tímicas medulares expressam uma proteína nuclear denominada **AIRE (regulador autoimune)** que induz a expressão de vários genes específicos de tecidos no timo. Estes genes normalmente são expressos somente em órgãos periféricos específicos. Sua expressão dependente do AIRE no timo torna muitos peptídeos específicos a tecidos disponíveis para apresentação a células T em desenvolvimento, facilitando a eliminação (seleção negativa) destas células. Uma mutação no gene que codifica o AIRE resulta em uma síndrome autoimune poliendócrina, destacando a importância do AIRE na mediação da tolerância central a antígenos específicos de tecidos ([Cap. 15](#)).

O mecanismo de seleção negativa no timo é a indução de morte por apoptose. Diferentemente do fenômeno de morte por negligência, que ocorre na ausência de seleção positiva, na seleção negativa, os sinais ativos que promovem a morte são gerados quando o TCR de timócitos imaturos se ligam com alta afinidade ao antígeno. A indução de uma proteína pró-apoptótica, denominada Bim, por sinalização do TCR provavelmente desempenha um papel crucial na indução da permeabilidade mitocondrial e apoptose de timócitos durante a seleção negativa ([Cap. 15](#)). Também está claro que, enquanto o reconhecimento de antígeno com alta afinidade pelas

células T imaturas desencadeia a apoptose, o mesmo reconhecimento pelos linfócitos maduros, em conjunto com outros sinais, inicia as respostas das células T (Cap. 9). A base bioquímica desta diferença fundamental não está definida.

**O reconhecimento de antígenos próprios no timo pode gerar uma população de células T reguladoras  $CD4^+$  que atuam de modo a evitar reações autoimunes** (Cap. 15). Não está claro quais fatores determinam a escolha entre os dois destinos alternativos das células T imaturas que reconhecem antígenos próprios com alta afinidade, ou seja, a eliminação de células T imaturas e o desenvolvimento de células T reguladoras. É possível que as interações com afinidade ligeiramente menor do que a exigida para eliminação pode levar ao desenvolvimento de células T reguladoras, mas evidências claras deste tipo de discriminação fina são inexistentes.

## Linfócitos T $\gamma\delta$

**Timócitos que expressam TCR  $\alpha\beta$  e  $\gamma\delta$  são de linhagens separadas com um precursor comum.** Nos timos fetais, os primeiros rearranjos dos genes do TCR envolvem os *loci*  $\gamma$  e  $\delta$ . A recombinação dos *loci*  $\gamma$  e  $\delta$  do TCR segue de forma semelhante a de outros rearranjos do gene do receptor de antígeno, embora a ordem de rearranjo pareça ser menos rígida do que em outros *loci*. Em uma célula T duplo-negativa em desenvolvimento, o rearranjo dos *loci*  $\beta$ ,  $\gamma$  ou  $\delta$  do TCR é inicialmente possível. Se uma célula consegue rearranjar produtivamente seus *loci*  $\gamma$  e  $\delta$  do TCR antes de fazer um rearranjo produtivo de  $\beta$  do TCR, ela será selecionada para a linhagem de células T  $\gamma\delta$ . Isso ocorre em cerca de 10% das células T duplamente negativas em desenvolvimento. Em cerca de 90% dos casos, ocorre inicialmente um rearranjo produtivo do gene  $\beta$  do TCR. Nesta situação, a sinalização do pré-TCR seleciona estas células para amadurecer para a linhagem de células T  $\alpha\beta$ , e eventual eliminação de  $\delta$  do TCR quando  $\alpha$  do TCR é rearranjado (o *locus*  $\delta$  do TCR é incorporado no *locus*  $\alpha$  do TCR) resulta em comprometimento irreversível com a linhagem  $\alpha\beta$ .

A diversidade do repertório de células T  $\gamma\delta$  é teoricamente ainda maior do que a do repertório de células T  $\alpha\beta$ , em parte porque as sequências de reconhecimento heptâmero-nonâmero adjacentes aos segmentos D permitem a junção D-a-D. Paradoxalmente, porém, a verdadeira diversidade dos TCRs  $\gamma\delta$  expressos é limitada, porque apenas alguns dos segmentos V, D e J disponíveis são utilizados nas células T  $\gamma\delta$  maduras, por razões desconhecidas. Esta diversidade limitada lembra a diversidade limitada do subgrupo B-1 de linfócitos B e está de acordo com o conceito de que as células T  $\gamma\delta$  funcionam como uma defesa inicial contra um número limitado de microrganismos comumente encontrados em barreiras epiteliais. As funções das células T  $\gamma\delta$  são descritas no [Capítulo 10](#).

Outra pequena população, denominada células NKT, também se desenvolve no

timo; estas são descritas no [Capítulo 10](#) também.

## Resumo

Os linfócitos B e T surgem a partir de um precursor derivado da medula óssea comum que se torna comprometido com a linhagem de linfócitos. A maturação das células B continua na medula óssea, ao passo que os progenitores das células T iniciais migram e completam sua maturação no timo. A maturação inicial é caracterizada pela proliferação de células induzida por citocinas, principalmente IL-7, que leva a uma expansão do número de linfócitos que acabaram de se comprometer com determinadas linhagens.

Sinais extracelulares induzem a ativação de fatores de transcrição, que induzem a expressão de genes específicos da linhagem e abrem os *loci* de genes de receptores de antígenos específicos no nível de acessibilidade da cromatina.

O desenvolvimento das células B e T envolve o rearranjo dos segmentos gênicos do receptor de antígenos e a expressão inicial da proteína  $\mu$  da cadeia pesada das Ig em precursores de células B e das moléculas  $\beta$  do TCR em precursores de células T. A expressão inicial de pré-receptores de antígeno e a expressão subsequente de receptores de antígeno são essenciais para a sobrevivência, a expansão e a maturação de linfócitos em desenvolvimento e para os processos de seleção que levam a um repertório diverso de especificidades de antígenos úteis.

Os receptores de antígenos das células B e T são codificados pelos genes dos receptores constituídos de um número limitado de segmentos gênicos, que são segregados espacialmente nos *loci* dos receptores de antígeno das linhagens germinativas, mas são recombinados somaticamente nas células B e T em desenvolvimento.

Os *loci* separados codificam a cadeia pesada da Ig, a cadeia leve  $\kappa$  da Ig, a cadeia leve  $\lambda$  da Ig, a cadeia  $\beta$  do TCR, as cadeias  $\alpha$  e  $\delta$  do TCR e a cadeia  $\gamma$  do TCR. Estes *loci* contêm os segmentos gênicos V, J, e, apenas na cadeia pesada da Ig e nos *loci*  $\beta$  e  $\delta$  do TCR, o segmento gênico D. Os segmentos J estão localizados imediatamente a 5' dos éxons que codificam os domínios constantes, e os segmentos V estão a uma grande distância acima dos segmentos J. Quando presentes, os segmentos D encontram-se entre os grupamentos V e J. O rearranjo somático dos *loci* da Ig e do TCR envolve a junção dos segmentos D e J nos *loci* que contêm segmentos D, seguida pela junção do segmento V aos segmentos DJ recombinados nestes *loci* ou a junção direta V-a-J nos outros *loci*.

Este processo de recombinação de gene somática é mediado por um complexo da enzima recombinase constituído dos componentes específicos dos linfócitos Rag-1 e Rag-2.

A diversidade dos repertórios dos anticorpos e do TCR é gerada pelas associações combinatórias de múltiplos segmentos gênicos V, D e J da linhagem germinativa,

enquanto a diversidade juncional é gerada pela adição ou remoção de nucleotídeos aleatórios nos locais de recombinação. Estes mecanismos geram a maior diversidade nas junções dos segmentos que formam a terceira região hipervariável dos polipeptídios dos anticorpos e do TCR.

A maturação das células B ocorre em estágios caracterizados por diferentes padrões de rearranjo e expressão do gene das Ig. Nos primeiros precursores das células B, denominados células pró-B, os genes das Ig estão inicialmente na configuração da linhagem germinativa, e o rearranjo D a J ocorre no locus da cadeia pesada das Ig.

Na transição da célula pró-B para pré-B, a recombinação V-D-J é concluída no locus da cadeia H da Ig. Um transcrito primário do RNA contendo o éxon VDJ e éxons dos genes C das Ig é produzido, e o éxon VDJ é emendado aos éxons da região C  $\mu$  do RNA da cadeia pesada para gerar um mRNA maduro, que é traduzido na proteína da cadeia pesada  $\mu$  nas células em que tenha ocorrido um rearranjo interno. O pré-BCR é formado pelo pareamento da cadeia  $\mu$  com cadeias leves substitutas e pela associação às moléculas de sinalização Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ . Este receptor emite sinais de sobrevivência e proliferação e também sinaliza para inibir o rearranjo do outro alelo da cadeia pesada (exclusão alélica).

À medida que as células se diferenciam em células B imaturas, a recombinação V-J ocorre inicialmente no locus  $\kappa$  da Ig e as proteínas da cadeia leve são expressas. As cadeias pesadas e leves são, então, montadas na forma de moléculas de IgM intactas e expressas na superfície da célula. As células B imaturas deixam a medula óssea para residir em tecidos linfóides periféricos, onde completam a sua maturação. No estágio de célula B madura, síntese das cadeias pesadas  $\mu$  e  $\delta$  ocorre paralelamente, mediada pelo processamento (*splicing*) alternativo dos transcritos primários do RNA das cadeias pesadas e IgM e IgD de membrana são expressos.

Durante a maturação dos linfócitos B, as células B imaturas que expressam receptores de antígenos de alta afinidade específicos para antígenos próprios presentes na medula óssea são induzidas a editar os genes de seus receptores, ou essas células são eliminadas. A edição do receptor envolve o rearranjo adicional no locus  $\kappa$  da Ig e pode também envolver o rearranjo do gene da cadeia leve  $\lambda$  da Ig. As células B que expressam as cadeias leves  $\lambda$  são frequentemente células que foram submetidas à edição do receptor.

A maturação das células T no timo também progride em estágios, que se distinguem pelo padrão de expressão dos genes dos receptores de antígenos, pelas moléculas dos correceptores CD4 e CD8 e pela localização dos eventos de desenvolvimento dentro do timo. Os primeiros imigrantes da linhagem T para o timo não expressam TCR ou moléculas de CD4 ou CD8. As células T em desenvolvimento dentro do timo, denominadas tímócitos, inicialmente residem no córtex exterior, onde sofrem proliferação, rearranjo dos genes do TCR e induzem a

expressão de superfície das moléculas CD3, TCR, CD4 e CD8. À medida que as células amadurecem, elas migram do córtex para a medula.

Os tímócitos menos maduros, denominados células pró-T, são  $CD4^-CD8^-$  (duplo-negativos) e, neste estágio, os genes *TCR* encontram-se inicialmente na configuração da linhagem germinativa. O rearranjo dos genes das cadeias  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$  do TCR ocorre nesta etapa.

No estágio pré-T, os tímócitos permanecem duplo-negativos, mas a recombinação V-D-J é concluída no locus da cadeia  $\beta$  do TCR. Os transcritos primários da cadeia  $\beta$  são expressos e processados para aproximar um éxon VDJ de um segmento  $C\beta$ , e os polipeptídios da cadeia  $\beta$  do TCR são produzidos. Nas células em que o rearranjo foi produtivo, a cadeia  $\beta$  do TCR associa-se à proteína pré-T $\alpha$  invariável para formar um pré-TCR. O pré-TCR transduz sinais que inibem o rearranjo do outro alelo da cadeia  $\beta$  (exclusão alélica) e promove a diferenciação para o estágio de dupla expressão de CD4 e CD8 e uma proliferação adicional de tímócitos imaturos. No estágio  $CD4^+CD8^+$  (duplo-positivo) do desenvolvimento das células T, ocorre a recombinação V-J no locus  $\alpha$  do TCR, polipeptídios da cadeia  $\alpha$  são produzidos e baixos níveis de TCR são expressos na superfície da célula.

Os processos de seleção levam à maturação de tímócitos duplo-positivos que expressam TCR e moldam o repertório de células T para a restrição ao MHC próprio e autotolerância.

A seleção positiva dos tímócitos  $CD4^+CD8^+$  TCR  $\alpha\beta$  requer o reconhecimento com baixa afinidade de complexos MHC-peptídeo nas células epiteliais do timo, levando a um resgate das células da morte programada. Conforme os tímócitos TCR  $\alpha\beta$  amadurecem, eles migram para a medula e tornam-se  $CD4^+CD8^-$  ou  $CD8^+CD4^-$ . A seleção positiva é acompanhada do comprometimento com a linhagem. Isso resulta na combinação dos TCRs que reconhecem o MHC classe I com a expressão de CD8 e silenciamento de CD4; os TCRs que reconhecem moléculas de MHC classe II estão combinados com a expressão de CD4 e a perda de expressão de CD8.

A seleção negativa dos tímócitos duplo-positivos  $CD4^+CD8^+$  TCR  $\alpha\beta$  ocorre quando estas células reconhecem, com alta afinidade, antígenos que estão presentes no timo. Este processo é responsável pela tolerância a vários antígenos próprios. Os tímócitos medulares continuam a ser selecionados negativamente, e as células que não sofrem deleção clonal adquirem a capacidade de se diferenciar em células T  $CD4^+$  ou  $CD8^+$  virgens e, finalmente, migram para tecidos linfóides periféricos.

## Leituras selecionadas



## **Desenvolvimento Inicial as Células B e Recombinação V(D)J**

- Clark, M. R., Mandal, M., Ochiai, K., Singh, H. Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signaling. *Nature Reviews Immunology*. 2014; 14:69–80.
- Cobaleda, C., Busslinger, M. Developmental plasticity of lymphocytes. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:139–148.
- Jenkinson, E. J., Jenkinson, W. E., Rossi, S. W., Anderson, G. The thymus and T-cell commitment: the right choice for Notch? *Nature Reviews Immunology*. 2006; 6:551–555.
- Johnson, K., Reddy, K. L., Singh, H. Molecular pathways and mechanisms regulating the recombination of immunoglobulin genes during B-lymphocyte development. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2009; 650:133–147.
- Jung, D., Giallourakis, C., Mostoslavsky, R., Alt, F. W. Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:541–570.
- Nemazee, D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nature Reviews Immunology*. 2006; 6:728–740.
- Schatz, D. G., Ji, Y. Recombination centers and the orchestration of V(D)J recombination. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:251–263.

## **Desenvolvimento das Células T**

- Boehm, T. Thymus development and function. *Current Opinion in Immunology*. 2008; 20:178–184.
- Carpenter, A. C., Bosselut, R. Decision checkpoints in the thymus. *Nature Immunology*. 2010; 11:666–673.
- Godfrey, D. I., Stankovic, S., Baxter, A. G. Raising the NKT cell family. *Nature Immunology*. 2010; 11:197–206.
- Kyewski, B., Klein, L. A central role for central tolerance. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:571–606.
- Maillard, I., Fang, T., Pear, W. S. Regulation of lymphoid development, differentiation, and function by the Notch pathway. *Annual Review of Immunology*. 2005; 23:945–974.
- Rodewald, H. R. Thymus organogenesis. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:355–388.
- Rothenberg, E. V., Moore, J. E., Yui, M. A. Launching the T-cell-lineage developmental programme. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:9–21.
- Singer, A., Adoro, S., Park, J. H. Lineage fate and intense debate: myths, models and mechanisms of CD4 versus CD8 lineage choice. *Nature Reviews Immunology*.

2008; 8:788–801.

Stritesky, G. L., Jameson, S. C., Hogquist, K. A. Selection of self-reactive T cells in the thymus. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:95–114.

Taniuchi, I., Ellmeier, W. Transcriptional and epigenetic regulation of CD4/CD8 lineage choice. *Advances in Immunology*. 2011; 110:71–110.

### **MicroRNAs e Desenvolvimento de Linfócitos**

Lodish, H. F., Zhou, B., Liu, G., Chen, C. Z. Micromanagement of the immune system by microRNAs. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:120–130.

O'Connell, R. M., Rao, D. S., Baltimore, D. microRNA regulation of inflammatory responses. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:295–312.

Xiao, C., Rajewsky, K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. *Cell*. 2009; 136:26–36.

## CAPÍTULO 9

# Ativação dos Linfócitos T

### VISÃO GERAL DA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

### SINAIS PARA ATIVAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Reconhecimento de Antígeno

Papel da Coestimulação na Ativação da Célula T

### RESPOSTAS FUNCIONAIS DOS LINFÓCITOS T

Alterações nas Moléculas de Superfície durante a Ativação da Célula T

Citocinas nas Respostas Imunes Adaptativas

Secreção de IL-2 e Expressão do Receptor de IL-2

Expansão Clonal das Células T

Diferenciação das Células T Ativadas em Células Efetoras

Desenvolvimento das Células T de Memória

### DECLÍNIO DAS RESPOSTAS DA CÉLULA T

### RESUMO

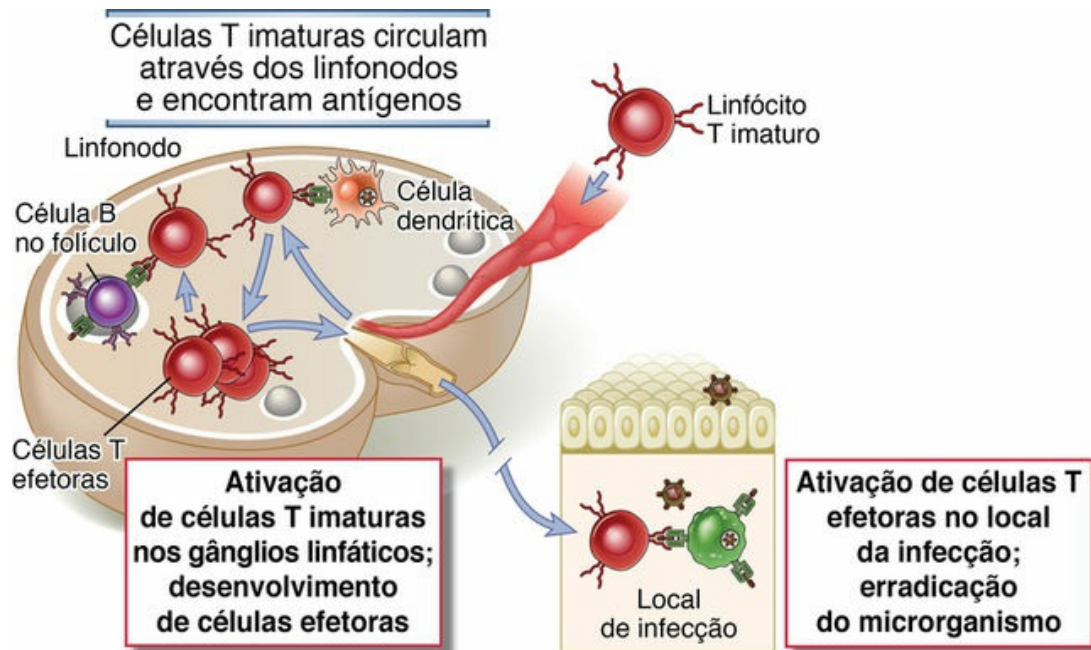
O processo de ativação das células T gera, a partir de um pequeno grupo (*pool*) de linfócitos imaturos específicos para um antígeno, um grande número de células efetoras com a mesma especificidade funcional para eliminar aquele antígeno e a população de células de memória com longa vida que podem reagir rapidamente contra o antígeno caso ele seja reintroduzido. Uma característica fundamental da resposta das células T, como todas as respostas imunes adaptativas, é sua alta especificidade pelo antígeno que estimulou a resposta. A ativação inicial de células T imaturas e de fases efetoras da resposta imune adaptativa mediada por células T é desencadeada pelo reconhecimento do antígeno pelos receptores de antígeno presentes nos linfócitos T. No [Capítulo 6](#), é descrita a especificidade de células T para fragmentos de peptídeos, antígenos derivados de proteínas, que se ligam e são apresentados às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*). No [Capítulo 7](#), são descritos os receptores de antígenos e outras moléculas presentes na célula T envolvidas na ativação das células por antígenos e os sinais bioquímicos iniciados por esses receptores. Neste capítulo, é apresentada a biologia da ativação da célula T. Iniciaremos com uma breve

visão geral da ativação da célula T, discutiremos o papel dos coestimuladores e de outros sinais fornecidos pelas células apresentadoras de antígenos (APCs) na ativação dos linfócitos T e descreveremos a sequência de proliferação e diferenciação que ocorre quando células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> reconhecem antígenos estranhos.

A formação e as funções de células efectoras CD4<sup>+</sup> diferenciadas serão descritas no [Capítulo 10](#) e de células T efectoras CD8<sup>+</sup>, no [Capítulo 11](#). Portanto, os Capítulos 9, 10 e 11 abordam a biologia da ativação e função do linfócito T na imunidade mediada por células.

## Visão geral da ativação dos linfócitos T

***A ativação inicial de linfócitos T ocorre principalmente em órgãos linfoides secundários, pelos quais essas células normalmente circulam e onde elas devem encontrar os antígenos apresentados por células dendríticas maduras (Fig. 9-1).*** Clones de linfócitos T, cada um com uma especificidade diferente, são gerados no timo antes da exposição ao antígeno. Linfócitos T imaturos, que não reconheceram ou responderam aos antígenos, circulam pelo corpo em um estado de repouso e adquirem poderosas capacidades funcionais apenas após sua ativação. Essa ativação de linfócitos T imaturos ocorre em órgãos linfoides especializados, onde linfócitos imaturos e as APCs se encontram ([Caps. 2 e 6](#)).



**FIGURA 9-1** Ativação de células T imaturas e efectoras pelo antígeno.

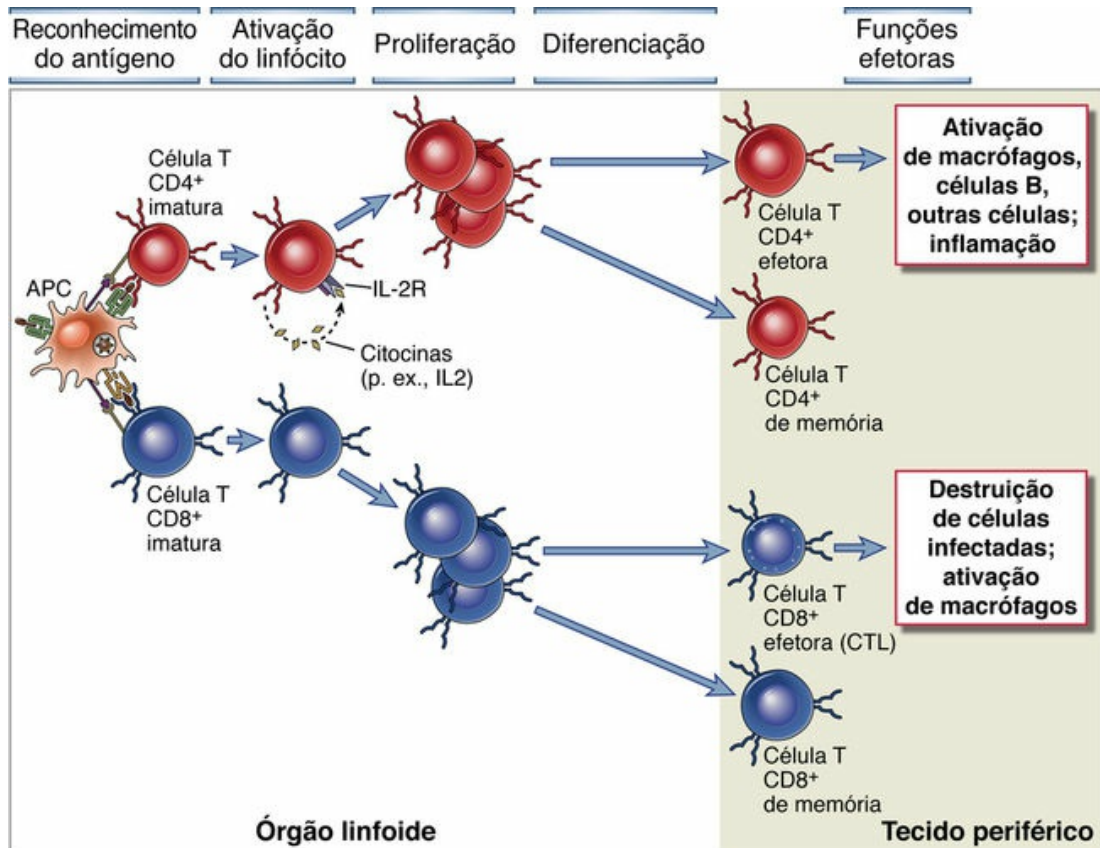
Os antígenos que são transportados pelas células dendríticas para os gânglios linfáticos são reconhecidos pelos linfócitos T imaturos que recirculam através destes gânglios linfáticos. As células T são ativadas para se diferenciarem em células efectoras, que podem permanecer nos órgãos linfóides para auxiliar os linfócitos B ou migrar para os locais de infecção, onde as células efectoras são novamente ativadas por antígenos e executam suas várias funções, como a ativação de macrófagos.

***Linfócitos T imaturos se movimentam pelos órgãos linfóides, interagindo momentaneamente com muitas células dendríticas e parando quando eles encontram o antígeno pelo qual expressam receptores específicos.*** Células dendríticas em órgãos linfóides podem apresentar vários antígenos diferentes. Células T estão em constante movimentação, principalmente guiadas pela rede reticular de fibroblastos, um substrato matriz produzido por células reticulares fibroblásticas na região dos linfócitos T de órgãos linfóides. O reconhecimento do antígeno resulta na geração de sinais bioquímicos que levam a uma rápida captura das células T. Esse processo estabiliza o contato entre as células T e as APCs relevantes expressando antígeno, permitindo que o programa de ativação da célula T seja iniciado.

***O reconhecimento de antígeno, juntamente com outros estímulos de ativação, induz várias respostas nas células T: secreção de citocinas; proliferação, levando a um aumento no número de células nos clones antígeno-específicos (chamado de expansão clonal); e diferenciação das***

***células imaturas em células efectoras e linfócitos de memória*** (Fig. 9-2). Além disso, o processo de ativação das células T está associado a mudanças na expressão de numerosas moléculas de superfície, muitas das quais tem papéis importantes na indução e regulação das respostas. Citocinas conduzem a proliferação e diferenciação de células T ativadas por antígeno. A expansão clonal e diferenciação são reforçadas por uma série de mecanismos de ampliação de *feedbacks* positivos. Por exemplo, células T ativadas devolvem sinais para as APCs, aumentando ainda mais sua habilidade de ativar as células T. Ao mesmo tempo, algumas moléculas de superfície expressas em células T ativadas, bem como as citocinas secretadas por essas células possuem funções regulatórias que servem para estabelecer limites seguros para a resposta. As etapas envolvidas na resposta das células T e a natureza da retroalimentação positiva e negativa serão descritas mais adiante neste capítulo.





**FIGURA 9-2** Fases da resposta da célula T.

O reconhecimento do antígeno pelas células T induz a secreção de citocinas (p. ex., IL-2), particularmente em células T CD4<sup>+</sup>, expansão clonal como resultado da proliferação celular e diferenciação de células T em células efetoras e de memória. Na fase efetora da resposta, as células T CD4<sup>+</sup> efetoras respondem ao antígeno produzindo citocinas com várias funções, como recrutamento e ativação de leucócitos e ativação de linfócitos B, enquanto as CTLs CD8<sup>+</sup> respondem destruindo outras células.

**As APCs não apenas expõem os antígenos, mas também providenciam o estímulo que guia a magnitude e natureza da resposta das células T.** Esses estímulos incluem moléculas de superfície e citocinas secretadas. Diferentes tipos de APCs podem expressar sinais distintos que induzem o desenvolvimento de diferentes tipos de células efetoras. Descreveremos essas funções das APCs na introdução da resposta das células T posteriormente neste capítulo e no [Capítulo 10](#).

**Células T efetoras reconhecem antígenos em órgãos linfóides ou em tecidos não linfóides periféricos e são ativadas para executar funções que são responsáveis pela eliminação de microrganismos e, em estados de doença, pelo dano tecidual.** Enquanto células imaturas são ativadas principalmente

em órgãos linfoides, células efetoras diferenciadas podem responder a antígenos e funcionar em qualquer tecido (Fig. 9-1). O processo de diferenciação de células imaturas para efetoras confere às células a capacidade de realizar funções especializadas e a habilidade de migrar para qualquer local de infecção ou inflamação. Nesses locais, as células efetoras encontram novamente o antígeno para o qual elas são específicas e respondem com a finalidade de eliminar a fonte do antígeno. Células T da linhagem  $CD4^+$  secretam citocinas e expressam moléculas de superfície que podem ativar outras células imunes; essas células efetoras são classificadas em subpopulações com base em seus perfis de citocinas e funções (Cap. 10). Algumas dessas células T auxiliares diferenciadas ativam macrófagos para destruir microrganismos fagocitados; outras secretam citocinas que recrutam leucócitos e, assim, estimulam a inflamação; outras amplificam as funções de barreira da mucosa; outras ainda permanecem nos órgãos linfoides e ajudam células B a se diferenciarem em células que secretam anticorpos. Linfócitos T citotóxicos  $CD8^+$  (CLTs), as células efetoras da linhagem  $CD8^+$ , destroem células infectadas e células tumorais que apresentam antígenos associados ao MHC de classe I e também secretam citocinas que ativam macrófagos e causam inflamação.

***Células T de memória que são geradas pela ativação de células T são células de vida longa com maior capacidade de reagir contra o antígeno.***

Essas células estão presentes no conjunto de linfócitos circulantes e são abundantes em tecidos de mucosas e na pele, bem como em órgãos linfoides. Após a diminuição da resposta das células T, há muito mais células de memória do clone correspondente do que células T imaturas que existiam antes da resposta. Essas células de memória respondem rapidamente ao encontro subsequente com o antígeno e geram novas células efetoras que o eliminam.

***A resposta das células T diminui depois que o antígeno é eliminado pelas células efetoras.*** Esse processo de contração é importante para o retorno do sistema imune a um estado de equilíbrio ou homeostase. Isso ocorre principalmente porque a maioria das células T efetoras ativadas por antígeno morre por apoptose. Uma razão para isso é que conforme o antígeno é eliminado, os linfócitos são privados dos estímulos de sobrevivência que normalmente são fornecidos pelo antígeno e por coestimuladores e citocinas produzidos durante reações inflamatórias ao antígeno. Estima-se que mais de 90% das células T antígeno-específicas que resultam da expansão clonal morrem por apoptose conforme o antígeno é eliminado. Além disso, vias inibitórias ativadas pela função de reconhecimento de antígenos controlam a magnitude e duração da resposta.

Com essa visão geral, daremos prosseguimento à discussão dos sinais necessários para a ativação da célula T e dos passos que são comuns às células  $CD4^+$  e  $CD8^+$ . Concluiremos com um debate sobre células de memória e a diminuição da resposta imune.

## Sinais para ativação dos linfócitos T

***A proliferação de linfócitos T e sua diferenciação em células efetoras e de memória requerem reconhecimento do antígeno, coestimulação e citocinas.***

Nesta seção, faremos um resumo da natureza dos antígenos reconhecidos pelas células T e discutiremos coestimuladores específicos e seus receptores que contribuem para a ativação das células T. Citocinas serão discutidas mais adiante neste capítulo e no [Capítulo 10](#).

## Reconhecimento de Antígeno

***O antígeno é sempre o primeiro sinal necessário para a ativação dos linfócitos, garantindo que a resposta imune resultante é específica para o***

***antígeno.*** Uma vez que os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> reconhecem os complexos MHC-peptídeos exibidos pelas APCs, eles podem responder apenas a antígenos proteicos, a fonte natural de peptídeos, ou a substâncias químicas que modificam proteínas. Além de peptídeos reconhecidos pelo TCR exibidos por moléculas do MHC, várias outras proteínas da superfície da célula T participam do processo de ativação da célula T ([Fig. 7-9](#)). Isso inclui moléculas de adesão, que estabilizam a interação dos linfócitos T com as APCs; correceptores, que transmitem sinais bioquímicos que trabalham em conjunto com os sinais do complexo TCR; e coestimuladores, que serão descritos adiante. Os sinais bioquímicos transmitidos por receptores de antígenos e correceptores serão discutidos no [Capítulo 7](#).

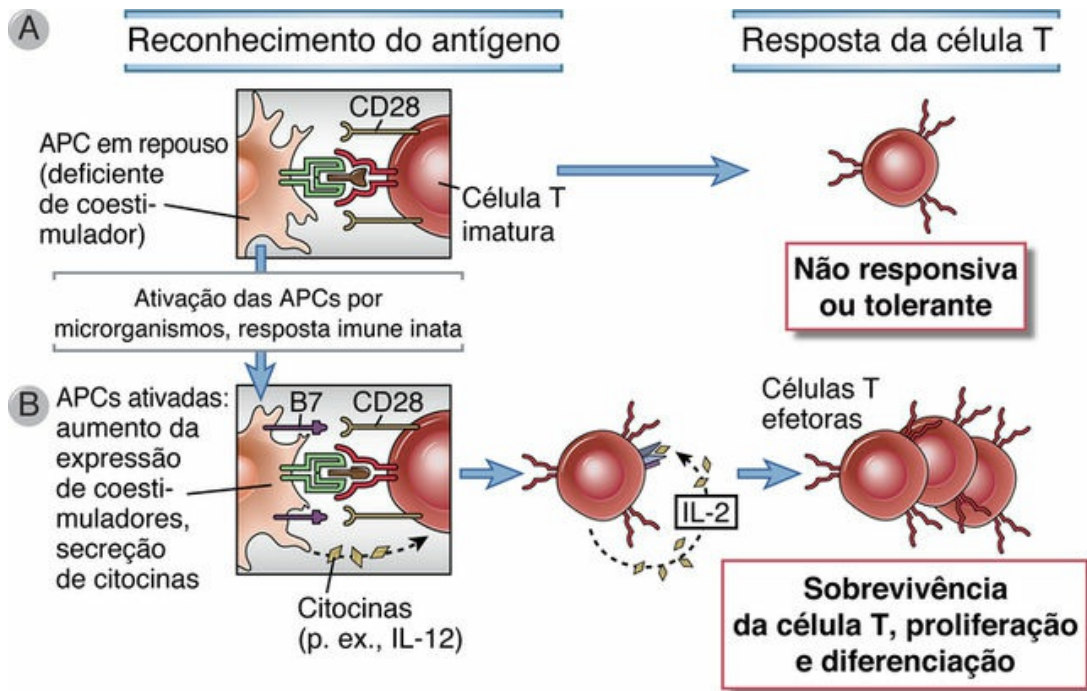
***A ativação das células T imaturas requer o reconhecimento do antígeno apresentado pelas células dendríticas.*** Esse papel crucial das células dendríticas na iniciação da resposta do linfócito T se dá porque essas APCs estão na localização apropriada para interagir com as células T imaturas ([Cap. 6](#)). Além disso, a ativação de células T imaturas depende de sinais como coestimuladores (discutidos adiante) que são altamente expressos por células dendríticas. Antígenos proteicos que atravessam a barreira epitelial ou originam-se nos tecidos são capturados pelas células dendríticas e transportados aos gânglios linfáticos. Antígenos que alcançam a circulação podem ser capturados por células dendríticas no baço. Se esses antígenos são componentes de microrganismos ou forem administrados com adjuvantes (como em vacinas), a resposta imune inata resultante leva à ativação de células dendríticas e à expressão de coestimuladores. Células dendríticas com antígenos capturados migram para a região das células T de drenagem dos gânglios linfáticos. Conforme discutido no [Capítulo 6](#), tanto células T imaturas quanto células dendríticas maduras são atraídas para as zonas de célula T de CCR7 nas células. No momento em que as células dendríticas maduras alcançam as áreas de células T, elas exibem peptídeos antigênicos em moléculas do MHC e também expressam coestimuladores. Células dendríticas apresentam peptídeos derivados de antígenos de

proteínas endocitadas em associação com moléculas do MHC classe II para células T CD4<sup>+</sup> e peptídeos derivados de proteínas citossólicas e nucleares exibidos por moléculas do MHC classe I para células T CD8<sup>+</sup> (Cap. 6).

As células T efetoras diferenciadas podem responder a antígenos apresentados por células que não as dendríticas. Na resposta imune humoral, as células B apresentam antígenos para células T auxiliares e são as receptoras de sinais de ativação por parte das células auxiliares (Cap. 12); nas respostas imunes mediadas pela célula, macrófagos apresentam antígenos e respondem às células T CD4<sup>+</sup> (Cap. 10); e virtualmente qualquer célula nucleada pode apresentar antígeno e ser destruída pelos CTLs CD8<sup>+</sup> (Cap. 11).

## Papel da Coestimulação na Ativação da Célula T

***A proliferação e diferenciação de células T imaturas requerem sinais fornecidos por moléculas nas APCs, denominadas coestimuladores, além dos sinais induzidos por antígenos (Fig. 9-3).*** O requisito para sinais coestimulatórios foi primeiramente sugerido pela descoberta experimental de que o receptor de antígenos da célula T sinaliza sozinho (p. ex., induzido por anticorpos anti-CD3 que têm ligação cruzada com complexos TCR-CD3, mimetizando o antígeno), resultando em menores respostas que aquelas com antígenos apresentados pelas APCs ativadas. Esse resultado indicou que as APCs expressam moléculas que são necessárias, além do antígeno, para a ativação celular. Essas moléculas são chamadas de **coestimuladores**, e o segundo sinal para a ativação da célula T é denominado **coestimulação**, porque funciona juntamente ao antígeno (sinal 1) para estimular as células T. Na ausência da coestimulação, as células T que encontram antígenos falham ao responder e morrem por apoptose ou entram em um estado prolongado de não responsividade (Cap. 15).



**FIGURA 9-3** Funções de coestimuladores na ativação de células T.

**A**, As APCs em repouso (células dendríticas tipicamente apresentadoras de autoantígenos) expressam poucos ou não expressam coestimuladores e não ativam células T imaturas. (O reconhecimento do antígeno sem a coestimulação pode tornar as células T não responsivas [tolerantes]; discutiremos esse fenômeno no [Cap. 15](#).) **B**, Microrganismos e citocinas produzidos durante a resposta imune inata ativam as APCs a expressarem coestimuladores, tais como as moléculas B7. As APCs (geralmente apresentando antígenos microbianos) tornam-se então capazes de ativar as células T imaturas. As APCs ativadas também produzem citocinas, tais como IL-12, que estimula a diferenciação de células T imaturas em células efetoras.

### A Família de Coestimuladores B7:CD28

**A via de ativação de células T mais bem caracterizada envolve o receptor de superfície de célula T, o CD28, que se liga às moléculas coestimulatórias B-71 (CD80) e B-7-2 (CD86), expressas nas APCs ativadas.** CD28 foi descoberto quando anticorpos contra moléculas de superfície de células T humanas foram testados por sua capacidade de ampliar as respostas da célula T quando adicionados juntamente a um anticorpo ativador anti-CD3. Isso foi logo acompanhado pela identificação dos ligantes de CD28, denominados B7 e que, posteriormente, se mostraram como duas



proteínas homólogas, chamadas de B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86). O papel essencial de CD28 e B7-1 e B7-2 (frequentemente chamados coletivamente de B7) na ativação da célula T foi estabelecido não apenas por experimentos com anticorpos de ligação cruzada, mas também pela severa deficiência de células T causada por *knockout* de genes que codificam essas proteínas em camundongos e pela habilidade de agentes que se ligam e bloqueiam moléculas B7 para inibir uma variedade de respostas da célula T em animais de uso experimental e em humanos. O desenvolvimento de agentes terapêuticos com base nesses princípios será descrito adiante.

B7-1 e B7-2 são glicoproteínas de membrana integral e cadeia única, estruturalmente semelhantes, cada uma contendo dois domínios extracelulares do tipo imunoglobulina (Ig). CD28 é um homodímero ligado a pontes dissulfeto, e cada subunidade possui um único domínio de Ig extracelular. Ele se expressa em mais de 90% das células T CD4<sup>+</sup> e em 50% das células T CD8<sup>+</sup> em humanos (e em todas as células T imaturas de camundongos).

**A expressão de coestimuladores B7 é regulada e garante que a resposta por parte dos linfócitos T seja iniciada apenas quando necessário.** As moléculas B7 são expressas principalmente nas APCs, incluindo células dendríticas, macrófagos e linfócitos B. Elas estão ausentes ou em níveis baixos nas APCs em repouso e podem ser induzidas por vários estímulos, incluindo produtos de microrganismos que se ligam a receptores do tipo Toll e a citocinas como interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), produzidos durante as reações imunes inatas a microrganismos. A indução de coestimuladores por patógenos e pelas citocinas da imunidade inata promove respostas das células T a antígenos de microrganismos. Esta é uma excelente ilustração do papel da resposta imune inata na ampliação da imunidade adaptativa (Cap. 4). Além disso, células T CD4<sup>+</sup> ativadas aumentam a expressão dos coestimuladores B7 nas APCs por uma via de sinalização dependente de CD40, que será descrita adiante, providenciando uma alça de *feedback* que auxilia a amplificação da resposta da célula T. De todas as APCs potenciais, células dendríticas maduras expressam os maiores níveis de coestimuladores e, como resultado, são as mais potentes estimuladoras de células T imaturas. Os padrões temporais da expressão de B7-1 e B7-2 são expressos constitutivamente em baixos níveis e induzidos rapidamente após ativação das APCs, enquanto B7-1 é induzido horas ou dias depois.

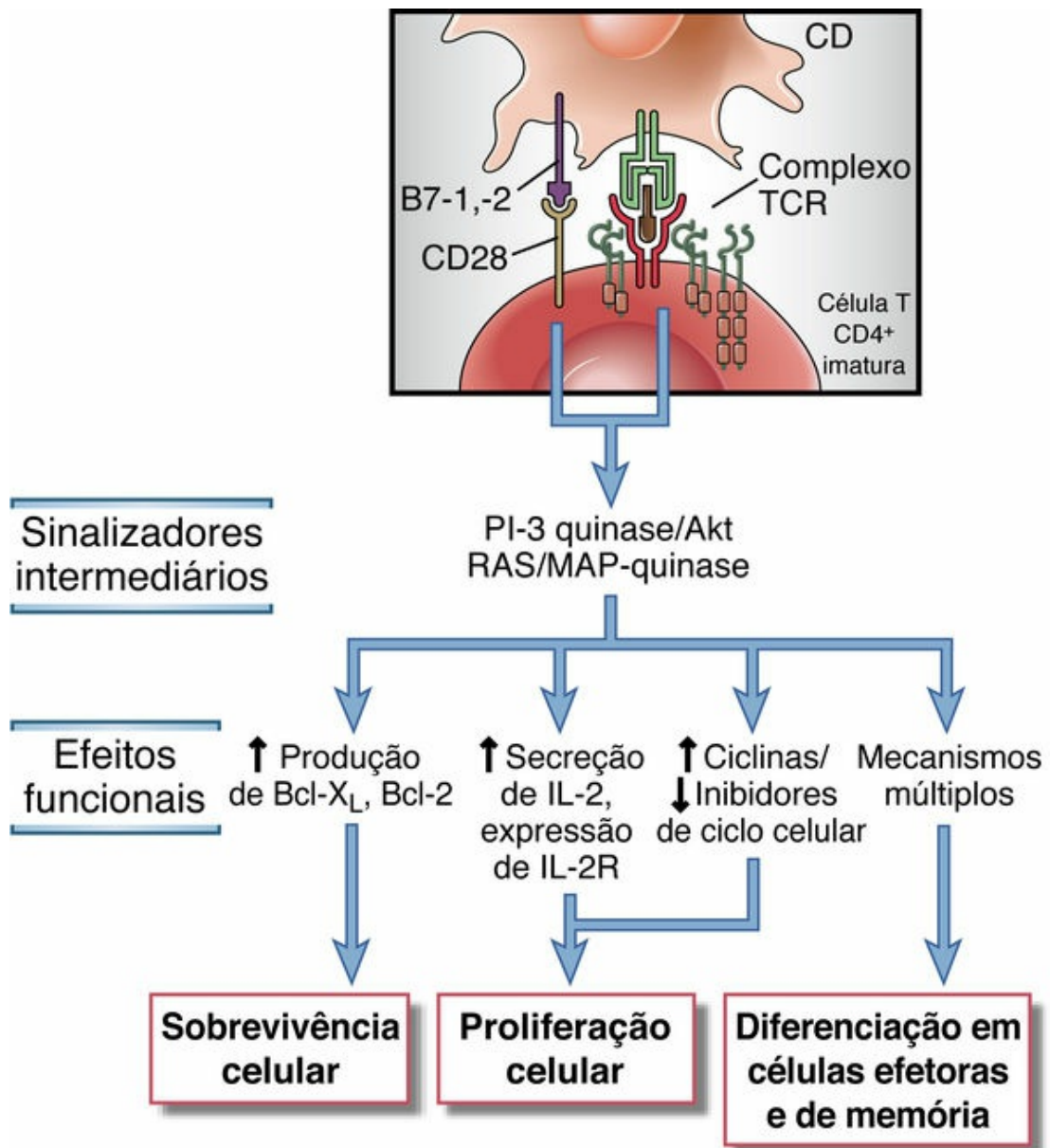
No [Capítulo 6](#), foi mencionado o papel essencial de **adjuvantes** na indução das respostas primárias da célula T a antígenos proteicos como vacinas. Muitos adjuvantes são produzidos por microrganismos ou mimetizam microrganismos, e uma de suas funções mais importantes na ativação da célula T é estimular a expressão de coestimuladores nas APCs.

Inativadas ou em repouso, as APCs de tecidos normais são capazes de apresentar antígenos próprios para as células T, mas pelo fato de as APCs teciduais expressarem apenas níveis baixos de coestimuladores, as células T potencialmente



autorreativas que percebem antígenos próprios não são ativadas e podem se tornar permanentemente irresponsivas (Cap. 15). Células T regulatórias, que são importantes para tolerância a autoantígenos (Cap. 15), são também dependentes da coestimulação mediada por B7:CD28 para sua geração e manutenção. É possível que os baixos níveis dos coestimuladores B7 que são expressos constitutivamente pelas APCs em repouso funcionem em conjunto com os autoantígenos que são apresentados por essas APCs para a manutenção das células T regulatórias.

**Sinais de CD28 trabalham em cooperação com o reconhecimento do antígeno para promover sobrevivência, proliferação e diferenciação das células T específicas.** A sinalização coestimulatória via CD28 amplifica as vias de sinalização que também são induzidas posteriormente no receptor da célula T (Cap. 7) e deve desencadear sinais adicionais que cooperam com sinais induzidos por TCR (Fig. 9-4). AP13 quinase é recrutada para a cauda citoplasmática do CD28, o que, por sua vez, ativa a quinase pró-sobrevivência Akt, bem como Itk e PLC $\gamma$ , que podem desencadear a sinalização de cálcio. CD28 também pode contribuir para a ativação das vias de JNK MAP quinase através da proteína G pequena Rac e amplificar a ativação da via do Nf- $\kappa$ B. O resultado líquido dessas vias de sinalização é a expressão aumentada de proteínas antiapoptóticas, como Bcl-2 e Bcl-X $_L$ , que promovem sobrevivência das células T; aumento da atividade metabólica das células T; amplificação da proliferação das células T; produção de citocinas como IL-2 e diferenciação de células T imaturas em efetoras e células de memória. Células T efetoras e de memória que foram previamente ativadas são menos dependentes da coestimulação pela via do B7:CD28 do que as células imaturas. Essa propriedade de células efetoras e de memória permite que elas respondam a antígenos apresentados por várias APCs que podem residir em tecidos não linfoides e expressar B7 em menores níveis, ou não apresentar nenhuma expressão. Por exemplo, a diferenciação das células T CD8 $^+$  em CTLs efetores requer coestimulação, mas CTLs efetores podem destruir outras células que não expressam coestimuladores.

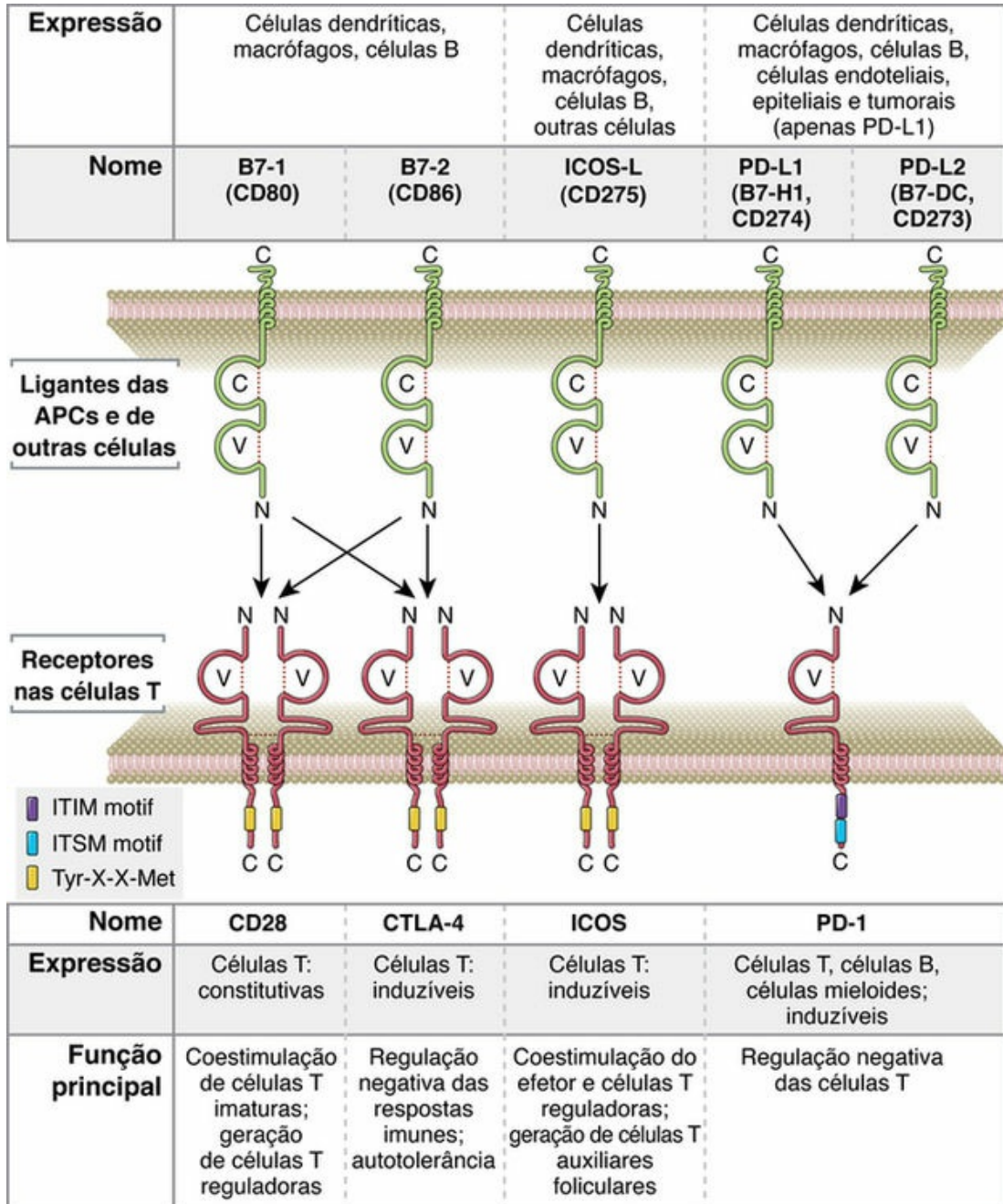


**FIGURA 9-4** Mecanismos de coestimulação das células T por CD28.

O acoplamento de CD28 induz vias de sinalização que aumentam ou trabalham em conjunto com os sinais de TCR para estimular a expressão de proteínas de sobrevivência, as citocinas e receptores de citocinas; para promover a proliferação celular; e para induzir a diferenciação em células efetoras e de memória pela ativação de vários fatores de transcrição (não mostrados, consulte os [Caps. 10 e 11](#)). Estes eventos de diferenciação podem ser secundários à expansão clonal aumentada, bem como envolver o aumento da produção de vários fatores de transcrição.

**Numerosos receptores homólogos a CD28 e seus ligantes homólogos a B7**

**foram identificados, e estas proteínas regulam as respostas das células T tanto positiva quanto negativamente** (Fig. 9-5). Após a demonstração da importância de B7 e CD28, várias outras proteínas estruturalmente relacionadas com B7-1 e B7-2 ou com CD28 foram identificadas. Uma surpreendente conclusão veio à tona: alguns dos membros da família B7:CD28 estão envolvidos na ativação de células T (sendo, portanto, coestimuladores), e outros são inibidores essenciais de células T (e, algumas vezes, são chamados de coinibidores). O receptor coestimulador que não seja o CD28, e que tem sua função melhor compreendida, é **ICOS** (coestimulador induzível, CD278). Seu ligante, denominado ICOS-L (CD275), é expresso em células dendríticas, células B e outras populações celulares. ICOS desempenha um papel essencial na resposta de anticorpos dependente de células T, em particular na reação do centro germinal. Isso é necessário para o desenvolvimento e ativação de células T auxiliares foliculares, que são essenciais para a formação de centros germinais e para a geração de células B de alta afinidade nessas estruturas (Cap. 12).



**FIGURA 9-5** Principais membros das famílias B7 e CD28. Os ligantes conhecidos da família B7 expressos nas APCs e os receptores da família de CD28 expressos em células T são apresentados com seus padrões de expressão e suas principais funções. Outras moléculas amplamente distribuídas com homologia limitada ao B7, tais como B7-H3 e B7-H4, foram identificadas, mas suas funções fisiológicas ainda não estão estabelecidas. Outros receptores inibitórios também foram definidos, como o BTLA, mas estes não são homólogos ao CD28 e não são mostrados aqui.

**O resultado da ativação das células T é influenciado por um equilíbrio entre o acoplamento de receptores de ativação e inibição da família CD28.** Os receptores inibitórios da família CD28 são **CTLA-4** (antígeno 4 do linfócito T citotóxico) e **PD-1** (morte programada 1). (Os nomes dessas duas proteínas não refletem com precisão sua distribuição ou função.) O conceito de que um equilíbrio entre receptores de ativação e receptores inibitórios controla a magnitude das respostas do sistema imunológico foi discutido no [Capítulo 4](#), no contexto de células “*natural killer*” (NK) ([Fig. 4-8](#)). Uma ideia semelhante é aplicada às respostas dos linfócitos T e B, embora os receptores envolvidos sejam bastante diferentes. Uma vez que os receptores inibitórios CTLA-4 e PD-1 estão envolvidos no fenômeno de tolerância e que anormalidades em sua expressão ou função causam doenças autoimunes, iremos abordá-las mais detalhadamente no [Capítulo 15](#), onde serão consideradas a tolerância imunológica e a autoimunidade. Basta afirmar que CD28 e CTLA-4 proporcionam um exemplo ilustrativo de dois receptores que reconhecem os mesmos ligantes (as moléculas B7), mas têm efeitos funcionais opostos na ativação de células T. O CTLA-4 é um receptor de alta afinidade para B7 e foi postulado que se encontra acoplado quando os níveis de B7 nas APCs são baixos (como em APCs em repouso exibindo autoantígenos). O CD28 possui uma afinidade 20 a 50 vezes menor para o B7 e pode ser acoplado quando os níveis B7 são relativamente elevados (p. ex., após a exposição a microrganismos). De acordo com este modelo, o nível de expressão de B7 nas APCs – menor com autoantígenos, alto na presença de microrganismos – determina o acoplamento relativo de CTLA-4 ou CD28, respectivamente, e isso, por sua vez, define se as respostas são encerradas (em razão do acoplamento de CTLA-4) ou iniciadas (pelos sinais de CD28). Uma vez acoplado, CTLA-4 pode inibir competitivamente o acesso de CD28 às moléculas B7 nas APCs, remover B7 da superfície das APCs ou emitir sinais inibitórios que bloqueiam os sinais de ativação do TCR e do CD28 ([Cap. 15](#)).

Embora muitos dos coestimuladores e receptores inibitórios tenham funções sobrepostas, o principal papel fisiológico de diferentes membros dessas famílias pode ser distinto. Acredita-se que a interação CD28:B7 é mais importante para a iniciação de respostas das células T mediante ativação de células T imaturas; interações ICOS:ligantes de ICOS são essenciais para as respostas de anticorpos dependentes das células T auxiliares; interações CTLA-4: B7 inibem a ativação inicial dos linfócitos T em órgãos linfoides secundários; e interações PD1:ligante de PD1 inibem a ativação de células efetoras, especialmente em tecidos periféricos.

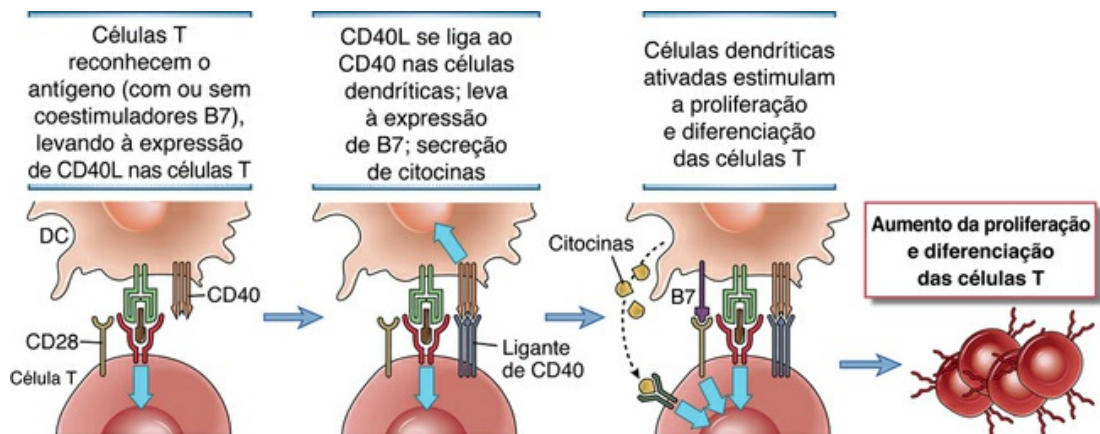
## **Outras Vias Coestimulatórias**

Muitas outras moléculas da superfície das células T, incluindo CD2 e integrinas, demonstraram fornecer sinais coestimulatórios *in vitro*, porém sua função fisiológica na promoção da ativação da célula T está menos esclarecida do que a da família CD28. Discutimos as funções de proteínas da família CD2 no [Capítulo 7](#) e das

integrinas no [Capítulo 3](#). Vários outros receptores que pertencem à grande superfamília do fator de necrose tumoral (TNF), seu receptor (TNFR) e ligantes, que são homólogos ao TNF, demonstraram estimular e inibir células T sob várias condições experimentais. Muitos dos receptores são expressos nas células T ativadas e acredita-se estarem envolvidos no desenvolvimento, manutenção e funções de células efetoras. Ox40 (CD134) é um membro da família do TNFR expresso em células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> ativadas cuja função é manter a sobrevivência celular e respostas sustentadas. Seu ligante é expresso nas APCs ativadas. Outros membros desta família que têm sido relacionados com a estimulação e supressão das respostas de linfócitos incluem o 4-1BB (CD137), que também é expresso em células T ativadas. Alguns membros da família TNFR, como o CD27, são expressos em células T de memória; sua função fisiológica não está definida. A participação destas proteínas no controle de respostas normais e respostas imunes patológicas permanece sob ativa investigação.

***A interação de CD40L nas células T com o CD40 nas APCs amplifica as respostas das células T pela ativação das APCs.*** O ligante de CD40 (CD40L) é uma proteína de membrana da superfamília do TNF expresso principalmente nas células T ativadas, e CD40 é um membro da superfamília do TNFR expresso em células B, macrófagos e células dendríticas. As funções do CD40 na ativação de macrófagos na imunidade mediada por células e ativação de células B nas respostas imunes humorais serão descritas nos [Capítulos 10 e 12](#), respectivamente. As células T auxiliares ativadas expressam o CD40L, que se liga ao CD40 nas APCs e as ativa para torná-las mais potentes por meio da amplificação da sua expressão de moléculas B7 e da secreção de citocinas, tais como IL-12, que promovem a diferenciação das células T ([Fig. 9-6](#)). Este fenômeno é ocasionalmente chamado de licenciamento, porque as células T ativadas licenciam APCs para se tornarem estimuladoras de respostas imunes mais potentes. Assim, a via de CD40 amplifica indiretamente as respostas da célula T por induzir coestimuladores nas APCs, mas o CD40L não funciona sozinho como um coestimulador para as células T.



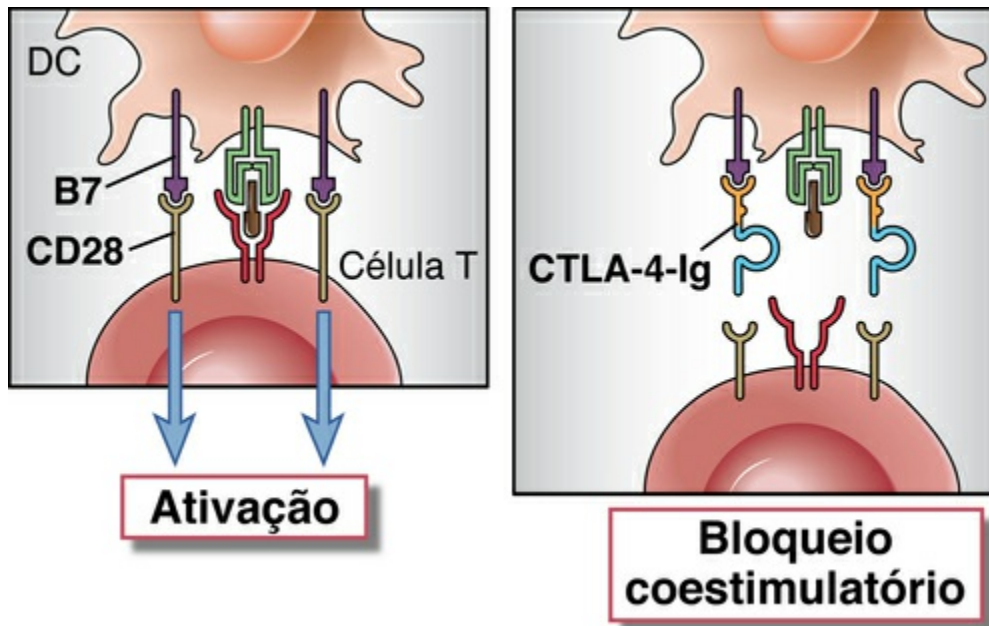


**FIGURA 9-6** Papel do CD40 na ativação de células T.

As células T imaturas são ativadas por complexos MHC-peptídeos em APCs ativadas. O reconhecimento do antígeno pelas células T em conjunto com alguma coestimulação (não mostrado) induz a expressão do ligante de CD40 (CD40L) em células T ativadas. O CD40L acopla o CD40 nas APCs e pode estimular a expressão de várias moléculas B7 e a secreção de citocinas que ativam as células T. Assim, o CD40L nas células T torna as APCs melhores em promover e ampliar a ativação das células T.

### Bloqueio Terapêutico Coestimulatório

Com base no entendimento dessas vias de coestimulação, novos agentes terapêuticos estão sendo desenvolvidos para o controle de respostas imunes prejudiciais (Fig. 9-7). O CTLA-4-Ig, uma proteína de fusão que consiste em um domínio extracelular de CTLA-4 e na porção Fc da IgG humana, liga-se a B7-1 e B7-2 e bloqueia a interação B7: CD28. A razão para o uso do domínio extracelular de CTLA-4, em vez de CD28, para bloquear as moléculas B7 é que CTLA-4 possui uma afinidade maior para B7 do que para CD28. A ligação da porção Fc da IgG aumenta a meia-vida *in vivo* da proteína. O CTLA-4-Ig é uma terapia aprovada para a artrite reumatoide e rejeição a transplantes, e os ensaios clínicos estão atualmente avaliando sua eficácia no tratamento de outras doenças inflamatória, tais como a psoríase e a doença de Crohn. Os inibidores da via de CD40L:CD40 estão também sendo usados em ensaios clínicos para rejeição a transplantes e doenças inflamatória crônicas.



**FIGURA 9-7** Mecanismo de bloqueio da coestimulação terapêutica.

Uma proteína de fusão da porção extracelular de CTLA-4 e a cauda Fc de uma molécula de IgG são utilizadas para se ligar e bloquear as moléculas B7, prevenindo, assim, sua interação com o receptor de ativação CD28 e inibindo a ativação de células T.

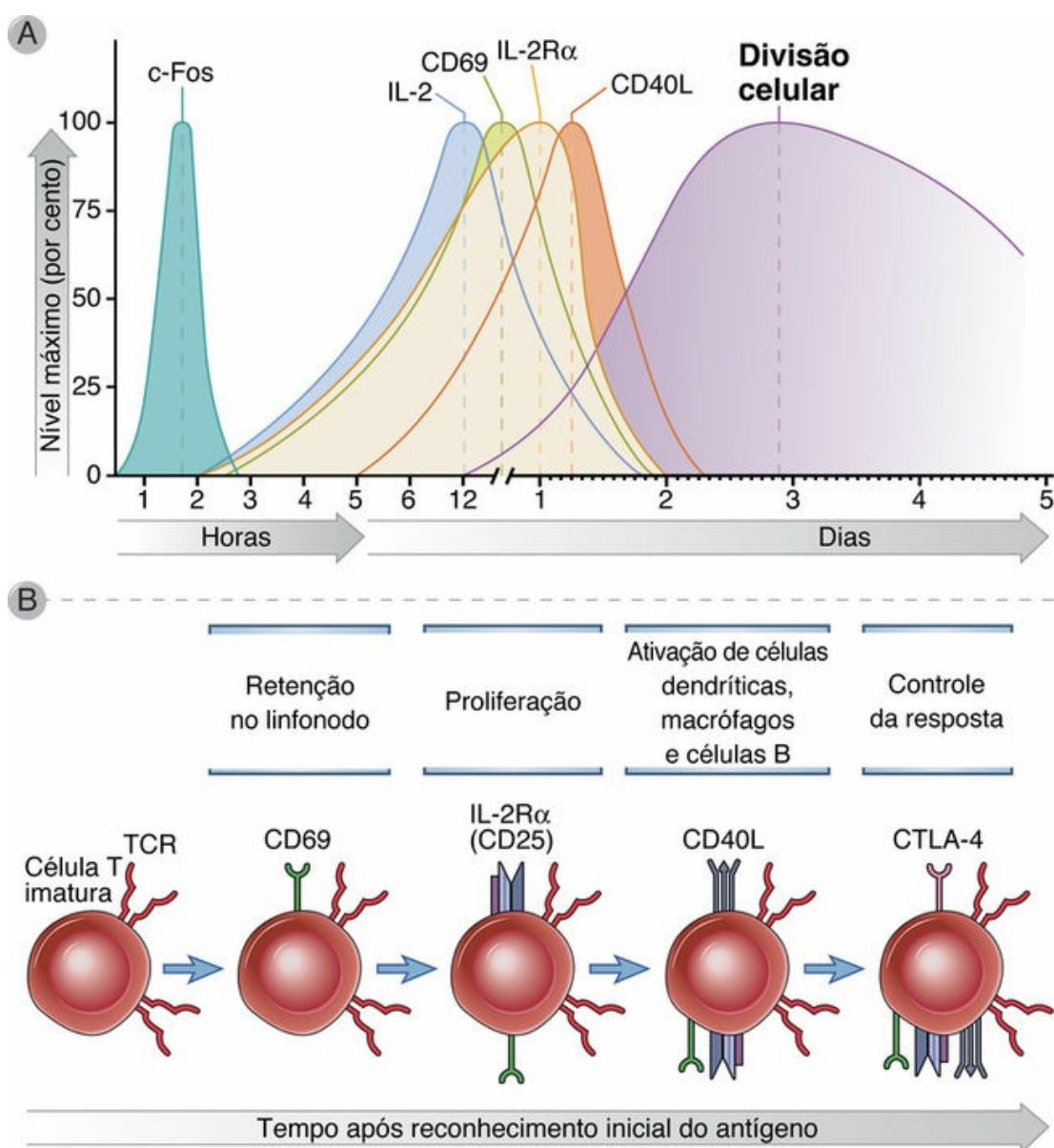
Os anticorpos que bloqueiam os receptores inibidores CTLA-4 e PD-1 foram aprovados ou estão em ensaios clínicos para a imunoterapia de tumores; eles funcionam por meio da remoção dos freios sobre a ativação das células T e do rolamento do tumor individual para montar uma resposta imune antitumoral mais efetiva (Cap. 18). Como previsto, a partir do papel do CTLA-4 na manutenção de autotolerância, o bloqueio deste receptor inibitório induz reações autoimunes em alguns pacientes.

## Respostas funcionais dos linfócitos T

As primeiras respostas das células T estimuladas por antígenos consistem em alterações na expressão de várias moléculas da superfície, incluindo receptores de citocinas, bem como na secreção de citocinas. Elas são seguidas pela proliferação de células antígeno-específicas, induzidas em parte pelas citocinas secretadas e, em seguida, pela diferenciação de células ativadas em células efetoras e de memória. No restante deste capítulo, descreveremos estes passos, seus mecanismos básicos e suas consequências funcionais.

## Alterações nas Moléculas de Superfície durante a Ativação da Célula T

Após o início da ativação pelo reconhecimento do antígeno e a ligação do coestimulador, ocorrem alterações características na expressão de várias moléculas de superfície nas células T, que são mais bem definidas em células  $CD4^+$  auxiliares (Fig. 9-8). Muitas das moléculas expressas em células T ativadas são também envolvidas nas respostas funcionais das células T. Algumas das moléculas funcionalmente importantes induzidas após o reconhecimento do antígeno e coestimuladores estão a seguir:



**FIGURA 9-8** Alterações nas moléculas de superfície após a ativação das células T.

**A**, A cinética aproximada da expressão de moléculas selecionadas durante a ativação das células T por antígenos e coestimuladores. Os exemplos ilustrativos incluem um fator de transcrição (c-Fos), uma citocina (IL-2) e proteínas de superfície. Essas proteínas são normalmente expressas em baixos níveis em células T imaturas e são induzidas por sinais de ativação. O CTLA-4 é induzido 1 a 2 dias depois da ativação inicial. A cinética é estimada e varia conforme a natureza do antígeno, sua dose e persistência e o tipo de adjuvante. **B**, As principais funções de moléculas de superfície selecionadas são mostradas e descritas no texto. *CD40L*, ligante de CD40; *IL-2R*, receptor de IL-2.

- **CD69**. Dentro de algumas horas, as células T aumentam sua expressão de CD69, uma proteína da membrana plasmática. Essa proteína se liga e reduz a expressão de superfície do receptor da esfingosina 1-fosfato S1PR1, que foi descrito no [Capítulo 3](#) como um receptor que medeia a saída das células T de órgãos linfoides. A consequência da diminuição da expressão de S1PR1 é que as células T ativadas são retidas nos órgãos linfoides tempo suficiente para receber os sinais que iniciam sua proliferação e diferenciação em células efetoras e de memória. Após a divisão celular, a expressão de CD69 diminui, as células T ativadas reexpressam altos níveis de S1PR1 e, como consequência, células efetoras e de memória podem sair dos órgãos linfoides ([Cap. 3](#)).
- **CD25 (IL-2R $\alpha$ )**. A expressão desse receptor de citocina permite que células T ativadas respondam à citocina promotora de crescimento IL-2. Este processo será descrito adiante.
- **Ligante do CD40 (CD40L, CD154)**. Dentro de 24 a 48 horas após o reconhecimento do antígeno, as células T expressam altos níveis do ligante para CD40. A expressão do CD40L possibilita às células T ativadas mediar as suas funções efetoras chave, que são auxiliar os macrófagos e as células B. Adicionalmente, como discutido anteriormente, o CD40L nas células T ativa células dendríticas a se tornarem melhores APCs, proporcionando, assim, um mecanismo de *feedback* positivo para amplificar as respostas da célula T.
- **CTLA-4 (CD152)**. A expressão de CTLA-4 em células T também aumenta no período de 24 a 48 horas após o reconhecimento do antígeno. Mencionamos o CTLA-4 anteriormente como membro da família CD28 que funciona como um inibidor da ativação da célula T e, assim, como um regulador da sua resposta. O mecanismo de ação do CTLA-4 será descrito no [Capítulo 15 \(Fig. 15-5\)](#).
- **Moléculas de adesão e receptores de quimiocinas**. Durante a ativação, as células T reduzem a expressão de moléculas que as dirigem para os órgãos linfoides (como a L-selectina [CD62L] e o receptor de quimiocina CCR7) e

umentam a expressão de moléculas que estão envolvidas na sua migração para locais periféricos de infecção e de lesão tecidual (como as integrinas LFA-1 e VLA-4, os ligantes para E- e P-selectinas e vários receptores de quimiocinas). Estas moléculas e sua participação na migração de células T foram descritas no [Capítulo 3](#). A ativação também eleva a expressão de CD44, um receptor para a molécula da matriz extracelular de ácido hialurônico. A ligação de CD44 ao seu ligante ajuda a manter as células T efectoras nos tecidos dos locais de infecção e dano tecidual ([Cap. 10](#)).

## Citocinas nas Respostas Imunes Adaptativas

As citocinas desempenham um papel crucial na imunidade adaptativa. Essas citocinas possuem algumas propriedades gerais:

- Nas respostas imunes adaptativas, células T auxiliares CD4<sup>+</sup> produzem a maior quantidade e variedade de citocinas, mas citocinas produzidas por células T CD8<sup>+</sup> e células B também desempenham papéis importantes. As citocinas secretadas por células dendríticas e por outras APCs têm funções essenciais para o desenvolvimento das respostas das células T.
- As citocinas produzidas durante as respostas imunes adaptativas estão envolvidas na proliferação e diferenciação de células B e T estimuladas por antígeno e nas funções efectoras das células T.
- A maioria destas citocinas atua sobre as células que as produzem (ação autócrina) ou em células vizinhas (ação parácrina).

A participação das citocinas sobre as funções efectoras das células T será descrita nos [Capítulos 10 e 11](#). Aqui discutimos a interleucina-2, o protótipo de uma citocina derivada da célula T que estimula as respostas de células T.

## Secreção de IL-2 e Expressão do Receptor de IL-2

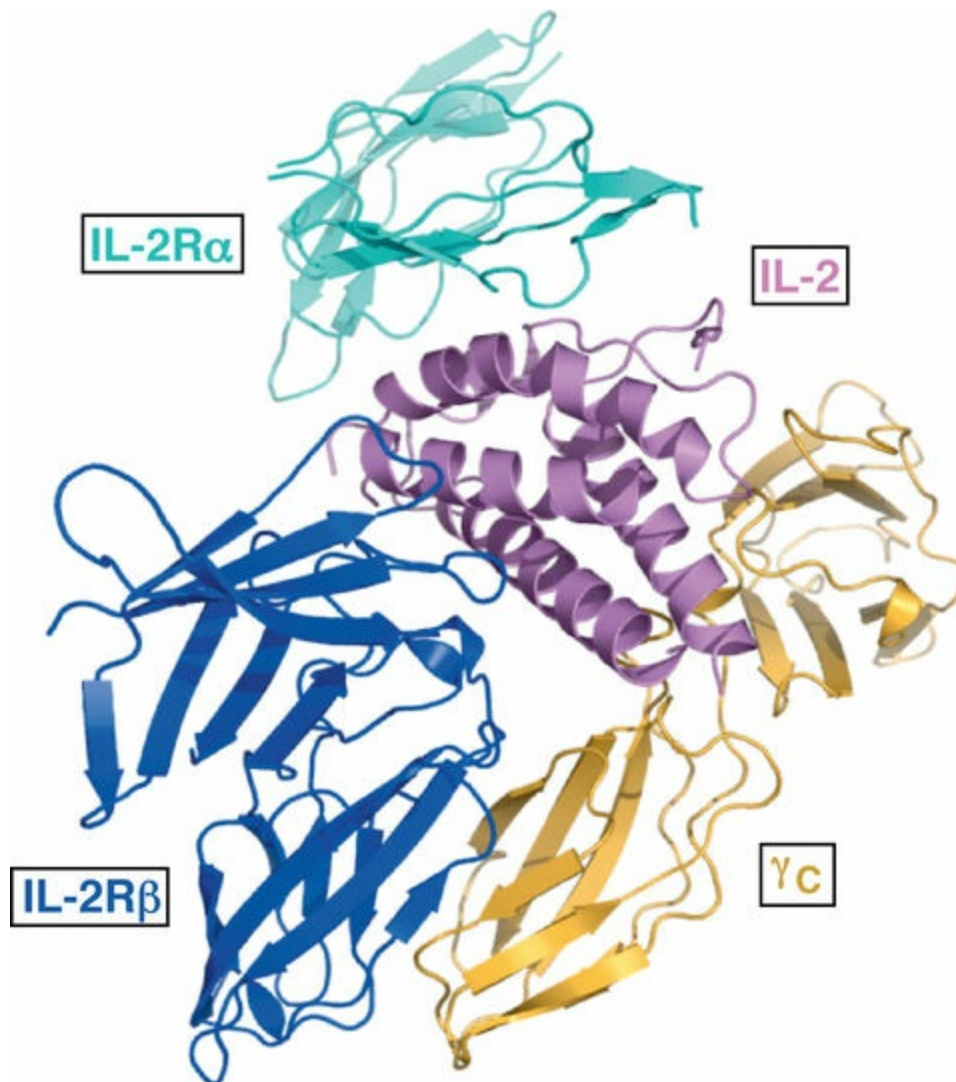
***A interleucina-2 (IL-2) é um fator de crescimento, sobrevivência e diferenciação de linfócitos T, que desempenha um papel importante na indução de respostas das células T e no controle das respostas imunes.*** Em virtude da sua capacidade de auxiliar a proliferação das células T estimuladas por antígeno, a IL-2 foi originalmente chamada de fator de crescimento de células T (TCGF). Ela atua sobre as mesmas células que a produzem ou em células adjacentes (ou seja, funciona como uma citocina autócrina ou parácrina).

A IL-2 é produzida principalmente por linfócitos T CD4<sup>+</sup> inicialmente após o reconhecimento do antígeno e dos coestimuladores. A ativação das células T estimula a transcrição do gene *IL 2* e a síntese e secreção da proteína. A produção de IL-2 é rápida e transitória, iniciando-se a partir de 1 a 2 horas após o reconhecimento do antígeno, atingindo um máximo de cerca de 8 a 12 horas e reduzindo-se em 24

horas. As células T CD4<sup>+</sup> secretam IL-2 na sinapse imunológica formada entre a célula T e a APC (Cap. 7). Os receptores IL-2 em células T também tendem a se localizar na sinapse, de modo que a citocina e seu receptor alcancem concentrações locais suficientemente altas para iniciar a resposta celular.

A IL-2 secretada é uma glicoproteína globular de 14 a 17 kD contendo quatro  $\alpha$ -hélices (Fig. 9-9). Ela é o protótipo das citocinas com quatro  $\alpha$ -hélices que interagem com os receptores de citocinas tipo I (Cap. 7).



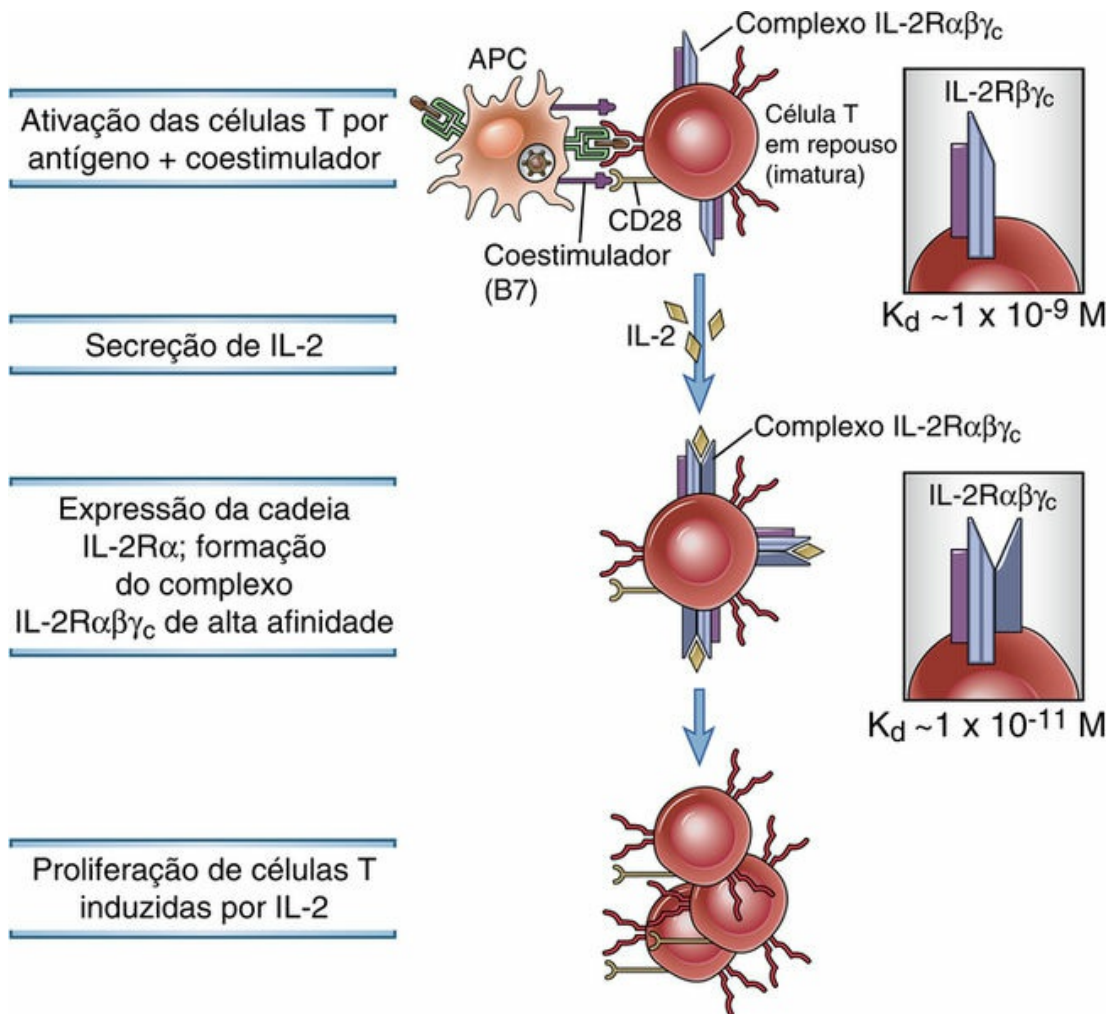


**FIGURA 9-9** Estrutura de IL-2 e seu receptor.

A estrutura cristalina da IL-2 e seu receptor trimérico mostra como a citocina interage com as três cadeias do receptor. (Reproduzido de Wang X, Rickert M, Garcia KC: Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma_c$  receptors, Science 310:1159-1163, 2005, com a permissão dos editores. Cortesia de Drs. Patrick Lupardus e K. Christopher Garcia, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California.)

**Os receptores funcionais de IL-2 são expressos transitoriamente na ativação de células T imaturas e efectoras; células T reguladoras sempre expressam alta afinidade por receptores de IL-2.** O receptor de IL-2 (IL-2R) é constituído por três proteínas associadas não covalentemente: IL-2R $\alpha$  (CD25), IL-2/15R $\beta$  (CD122) e  $\gamma_c$  (CD132). Dentre as três cadeias, apenas IL-2R $\alpha$  é exclusivo do IL-2R. A IL-2 se liga à cadeia  $\alpha$  sozinha com baixa afinidade, e isso não leva a uma sinalização citoplasmática detectável ou à resposta biológica. A cadeia  $\beta$  também faz

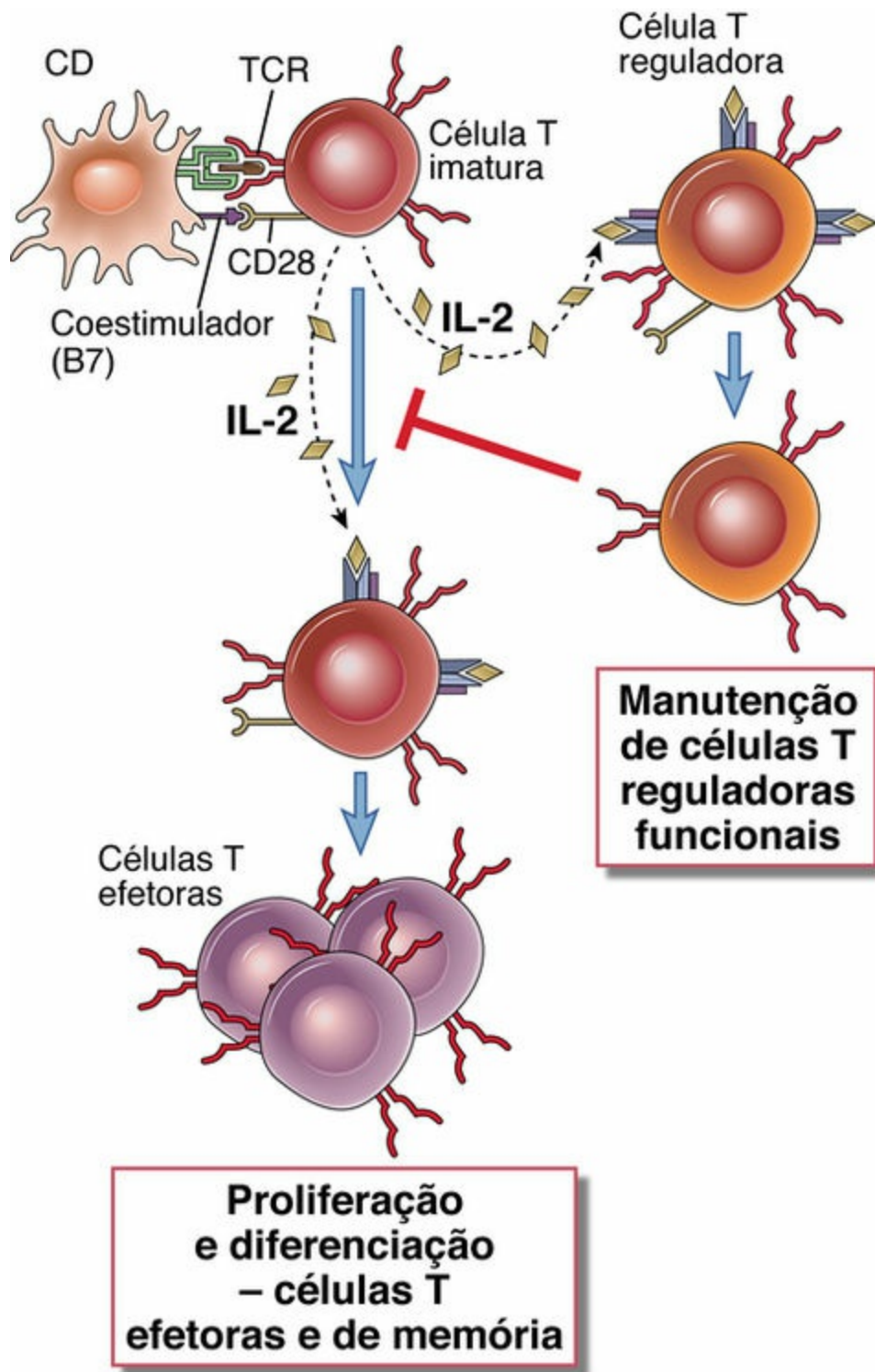
parte do receptor de IL-15. A cadeia  $\gamma$  é compartilhada com vários receptores de citocinas, incluindo aqueles para a IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21, sendo, portanto, chamada de cadeia  $\gamma$  comum ( $\gamma_C$ ). Tanto a cadeia  $\beta$  quanto a  $\gamma_C$  envolvem a via de sinalização JAK-STAT (Cap. 7). Os complexos IL-2R $\beta\gamma_C$  são expressos em níveis baixos em células T em repouso (e nas células NK) e ligam-se a IL-2 com um  $K_D$  de cerca de  $10^{-9}$  M (Fig. 9-10). A expressão de IL-2R $\alpha$  e, em menor grau, da IL-2R $\beta$  é aumentada na ativação de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> imaturas. As células que expressam a IL-2R $\alpha$  e formam complexos IL-2R $\alpha\beta\gamma_C$  podem se ligar a IL-2 mais firmemente, com um  $K_D$  de aproximadamente,  $10^{-11}$  M, e a estimulação do crescimento de tais células ocorre de forma semelhante a uma baixa concentração de IL-2. A IL-2, produzida em resposta à estimulação do antígeno, é um estímulo para a indução de IL-2R $\alpha$ , proporcionando um mecanismo de retroalimentação pelo qual as respostas das células T se amplificam. Células T CD4<sup>+</sup> reguladoras (Cap. 15) expressam todo o complexo IL-2R e estão, dessa maneira, prontas para responder à citocina. A estimulação crônica das células T leva à secreção de IL-2R $\alpha$  e níveis aumentados do IL-2R $\alpha$  secretados no soro são utilizados clinicamente como um marcador de forte estimulação antigênica (p. ex., rejeição aguda a um órgão transplantado).



**FIGURA 9-10** Regulação da expressão do receptor de IL-2. Os linfócitos T em repouso (imaturados) expressam o complexo IL-2R $\beta\gamma_c$ , que tem uma afinidade moderada para IL-2. A ativação das células T por antígeno, coestimuladores e pela própria IL-2 leva à expressão da cadeia IL-2R $\alpha$  e altos níveis do complexo IL-2R $\alpha\beta\gamma_c$  de alta afinidade.

## Funções da IL-2

A biologia da IL-2 é fascinante porque ela possui um papel essencial tanto na promoção e controle das respostas da célula T quanto nas suas funções (Fig. 9-11).



**FIGURA 9-11** Ações biológicas de IL-2. A IL-2 estimula a sobrevivência, proliferação e diferenciação de linfócitos T, atuando como um fator de crescimento autócrino. A IL-2 também mantém as células T reguladoras funcionais e, assim, controla as respostas imunes (p. ex., contra autoantígenos).

- **A IL-2 estimula a sobrevivência, proliferação e diferenciação de células T ativadas por antígeno.** A IL-2 promove a sobrevivência das células através da indução da proteína antiapoptótica Bcl-2. Ela estimula a progressão do ciclo celular por meio da síntese de ciclinas e por atenuar um bloqueio da progressão do ciclo celular através da degradação do inibidor de ciclo celular p27. Além disso, a IL-2 aumenta a produção de citocinas efetoras, tais como IFN- $\gamma$  e IL-4, pelas células T.
- **A IL-2 é necessária para a sobrevivência e o funcionamento das células T reguladoras,** que suprimem as respostas imunes contra os autoantígenos e outros antígenos. Camundongos *knockouts* com ausência de IL-2 ou das cadeias IL-2R  $\alpha$  ou  $\beta$  desenvolvem uma proliferação descontrolada de células T e B e doença autoimune por causa de defeitos em células T reguladoras. Esta descoberta sugere que outros fatores de crescimento podem substituir a IL-2 para a expansão de células T efetoras, mas nenhuma outra citocina pode substituir a IL-2 para a manutenção de células T reguladoras funcionais. Discutiremos este papel da IL-2 em mais detalhes no [Capítulo 15](#), quando serão descritas as propriedades e funções das células T reguladoras. Uma característica interessante desta função da IL-2 é que as células T reguladoras não produzem quantidades significativas dessa citocina, o que implica que elas dependem da IL-2 produzida por outras células respondendo a antígenos para sua sobrevivência.
- **Também tem sido mostrado que a IL-2 estimula a proliferação e diferenciação das células NK e das células B in vitro.** A importância fisiológica dessas ações não está estabelecida.

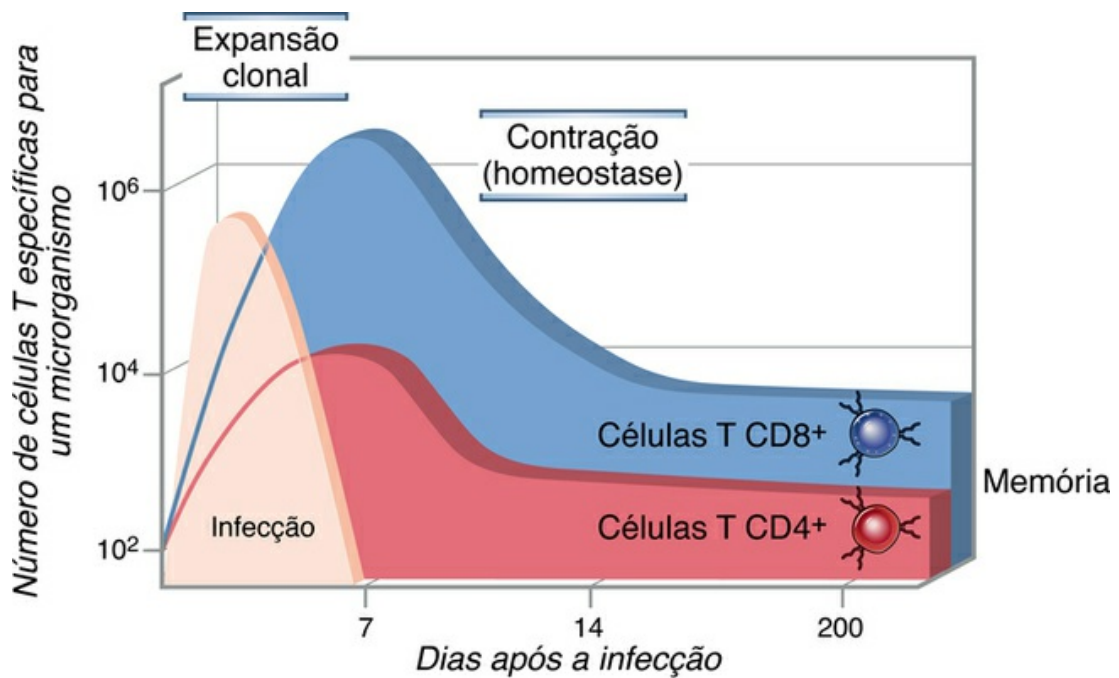
## Expansão Clonal das Células T

**A proliferação de células T em resposta ao reconhecimento do antígeno é mediada por uma combinação de sinais a partir do receptor do antígeno, coestimuladores e fatores de crescimento autócrinos, principalmente a IL-2.**

As células que reconhecem antígeno produzem IL-2, e também preferencialmente respondem a ele, garantindo que as células T específicas ao antígeno são as que mais proliferam. O resultado dessa proliferação é um aumento no tamanho dos clones específicos para o antígeno, conhecido como **expansão clonal**, que gera um grande número de células necessárias para eliminar o antígeno a partir de um pequeno conjunto (*pool*) de linfócitos imaturos específicos para o antígeno. Antes da exposição ao antígeno, a frequência de células T imaturas específicas para qualquer antígeno é de 1 em  $10^5$  a  $10^6$  linfócitos. Após a exposição ao antígeno microbiano, a frequência de células T CD8<sup>+</sup> específicas para esses microrganismos podem aumentar para até 1 a 3 linfócito T CD8<sup>+</sup>, representando uma expansão > 50.000 vezes de células T CD8<sup>+</sup> específicas para o antígeno, e o número de células CD4<sup>+</sup> específicas aumenta de 1 a 100 linfócitos CD4<sup>+</sup> ([Fig. 9-12](#)). Os estudos em



camundongos mostraram pela primeira vez esta enorme expansão de uma população específica para o antígeno em algumas infecções virais agudas e, notavelmente, isso ocorreu dentro de pouco tempo, como 1 semana após a infecção. Igualmente notável foi a constatação de que, durante esta massiva expansão clonal específica para o antígeno, as células T espectadoras, que não eram específicas para o vírus, não proliferaram. A expansão de células T específicas para o vírus Epstein-Barr e para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) em seres humanos com infecção aguda é também desta magnitude.



**FIGURA 9-12** Expansão clonal das células T.

Os números de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> específicas para antígenos microbianos e a expansão e declínio das células durante as respostas imunes são ilustrados. Os números são aproximações fundamentadas em estudos em camundongos isogênicos para modelo de estimulação microbiana e de outros antígenos.

## Diferenciação das Células T Ativadas em Células Efetoras

Muitos dos descendentes das células estimuladas com antígeno se diferenciam em células efetoras. As células efetoras da linhagem CD4<sup>+</sup> expressam moléculas de superfície e secretam citocinas que ativam outras células (linfócitos B, macrófagos e

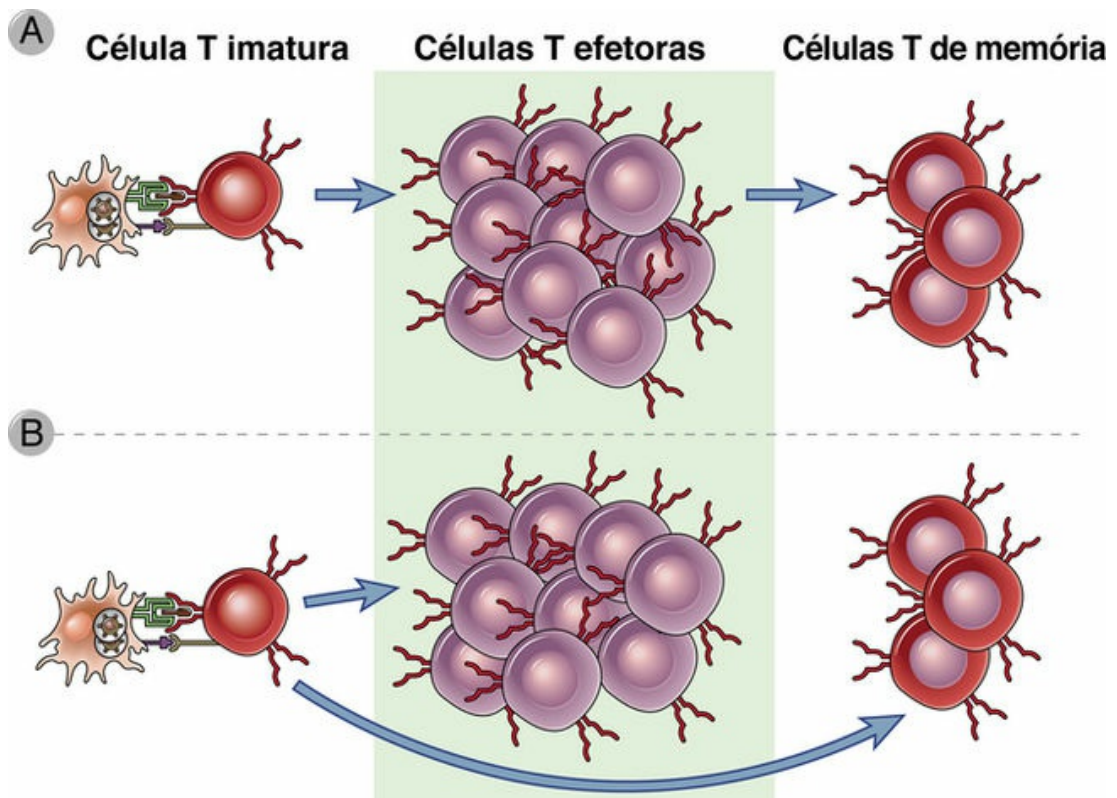


células dendríticas). Enquanto as células T CD4<sup>+</sup> imaturas produzem principalmente IL-2 na sua ativação, células efetoras T CD4<sup>+</sup> são capazes de produzir um grande número e variedade de citocinas que têm diversas atividades biológicas. Células efetoras CD8<sup>+</sup> são citotóxicas e destroem as células infectadas. Em decorrência das diferenças importantes nas células efetoras das linhagens CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, descreveremos seu desenvolvimento e funções separadamente nos [Capítulos 10 e 11](#).

## Desenvolvimento das Células T de Memória

***Respostas imunes a um antígeno mediadas por células T normalmente resultam na geração de células T de memória específicas para esse antígeno, que pode persistir por anos, mesmo por toda a vida.*** As células de memória fornecem uma defesa eficaz contra patógenos que são predominantes no ambiente e podem ser encontrados repetidamente. O sucesso da vacinação é atribuído em grande parte à capacidade de gerar células de memória em uma exposição inicial do antígeno. O experimento clássico de Edward Jenner sobre a vacinação bem-sucedida de uma criança contra a varíola é uma demonstração de resposta de memória. Apesar da importância da memória imunológica, muitas questões fundamentais sobre a geração de células de memória ainda não foram respondidas.

As células de memória podem se desenvolver a partir de células efetoras ao longo de uma via linear, ou populações efetoras e de memória podem divergir na diferenciação, de modo que existem dois destinos alternativos de linfócitos ativados por antígeno e outros estímulos ([Fig. 9-13](#)). Os mecanismos que determinam se uma célula T individual estimulada por antígenos se tornará uma célula efetora de curta duração ou entrará no conjunto de células de memória de longa duração não estão estabelecidos. Os sinais que dirigem o desenvolvimento de células de memória também não são totalmente compreendidos. Uma possibilidade é que os tipos de fatores de transcrição induzidos durante a ativação das células T influenciem a escolha entre o desenvolvimento das células efetoras ou de memória. Por exemplo, a expressão do fator de transcrição T-bet impulsiona a diferenciação em direção a populações de células efetoras CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, ao passo que a expressão de um fator de transcrição diferente, Blimp-1, promove a geração de células de memória. Se a indução da transcrição desses fatores é um processo aleatório (estocástico) ou é influenciada por sinais externos específicos, ainda não foi esclarecido.



**FIGURA 9-13** Desenvolvimento das células T de memória. Em resposta ao antígeno e à coestimulação, as células T imaturas diferenciam-se em efetoras e de memória. **A**, Com base no modelo linear de diferenciação de células T de memória, a maioria das células efetoras morre e algumas sobreviventes evoluem para a população de memória. **B**, Com base no modelo de diferenciação ramificada, células efetoras e de memória são os destinos alternativos de células T ativadas.

### Propriedades das Células T de Memória

**As propriedades que definem as células de memória são sua capacidade para sobreviver em um estado quiescente após a eliminação do antígeno e preparar respostas maiores e melhores para antígenos do que células imaturas.** Algumas características de células de memória são responsáveis por essas propriedades:

- **As células de memória expressam níveis aumentados de proteínas antiapoptóticas, que podem ser responsáveis por sua sobrevivência prolongada.** Enquanto as células T imaturas vivem por semanas ou meses e são substituídas por células maduras que se desenvolvem no timo, as células T de memória podem sobreviver por meses ou anos. Assim, como os seres humanos envelhecem em um ambiente no qual estão constantemente expostos e

responsivos a agentes infecciosos, a proporção de células de memória induzidas por estes microrganismos em comparação com células imaturas aumenta progressivamente. Em indivíduos com 50 anos de idade ou mais, metade ou mais das células T circulantes podem ser células de memória. As proteínas antiapoptóticas que promovem a sobrevivência de células de memória incluem Bcl-2 e Bcl-X<sub>L</sub>, que previnem a liberação de citocromo da mitocôndria e, assim, bloqueiam a apoptose induzida por uma deficiência nos sinais de sobrevivência (Fig. 15-7). A presença dessas proteínas permite que as células de memória sobrevivam mesmo depois da eliminação do antígeno e que a resposta imune inata tenha diminuído, quando os sinais normais para a sobrevivência e proliferação das células T não estão mais presentes.

- ***As células de memória respondem mais rapidamente à estimulação dos antígenos do que células imaturas específicas para o mesmo antígeno.*** A resposta rápida de células de memória ao desafio antigênico foi documentada em muitos estudos feitos em humanos e em animais experimentais. Por exemplo, em estudos em camundongos, as células T imaturas responderam ao antígeno in vivo em 5 a 7 dias, e as células de memória responderam dentro de 1 a 3 dias (Fig. 1-4). Uma possível explicação para essa amplificação da resposta é que os loci do gene para citocinas e outras moléculas efetoras ficam fixos em um estado acessível nas células de memória, em parte por causa das mudanças na metilação e acetilação das histonas. Como resultado, estes genes estão preparados para responder rapidamente ao desafio antigênico.
- ***O número de células T de memória específicas para qualquer antígeno é maior do que o número de células imaturas específicas para o mesmo antígeno.*** Como discutimos anteriormente, a proliferação leva a uma grande expansão clonal em todas as respostas imunes e à diferenciação dos linfócitos imaturos em células efetoras, a maioria das quais morre depois da eliminação do antígeno. As células sobreviventes do clone expandido são células de memória, em geral 10 a 100 vezes mais numerosas do que o conjunto de células imaturas antes do encontro com o antígeno. O aumento do tamanho do clone é um dos principais motivos pelo qual a exposição ao antígeno em um indivíduo previamente imunizado induz uma resposta mais robusta do que a primeira imunização em um indivíduo imaturo. Como esperado, o tamanho do conjunto de memória é proporcional ao tamanho da população imatura específica para o antígeno.
- ***As células de memória são capazes de migrar para os tecidos periféricos e responder a antígenos nestes locais.*** Como foi discutido previamente, as células T imaturas migram preferencialmente para os órgãos linfóides secundários, mas as células de memória podem migrar para praticamente qualquer tecido. Essas diferenças estão relacionadas com diferenças na expressão de moléculas de adesão e receptores de quimiocinas. Além disso, as células T de memória são menos dependentes da coestimulação do que as células imaturas, permitindo que

as células de memória respondam a antígenos apresentados por uma vasta gama de APCs em tecidos periféricos; em contrapartida, como já discutimos anteriormente neste capítulo e no [Capítulo 6](#), as células T imaturas são dependentes da apresentação de antígenos pelas células dendríticas maduras em órgãos linfoides.

- ***As células de memória passam por uma proliferação lenta, e esta capacidade de autorrenovação pode contribuir para o tempo de vida longo do conjunto de células de memória.*** O ciclo dessas células pode ser guiado por citocinas. Por causa da sua capacidade de autorrenovação, células de memória têm sido comparadas às células-tronco.

- ***A manutenção das células de memória é dependente de citocinas, mas não requer o reconhecimento do antígeno.*** A citocina mais importante para a manutenção das células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> de memória é a IL-7, que também desempenha um papel-chave no desenvolvimento inicial de linfócitos ([Cap. 8](#)) e na sobrevivência de células T imaturas ([Cap. 2](#)). Como era previsto, uma elevada expressão do receptor de IL-7 (CD127) é característica de células T de memória.

As células T CD8<sup>+</sup> de memória também dependem da citocina relacionada com IL-15 para sua sobrevivência. IL-7 e IL-15 induzem a expressão de proteínas antiapoptóticas e estimulam a proliferação de baixo nível, mantendo as populações de células T de memória por longos períodos. A capacidade das células de memória de sobreviver sem o reconhecimento do antígeno foi mais bem demonstrada por experimentos em camundongos cujos receptores de antígeno foram geneticamente excluídos após o desenvolvimento de linfócitos maduros. Nesses camundongos, o número de linfócitos imaturos reduz-se rapidamente, mas as células de memória são mantidas.

Os marcadores fenotípicos mais confiáveis para células T de memória parecem ser a expressão de superfície do receptor de IL-7 e uma proteína de função desconhecida chamada CD27 e a ausência de marcadores de células T imaturas e recém-ativadas ([Tabela 2-3](#)). Nos seres humanos, a maioria das células T imaturas expressa a isoforma de 200 kD da molécula de superfície CD45 denominada CD45RA (para "A restrito") e a maior parte das células T de memória expressa a isoforma de 180 kD de CD45 chamada de CD45RO ([Cap. 2](#)).

***As células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> de memória são heterogêneas e podem ser subdivididas em subconjuntos com base em suas propriedades de endereçamento e em suas funções.*** As células T de memória central expressam o receptor de quimiocina CCR7 e L-selectina e residem principalmente nos gânglios linfáticos. Elas têm uma capacidade limitada para executar as funções efetoras quando encontram um antígeno, mas sofrem respostas proliferativas intensas e geram muitas células efetoras quando são desafiadas pelo antígeno. As **células T efetoras de memória**, por outro lado, não expressam CCR7 ou L-selectina e

residem nos locais periféricos, especialmente tecidos de mucosas. Com a estimulação antigênica, as células T efetoras de memória produzem citocinas efetoras, tais como IFN- $\gamma$ , ou tornam-se citotóxicas rapidamente, mas não proliferam muito. Este subconjunto de efetores está, portanto, pronto para uma resposta rápida a uma exposição repetida a um microrganismo, mas a erradicação completa da infecção também pode exigir um grande número de efetores gerados a partir do conjunto de células T de memória centrais. Não está claro se todas as células T de memória podem ser classificadas como células centrais e efetoras de memória.

Células T de memória também são heterogêneas em termos de perfis de citocina.

Por exemplo, algumas células T CD4<sup>+</sup> de memória podem ser derivadas de precursores antes que haja comprometimento com os fenótipos T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2, ou T<sub>H</sub>17 (descritos no [Cap. 10](#)), e, quando ativadas pela reexposição ao antígeno e citocinas, elas podem se diferenciar em qualquer um desses subconjuntos. Outras células T de memória podem ser derivadas dos efetores T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2, ou T<sub>H</sub>17 totalmente diferenciados e reter seus respectivos perfis de citocinas na reativação. Podem existir células T CD8<sup>+</sup> de memória que têm algumas das características fenotípicas de CTLs diferenciados.

## Declínio das respostas da célula T

***A eliminação do antígeno leva à contração da resposta da célula T, e este declínio é responsável pela manutenção da homeostasia do sistema imune.***

Existem vários motivos para o declínio da resposta. À medida que o antígeno é eliminado e a resposta imune inata associada à exposição a antígenos diminui, os sinais que normalmente mantinham os linfócitos ativados vivos e proliferando não estão mais ativos. Como mencionado anteriormente, a coestimulação e fatores de crescimento como a IL-2 estimulam a expressão das proteínas antiapoptóticas Bcl-2 e Bcl-X<sub>L</sub> em linfócitos ativados e essas proteínas mantêm as células viáveis. Conforme o nível de coestimulação e a quantidade de IL-2 disponível diminuem, os níveis de proteínas antiapoptóticas nas células tendem a cair. Ao mesmo tempo, a privação do fator de crescimento ativa sensores de estresse celular (tais como a proteína Bim do BH3), que desencadeiam a via mitocondrial de apoptose e não são mais opostos às proteínas antiapoptóticas ([Fig. 15-8](#)). O resultado dessas mudanças é que a maioria das células produzidas pela ativação morre e a geração de células recém-ativadas declina, de modo que o conjunto de linfócitos ativados por antígeno se contrai.

Tem havido muito interesse na possibilidade de que vários mecanismos reguladores contribuem para a contração normal das respostas imunes. Tais mecanismos podem incluir os receptores inibitórios CTLA-4 e DP-1, a apoptose induzida pela morte de receptores da superfamília do TNF (como TNFR1 e Fas) e as células T regulatórias.

## Resumo

As respostas das células T são iniciadas por sinais gerados pelo reconhecimento TCR de complexos MHC-peptídeos na superfície de uma APC e através dos sinais fornecidos ao mesmo tempo por coestimuladores expressos nas APCs.

Os coestimuladores mais bem definidos são membros da família B7, que são reconhecidos por receptores da família CD28 expressos nas células T. A expressão dos coestimuladores B7 nas APCs é aumentada pelo encontro com microrganismos, fornecendo um mecanismo para a geração de respostas ideais contra patógenos. Alguns membros da família CD28 inibem as respostas de células T, e o resultado do reconhecimento do antígeno pela célula T é determinado pelo equilíbrio entre o acoplamento de receptores de ativação e de inibição dessa família.

As respostas das células T ao antígeno e coestimuladores incluem alterações na expressão de moléculas de superfície, síntese de citocinas e receptores de citocina, proliferação celular e diferenciação em células efetoras e células de memória.

As moléculas de superfície, cuja expressão é induzida na ativação das células T, incluem proteínas que estão envolvidas na retenção de células T em órgãos linfoides, fatores de crescimento para as citocinas, moléculas efetoras e reguladoras e moléculas que influenciam a migração das células T.

Pouco tempo após a ativação, as células T produzem a citocina IL-2 e expressam altos níveis do receptor da IL-2 funcional. A IL-2 conduz a proliferação das células, o que pode resultar na expansão marcada de clones específicos para determinado antígeno.

Algumas células T ativadas podem se diferenciar em células de memória que sobrevivem por longos períodos e respondem rapidamente ao desafio antigênico. A manutenção das células de memória é dependente de citocinas como a IL-7, que pode promover a expressão de proteínas antiapoptóticas e estimular uma desaceleração no ciclo. As células T de memória são heterogêneas e consistem em populações que diferem nas propriedades de migração e respostas funcionais.

As respostas das células T diminuem após a eliminação do antígeno, retornando, assim, o sistema para o repouso. O declínio acontece em grande parte porque os sinais para a continuação e ativação dos linfócitos também são eliminados.

## Leituras selecionadas

### Ativação da Célula T

Huppa, J. B., Davis, M. M. The interdisciplinary science of T-cell recognition. *Advances in Immunology*. 2013; 119:1–50.

Jenkins, M. K., Moon, J. J. The role of naïve T cell precursor frequency and recruitment



in dictating immune response magnitude. *Journal of Immunology*. 2012; 188:4135–4140.

### **Coestimulação: B7, CD28 e Mais**

Chen, L., Flies, D. B. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:227–242.

Croft, M. The TNF family in T cell differentiation and function—unanswered questions and future directions. *Seminars in Immunology*. 2014, Mar 5. [(epub)].

Greenwald, R. J., Freeman, G. J., Sharpe, A. H. The B7 family revisited. *Annual Review of Immunology*. 2005; 23:515–548.

### **Citocinas da Célula T**

Boyman, O., Sprent, J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:180–190.

Huse, M., Quann, E. J., Davis, M. M. Shouts, whispers and the kiss of death: directional secretion in T cells. *Nature Immunology*. 2008; 9:1105–1111.

Liao, W., Lin, J. X., Leonard, W. J. Interleukin-2 at the crossroads of effector responses, tolerance, and immunotherapy. *Immunity*. 2013; 38:13–25.

Rochman, Y., Spolski, R., Leonard, W. J. New insights into the regulation of T cells by  $\gamma_C$  family cytokines. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:169–173.

### **Células T de Memória**

Mueller, S. N., Gebhardt, T., Carbone, F. R., Heath, W. R. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:137–161.

Pepper, M., Jenkins, M. K. Origin of CD4<sup>+</sup> effector and central memory T cells. *Nature Immunology*. 2011; 12:467–471.

Sallusto, F., Lanzavecchia, A. Heterogeneity of CD4<sup>+</sup> memory T cells: functional modules for tailored immunity. *European Journal of Immunology*. 2009; 39:2076–2082.

Sprent, J., Surh, C. D. Normal T cell homeostasis: the conversion of naive cells into memory-phenotype cells. *Nature Immunology*. 2011; 12:478–484.

## CAPÍTULO 10

# Diferenciação e Funções das Células T CD4<sup>+</sup> Efetoras

VISÃO GERAL DA IMUNIDADE MEDIADA POR CÉLULAS

SUBGRUPOS DE CÉLULAS T CD4<sup>+</sup> EFETORAS

As propriedades dos Subgrupos T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17

Desenvolvimento dos Subgrupos T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17

O SUBGRUPO T<sub>H</sub>1

Desenvolvimento de Células T<sub>H</sub>1

Funções das Células T<sub>H</sub>1

O SUBGRUPO T<sub>H</sub>2

Desenvolvimento das Células T<sub>H</sub>2

Funções das células T<sub>H</sub>2

O SUBGRUPO T<sub>H</sub>17

O Desenvolvimento das Células T<sub>H</sub>17

Funções das Células T<sub>H</sub>17

FUNÇÕES DOS OUTROS SUBTIPOS DE CÉLULAS T

As Células T  $\gamma\delta$

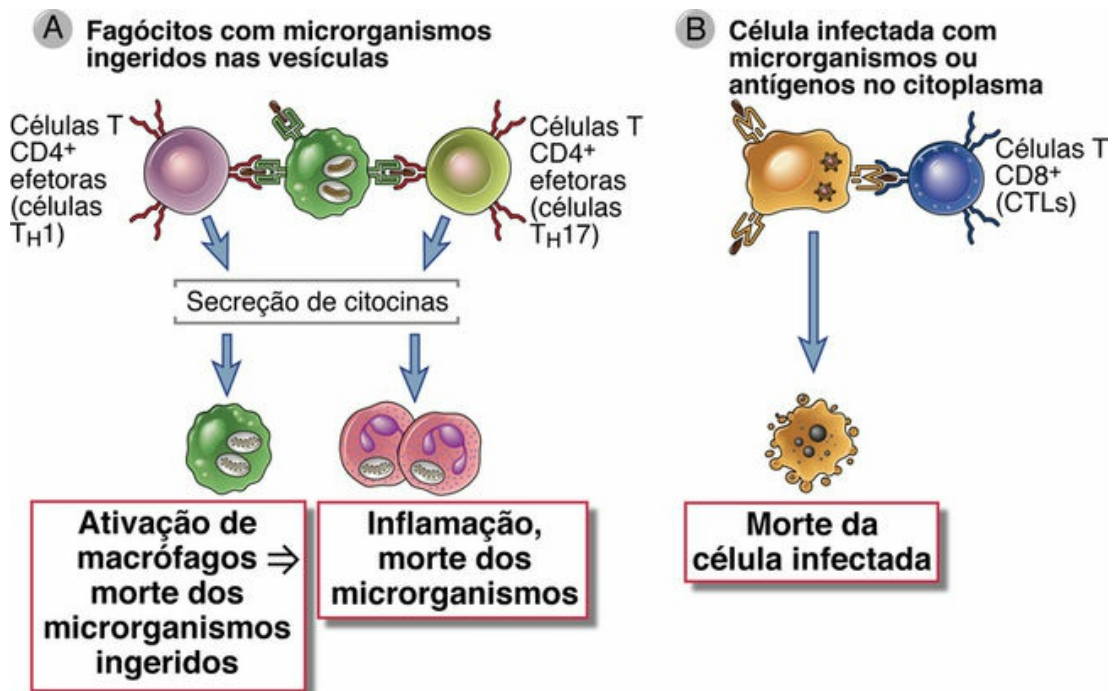
As Células NKT

RESUMO

As funções das células T CD4<sup>+</sup> efetoras são recrutar e ativar os fagócitos (macrófagos e neutrófilos) e outros leucócitos que destroem os microrganismos intracelulares e alguns extracelulares e ajudam os linfócitos B a produzir anticorpos.

Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> são essenciais para a eliminação mediada por fagócitos de microrganismos, enquanto as células efetoras CD8<sup>+</sup> são responsáveis pela erradicação dos microrganismos, normalmente dos vírus, que infectam e se replicam

dentro de todas as células, incluindo as células não fagocíticas ([Fig. 10-1](#)). Por razões históricas, a **imunidade mediada por células** refere-se ao processo da morte dos microrganismos mediada pelas células T CD4<sup>+</sup> estimuladas por fagócitos. Algumas células T CD4<sup>+</sup> ativam outras células além dos fagócitos, tais como eosinófilos, nomeadamente, para destruir tipos particulares de microrganismos. Embora estas reações não estejam incluídas na definição original da imunidade célula mediada, são funções importantes das células T efectoras. Neste capítulo, será descrito o papel das células T CD4<sup>+</sup> na eliminação dos microrganismos. Ao final, discutiremos algumas populações de células T menos numerosas, cujas principais funções são mediadas pelas citocinas secretadas. A diferenciação e função das células T CD8<sup>+</sup> efectoras são discutidas no [Capítulo 11](#), bem como o papel das células T auxiliares nas respostas de anticorpos é abordado no [Capítulo 12](#).



**FIGURA 10-1** Papel das células T em erradicar as infecções.

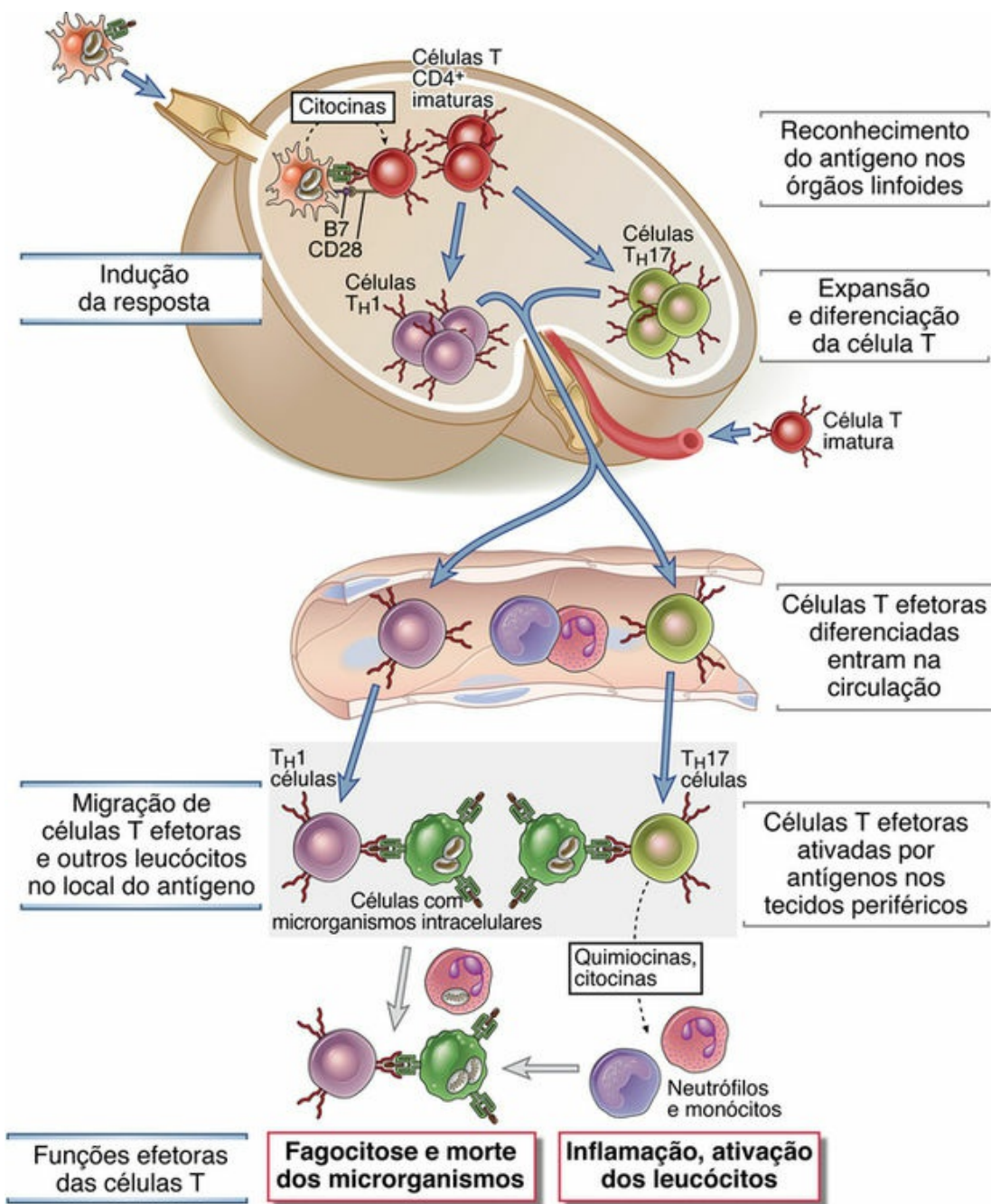
**A**, as células T CD4<sup>+</sup> reconhecem os antígenos de microrganismos fagocitados e extracelulares e produzem citocinas que ativam os fagócitos para matar os microrganismos e estimulam a inflamação. As células T CD8<sup>+</sup> também podem secretar citocinas e participar de reações semelhantes. **B**, linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> (CTL) reconhecem antígenos de microrganismos que residem no citosol das células infectadas e as destroem.

## Visão geral da imunidade mediada por células

**A imunidade celular é o tipo de defesa do hospedeiro que é mediada por linfócitos T e que serve como um mecanismo de defesa contra microrganismos intracelulares e fagocitados.** Historicamente, os imunologistas dividiram a imunidade adaptativa em imunidade humoral, que pode ser adotivamente transferida de um dador imunizado para um hospedeiro imaturo através dos anticorpos na ausência de células, e a imunidade mediada por células, a imunidade celular, que só pode ser transferida adotivamente pelos linfócitos T viáveis. A fase efetora da imunidade humoral é desencadeada pelo reconhecimento do antígeno pelos anticorpos secretados. Por isso, a imunidade humoral neutraliza e elimina microrganismos e toxinas extracelulares que são acessíveis aos anticorpos, mas não é eficaz contra microrganismos no interior das células. Por outro lado, na imunidade

celular, a fase efetora é iniciada pelo reconhecimento de antígenos pelas células T. Os linfócitos T reconhecem os antígenos proteicos de microrganismos que são exibidos sobre as superfícies das células infectadas como peptídeos vinculados às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC). Por isso, a imunidade mediada por células é eficaz contra microrganismos associados às células, incluindo os microrganismos fagocitados e outros intracelulares. Os defeitos na imunidade celular resultam no aumento da susceptibilidade a infecções por vírus e bactérias intracelulares bem como algumas bactérias extracelulares e fungos que são normalmente eliminados pelos fagócitos. As reações mediadas pela célula T também são importantes na rejeição do aloenxerto (Cap. 17), a imunidade antitumoral (Cap. 18) e doenças inflamatórias mediadas pela imunidade (Cap. 19).

A sequência de eventos nas respostas de  $CD4^+$  às células T envolve a ativação inicial destas células nos órgãos linfoides para gerar células efetoras e de memória, a migração de células efetoras para os locais de infecção e a eliminação dos agentes infecciosos nesses locais (Fig. 10-2). Foram descritas as etapas iniciais da ativação das células T no capítulo 9 e descreveremos os passos subsequentes na geração e no funcionamento das células T  $CD4^+$  efetoras neste capítulo.



**FIGURA 10-2** Reações das células T CD4<sup>+</sup> na imunidade mediada por células.

Indução da resposta: as células T CD4<sup>+</sup> reconhecem os peptídeos que são derivados de antígenos proteicos e apresentados por células dendríticas em órgãos linfoides periféricos. Os linfócitos T são estimulados a proliferar e diferenciar-se em células efetoras (e de memória), que entram na circulação. A migração das células T efetoras e de outros leucócitos para o local de antígeno: células T efetoras e outros leucócitos migram através dos vasos sanguíneos nos tecidos



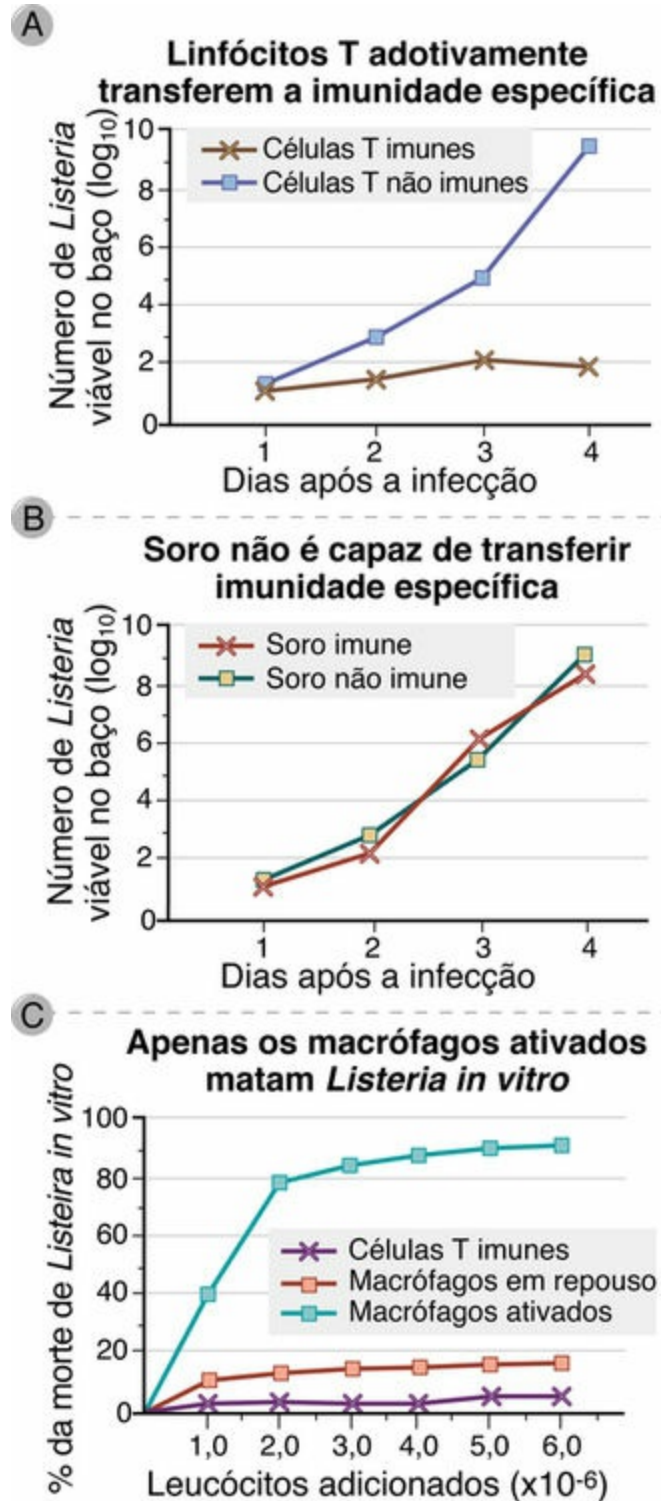
periféricos através da ligação às células endoteliais que foram ativadas por citocinas produzidas em resposta à infecção nestes tecidos. As funções efetoras de células T: as células T reconhecem o efector antígeno nos tecidos e respondem através da secreção de citocinas que recrutam mais leucócitos e ativam os fagócitos para erradicar a infecção.

**As células T CD4<sup>+</sup> efetoras são geradas pelo reconhecimento do antígeno nos órgãos linfoides secundários, mas a maioria deles deixa esses órgãos e migra para os locais periféricos da infecção onde funcionam na eliminação dos microrganismos.** Essa migração de células T efetoras (e de memória) para os locais da infecção é dependente das moléculas de adesão endoteliais e quimiocinas expressas nesses locais (Cap. 3). Embora a migração seja largamente independente do antígeno, as células T que reconhecem o antígeno em tecidos extravasculares podem ser preferencialmente retidas ali. Uma vez nos tecidos, as células T encontram antígenos microbianos apresentados pelos macrófagos e outras células apresentadoras de antígenos (APCs). As células T específicas que reconhecem os antígenos recebem sinais através de seus receptores de antígeno que aumentam a afinidade das integrinas para os seus ligantes. Duas dessas, as integrinas VLA-4 e VLA-5, ligam-se à fibronectina nas matrizes extracelulares e uma terceira molécula de adesão, o CD44, que também é altamente expresso nas células T ativadas, liga-se ao hialuronano. Como resultado, as células efetoras e de memória específicas ao antígeno que se encontram com o antígeno são preferencialmente retidas no local extravascular. As células T não específicas para o antígeno que migram para o local da inflamação pode morrer no tecido ou voltar para a circulação através dos vasos linfáticos.

Algumas células T CD4<sup>+</sup> que são ativadas nos órgãos linfoides secundários não saem dos órgãos, mas migram para os folículos linfoides no interior dos órgãos, onde auxiliam as células B a produzir anticorpos de alta afinidade e de diferentes isotipos. As mais bem definidas dessas células T auxiliares são chamadas de células T auxiliares foliculares; essas células e as suas funções nas respostas imunológicas humorais são descritas no Capítulo 12.

**Nas respostas imunológicas mediadas por células contra microrganismos fagocitados, as células T reconhecem especificamente os antígenos microbianos, mas os fagócitos são as células que de fato destroem os agentes patogênicos.** Assim, as células T CD4<sup>+</sup> efetoras da linhagem de reconhecimento específico de ligação aos microrganismos com o recrutamento e ativação de outros leucócitos que destroem os microrganismos. Este conceito fundamental foi visto pela primeira vez a partir de estudos da imunidade celular à bactéria intracelular *Listeria monocytogenes* (Fig. 10-3). Mostrou-se na década de 1950 que os camundongos previamente infectados com uma dose baixa de *Listeria*

eram protegidos contra o desafio com doses mais elevadas que eram letais em animais não infectados previamente. A proteção podia ser transferida para animais normais com linfócitos (mais tarde demonstrado ser linfócitos T) a partir de camundongos infectados mas não com soro, a fração de fluido de sangue coagulado que contém os anticorpos. Em estudos *in vitro*, as bactérias não foram mortas por células T a partir de animais imunes, mas por macrófagos ativados, enfatizando o **papel central dos macrófagos na execução da função efetora.**



**FIGURA 10-3** Imunidade celular contra *Listeria monocytogenes*.

Imunidade a *L. monocytogenes* é medida através da inibição do crescimento bacteriano nos baços de animais inoculados com uma dose conhecida de bactérias viáveis. Esta imunidade pode ser transferida para os camundongos normais pelos linfócitos T (A), mas não pelo soro (B) a partir

de camundongos singeneicos previamente imunizados com doses mortas ou baixas de *L. monocytogenes*. Em um ensaio *in vitro* da imunidade mediada por células, as bactérias são mortas pelos macrófagos não ativados e pelas células T (C).

***A ingestão e a eliminação de microrganismos pelos fagócitos é também uma importante reação da imunidade inata, mas as células T aumentam consideravelmente essa função dos fagócitos.*** Conforme foi discutido no [Capítulo 4](#), os fagócitos reconhecem os microrganismos e são ativados por ligantes microbianos e eles são potentes na destruição de uma variedade de microrganismos. No entanto, muitos patógenos infecciosos evoluíram para resistir a esse mecanismo da imunidade inata e podem sobreviver e até mesmo replicar-se no interior dos macrófagos. Nestas situações, as células T reconhecem os antígenos de proteína microbiana e recrutam e ativam os fagócitos, o que lhes permite erradicar as infecções que não podem ser combatidas pela imunidade inata sozinha. As células T CD4<sup>+</sup> efetoras ativam os fagócitos através das moléculas de superfície, principalmente do ligante CD40 e de citocinas secretadas. Veremos como esses sinais cooperam quando discutirmos a ativação de macrófagos mais adiante neste capítulo e de células B no [Capítulo 12](#).

A inflamação, que consiste em recrutamento e na ativação de leucócitos, acompanha muitas das reações de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e pode danificar os tecidos normais. Esta reação prejudicial e dependente de células T é chamada **hipersensibilidade do tipo tardia (DTH)**, o termo hipersensibilidade referindo-se aos danos nos tecidos causados por uma resposta imunológica. A DTH ocorre frequentemente em conjunto com a imunidade protetora mediada por células contra os microrganismos e pode ser a causa de grande parte da patologia associada a certos tipos de infecções ([Caps. 16 e 19](#)).

Uma vez que as funções das células T CD4<sup>+</sup> são mediadas em grande parte pelas citocinas, tem havido um grande interesse na definição destas citocinas, que células as produzem e como elas funcionam. Uma das descobertas mais importantes na imunologia tem sido a identificação de populações de células T CD4<sup>+</sup> efetoras que podem ser distinguidas pelas citocinas que produzem e pelos fatores de transcrição que expressam. Vamos começar com uma descrição das principais propriedades destes subgrupos e em seguida, descrever o desenvolvimento e as funções de cada população.

## **Subgrupos de células T CD4<sup>+</sup> efetoras**

***Três grandes subgrupos de células T CD4<sup>+</sup> efetoras, chamadas de TH1, TH2 e***

***T<sub>H</sub>17, funcionam na defesa do hospedeiro contra diferentes tipos de agentes patogênicos infecciosos e estão envolvidas em diferentes tipos de lesões de tecidos em doenças imunológicas (Fig. 10-4).*** Um quarto subgrupo, chamado de células T auxiliares foliculares, é importante para as respostas de anticorpos (Cap. 12). As células T reguladoras são uma outra população distinta de células T CD4<sup>+</sup>. Elas não são células efetoras; em vez disso, a sua função é controlar as reações autoimunes e antígenos estranhos, e elas estão descritas no Capítulo 15, no contexto da tolerância imunológica.

	Principais citocinas	Reações imunológicas	Defesa do hospedeiro	Papel nas doenças
<p><b>Célula T<sub>H</sub>1</b> → IFN<math>\gamma</math></p>		Ativação de macrófagos; produção de IgG	Microrganismos intracelulares	Doenças autoimunes; dano tecidual associado às infecções crônicas
<p><b>Célula T<sub>H</sub>2</b> → IL-4 IL-5 IL-13</p>		Ativação de mastócitos, eosinófilos; produção de IgE; ativação "alternativa" de macrófagos	Parasitas helmintos	Doenças alérgicas
<p><b>Célula T<sub>H</sub>17</b> → IL-17A IL-17F IL-22</p>		Inflamação neutrofílica, monocítica	Bactérias extracelulares, fungos	Doenças inflamatórias autoimunes

**FIGURA 10-4** Propriedades dos subgrupos T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2, T<sub>H</sub>17 e subgrupos de células T CD4<sup>+</sup> T auxiliares.

As células T CD4<sup>+</sup> podem diferenciar-se em subconjuntos distintos de células efetoras em resposta a antígenos, coestimuladores e citocinas. As colunas à direita listam as principais diferenças entre os subgrupos mais bem definidos.

## As propriedades dos Subgrupos T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17

Foi percebido, há muitos anos, que as respostas do hospedeiro às diferentes infecções variavam muito, assim como as reações em diferentes doenças imunológicas. Por exemplo, a reação do sistema imunológico contra bactérias intracelulares, como o *Mycobacterium tuberculosis* é dominado pelos macrófagos ativados, ao passo que a reação contra parasitas helmínticos consiste na produção

de anticorpos IgE e ativação de eosinófilos. Além disso, em muitas doenças autoimunes crônicas, os danos teciduais são causados por uma inflamação com acúmulo de neutrófilos e macrófagos, enquanto nos distúrbios alérgicos, as lesões contêm eosinófilos abundantes juntamente com outros leucócitos. A constatação de que todas essas reações imunológicas fenotipicamente diferentes são dependentes de células T CD4<sup>+</sup> levantou uma pergunta óbvia: como podem as mesmas células CD4<sup>+</sup> obterem respostas diferentes? A resposta, como sabemos agora, é que as células T CD4<sup>+</sup> consistem em subgrupos de células efetoras que produzem conjuntos distintos de citocinas, provocam reações bastante diferentes e estão envolvidas na defesa do hospedeiro contra vários microrganismos, assim como em tipos distintos de doenças imunológicas. Os primeiros subgrupos descobertos foram chamados de linfócitos T auxiliares tipos 1 e 2, ou T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2. O subgrupo T<sub>H</sub>17, assim chamado porque a sua citocina característica é a IL-17, foi descoberto muitos anos após células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2 foram descritos pela primeira vez. As células T<sub>H</sub>17 foram identificadas como as células T responsáveis por alguma resposta mediada por células T CD4<sup>+</sup> a doenças inflamatórias que não pudesse ser atribuída aos subgrupos T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2.

***As características que definem os subgrupos diferenciados das células efetoras são as citocinas que produzem, os fatores de transcrição que elas expressam e as alterações epigenéticas nos loci genéticos específicos das citocinas.*** Essas características de cada subgrupo estão descritas a seguir.

***A assinatura das citocinas produzidas pelos principais subgrupos de células T CD4<sup>+</sup> são IFN- $\gamma$  para as células T<sub>H</sub>1; IL-4, IL-5 e IL-13 para células T<sub>H</sub>2; e IL-17 e IL-22 para as células T<sub>H</sub>17 (Fig. 10-4).*** As citocinas produzidas por esses subgrupos de células T determinam as suas funções efetoras e papéis em doenças. As citocinas também participam do desenvolvimento e expansão dos respectivos subgrupos (descrito mais adiante).

***Cada uma das células T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17 possui padrões distintos de migração, em grande parte, definidos pelos receptores de quimiocinas e moléculas de adesão que elas expressam, que os direcionam a migrar para os diferentes locais de infecções.*** Foi discutido o controle da migração de linfócitos no [Capítulo 3](#). As células T<sub>H</sub>1 e não as T<sub>H</sub>2 expressam níveis elevados de receptores de quimiocinas CXCR3 e CCR5, que se ligam às quimiocinas elaboradas nos tecidos durante as respostas imunológicas inatas. Portanto, as células T<sub>H</sub>1 tendem a ser abundantes em locais de infecção onde os agentes infecciosos desencadeiam fortes reações imunológicas inatas; esses agentes incluem muitas bactérias e vírus. As células T<sub>H</sub>1 também expressam altos níveis de ligantes para a E-selectina e P-selectina, que auxiliam na migração dessas células para os locais de inflamação forte



(onde as selectinas são expressas sobre o endotélio). Em contraste, as células  $T_H2$  expressam os receptores da quimiocina CCR3, CCR4, CCR8 e, que reconhecem as quimiocinas que são altamente expressas nos locais de infecção por helmintos ou por reações alérgicas, particularmente nos tecidos da mucosa, e assim as células  $T_H2$  tendem a migrar para estes tecidos. As células  $T_H17$  expressam o CCR6, que se liga a quimiocina CCL20, que é produzida por várias células de tecidos e macrófagos em algumas infecções bacterianas e fúngicas.

Estas populações diferenciadas de células T são identificáveis nas reações imunológicas e forneceram muitos insights valiosos sobre as respostas dos linfócitos. No entanto, há algumas ressalvas importantes com a ideia de que todas as células T efetoras  $CD4^+$  podem ser classificadas em subgrupos com base nos critérios definidos.

- Muitas células T efetoras  $CD4^+$  produzem várias combinações de citocinas ou apenas algumas das citocinas características de um subgrupo particular e não são prontamente classificáveis em populações separáveis. Por exemplo, em muitas reações inflamatórias, pode haver células T que produzem tanto IFN- $\gamma$  (característica das células  $T_H1$ ) e IL-17 (típica de células  $T_H17$ ). Por outro lado, algumas células podem produzir citocinas que não possuem característica de nenhum dos três subgrupos (tais como IL-9) ou são apenas algumas das citocinas produzidas por um subgrupo particular. Esse perfil restrito das citocinas levou a uma nomenclatura em expansão descrevendo essas populações (tais como  $T_H9$ ,  $T_H22$  e assim por diante). Não se sabe se com populações com padrões de citocinas mistos ou limitados são intermediários no desenvolvimento das células polarizadas efetoras clássicas ou são elas próprias as populações fixas.
- É também claro que algumas dessas células T efetoras diferenciadas podem converter de um perfil de citocinas para outro por mudanças nas condições de ativação. A extensão e o significado de tal plasticidade são temas de pesquisa ativa.
- Embora as células T  $CD4^+$  diferenciadas efetoras sejam consideradas a fonte de muitas citocinas na proteção e em respostas imunológicas adaptativas patológicas, as mesmas citocinas podem ser produzidas por outros tipos de células, tais como as células T  $\gamma\delta$  e células linfóides inatas. Por exemplo, em algumas reações inflamatórias dominadas pela IL-17, as células  $CD4^+ T_H17$  representam apenas de 30% a 35% das células produtoras de citocinas, sendo o restante outras populações de células.

## Desenvolvimento dos Subgrupos $T_H1$ , $T_H2$ e $T_H17$

***Todas as células  $T_H1$ ,  $T_H2$  e  $T_H17$  diferenciadas desenvolvem-se a partir dos***

***linfócitos T CD4<sup>+</sup> imaturos, principalmente em resposta às citocinas apresentadas na fase inicial das respostas imunológicas e a diferenciação envolve a ativação transcricional e a modificação epigenética de genes de citocinas.*** O processo de diferenciação, que é por vezes referido como polarização das células T, pode ser dividido em indução, comprometimento e amplificação.

- ***Indução.*** As citocinas atuam sobre as células T estimuladas por antígenos e coestimuladores para induzir a transcrição dos genes de citocinas que são característicos de cada subgrupo.
- ***Comprometimento.*** Com a ativação contínua, as modificações epigenéticas resultam em genes das citocinas do subgrupo colocados em um estado transcricionalmente ativo. Por outro lado, os genes que codificam as citocinas não produzidas por este subgrupo permanecem inativos. Devido a essas alterações, a diferenciação das células T torna-se progressivamente comprometida a uma via específica.
- ***Amplificação.*** As citocinas produzidas por qualquer subgrupo promovem o desenvolvimento desse subgrupo e inibem a diferenciação em relação a outras subpopulações CD4<sup>+</sup>. O resultado líquido é o acúmulo das células de um subgrupo.

Existem várias características gerais importantes da diferenciação dos subgrupos de células T.

- ***As citocinas que direcionam o desenvolvimento das subpopulações de células T CD4<sup>+</sup> são produzidas pelas APCs (principalmente as células dendríticas e os macrófagos) e outras células do sistema imunológico (tais como as células NK ou basófilos e mastócitos) presentes no órgão linfóide onde a resposta imune foi iniciada.*** As células dendríticas que encontram com os microrganismos e exibem os antígenos microbianos são ativadas para produzir citocinas (bem como coestimuladores) como parte das respostas imunes inatas aos microrganismos ([Cap. 4](#)). Diferentes microrganismos podem estimular as células dendríticas a produzir conjuntos distintos de citocinas, talvez porque os microrganismos sejam reconhecidos por diferentes sensores microbianos nas células. Outras células de imunidade inata, tais como as células NK e os mastócitos, também produzem citocinas que influenciam no padrão de desenvolvimento dos subgrupos de células T.
- ***Estímulos além de citocinas também podem influenciar o padrão de diferenciação da célula T auxiliares.*** Alguns estudos indicam que os diferentes subgrupos de células dendríticas seletivamente promovem tanto a diferenciação em T<sub>H</sub>1 quanto T<sub>H</sub>2; o mesmo princípio pode ser verdade para as células T<sub>H</sub>17. Além disso, a composição genética do hospedeiro é um importante determinante do padrão de diferenciação de células T. Algumas linhagens puras de camundongos desenvolvem respostas T<sub>H</sub>2 para os mesmos microrganismos que

estimulam a diferenciação em T<sub>H</sub>1 na maioria das outras cepas. As linhagens de camundongos que desenvolvem respostas predominantemente T<sub>H</sub>2 são suscetíveis a infecções por microrganismos intracelulares (Cap.16).

- **Os distintos perfis das citocinas de populações de células diferenciadas são controlados por determinados fatores de transcrição que ativam a expressão de genes de citocinas e por modificações da cromatina que afetam a acessibilidade aos promotores e elementos reguladores de genes de citocinas aos quais os fatores de transcrição se ligam.** Os fatores de transcrição são eles próprios ativados ou induzidos por sinais de receptores de antígenos, receptores imunes inatos, coestimuladores e outros receptores de citocinas. Cada subgrupo manifesta o seu próprio conjunto característico de fatores de transcrição. À medida que os subgrupos se tornam cada vez mais polarizados, os loci de genes que codificam a assinatura das citocinas do subgrupo sofrem modificações de histonas (tal como alterações na acetilação e na metilação) e outros eventos de remodelamento da cromatina, de modo que esses loci permanecem acessíveis à polimerase do RNA e aos fatores de transcrição, enquanto os loci de outras citocinas (aqueles que não são produzidos por esse subgrupo) estão em um estado de cromatina inacessível. Estas alterações epigenéticas asseguram que cada subgrupo possa produzir apenas sua coleção característica de citocinas. É provável que as alterações epigenéticas no loci de genes de citocinas estejam correlacionadas a fenótipos estáveis e antes que essas mudanças sejam estabelecidas, os subgrupos podem ser de plásticos e conversíveis.
- **Cada subgrupo de células efectoras diferenciadas produz citocinas que promovem o seu próprio desenvolvimento e podem suprimir o desenvolvimento de outros subgrupos.** Esta característica do desenvolvimento dos subgrupos de células T fornece um poderoso mecanismo de amplificação. Por exemplo, o IFN- $\gamma$  secretado por células T<sub>H</sub>1 promove ainda mais a diferenciação de células T<sub>H</sub>1 e inibe a geração de T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17. Do mesmo modo, a IL-4 produzida por células T<sub>H</sub>2 promove a diferenciação em T<sub>H</sub>2 e a IL-21 produzida por células T<sub>H</sub>17 melhora a diferenciação de T<sub>H</sub>17. Assim, cada subgrupo amplifica a si mesmo e pode inibir outros subgrupos. Por esta razão, uma vez que uma resposta imunológica se desenvolve ao longo de uma via efectora, ela torna-se cada vez mais polarizada nessa direção, e a polarização mais extrema é vista nas infecções crônicas ou em exposições crônicas a antígenos ambientais, quando a estimulação imunológica é prolongada.
- **Diferenciação de cada subgrupo é induzida pelos tipos de microrganismos que o subgrupo é mais capaz de combater.** Por exemplo, o desenvolvimento das células T<sub>H</sub>1 é acionado por microrganismos intracelulares, contra o qual a principal defesa é mediada por T<sub>H</sub>1. Por outro lado, o sistema imunológico

responde a parasitas helmintos através do desenvolvimento das células  $T_H2$ , e as citocinas produzidas por estas células são fundamentais para o combate dos helmintos. Da mesma forma, as respostas  $T_H17$  são induzidas por algumas bactérias e fungos e são mais eficazes na defesa contra esses microrganismos. As funções de geração e efectoras dessas células T diferenciadas são uma excelente ilustração do conceito de especialização da imunidade adaptativa, que refere-se à capacidade do sistema imunitário para responder a diferentes microrganismos de maneira que são as melhores para o combate a esses microrganismos.

Com este cenário, vamos proceder a uma descrição do desenvolvimento e das funções de cada subgrupo.

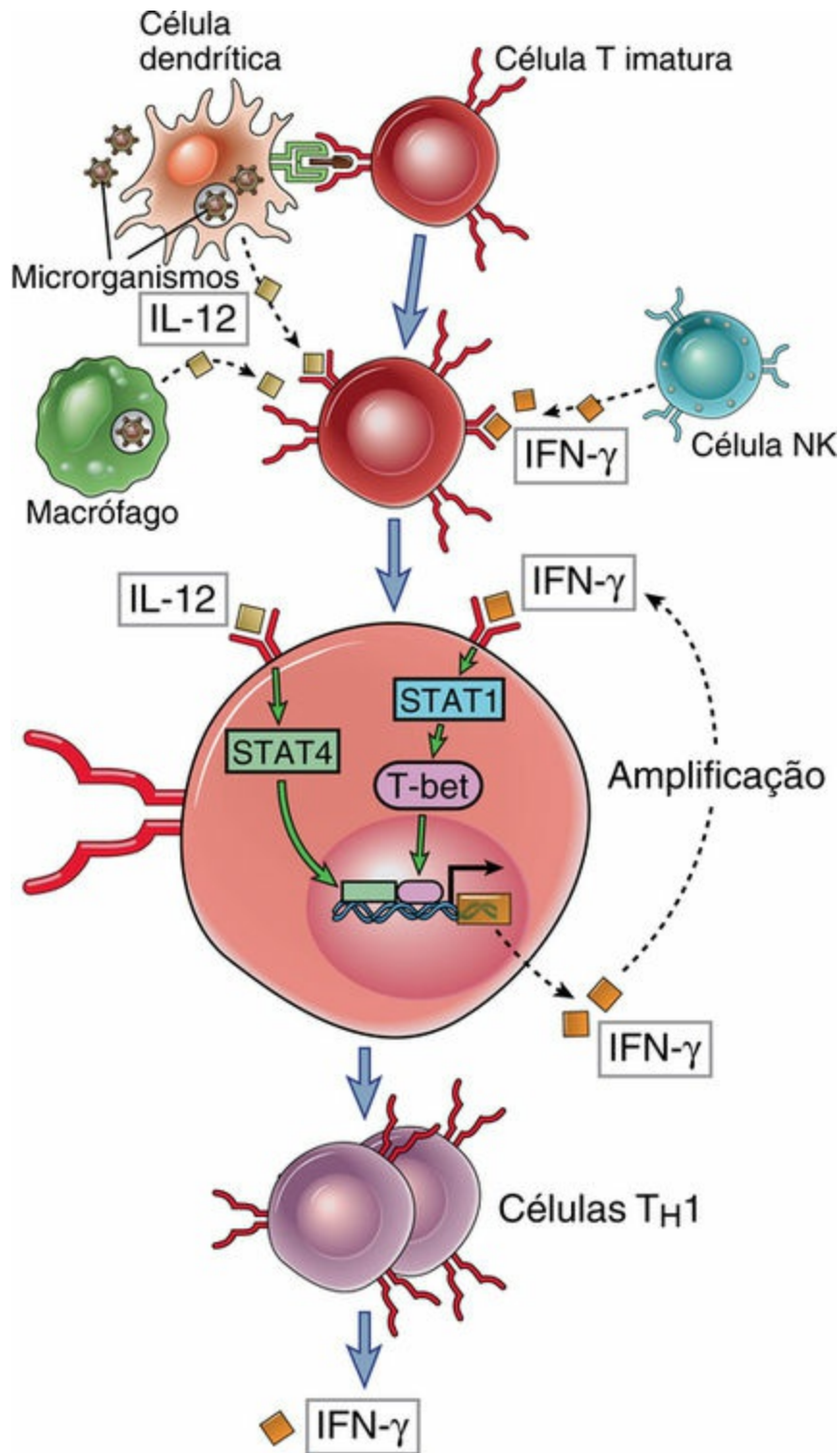
## O subgrupo $T_H1$

***O subgrupo  $T_H1$  é induzido por microrganismos que são ingeridos por fagócitos e os ativam, e é a principal população de células T efectoras na defesa do hospedeiro mediada por fagócitos, a reação central da imunidade mediada por células.*** As células  $T_H1$  têm sido consideradas mediadores-chave na imunidade celular, embora agora seja conhecido que as outras células T efectoras também contribuam para essa forma de defesa do hospedeiro.

## Desenvolvimento de Células $T_H1$

***A diferenciação em  $T_H1$  é impulsionada principalmente pelas citocinas IL-12 e IFN- $\gamma$  e ocorre em resposta a microrganismos que ativam as células dendríticas, macrófagos, e células NK (Fig. 10-5).*** A diferenciação das células T  $CD4^+$  ativadas por antígeno para efectores  $T_H1$  é estimulada por muitas bactérias intracelulares, tais como *Listeria* e micobactérias e por alguns parasitas, tais como *Leishmania*, todos os quais infectam as células dendríticas e macrófagos. A diferenciação em  $T_H1$  também é estimulada pelos vírus e por antígenos proteicos administrados com adjuvantes fortes. Uma característica comum dessas infecções e condições de imunização é que elas provocam reações imunológicas inatas que estão associadas à produção de certas citocinas, incluindo a IL-12, a IL-18, e os interferons de tipo I. Todas essas citocinas promovem o desenvolvimento de  $T_H1$ ; dessas, a IL-12 é provavelmente a mais potente. Os camundongos *knockouts* para a IL-12 são extremamente suscetíveis a infecções com microrganismos intracelulares. A IL-18 possui sinergismo com IL-12, e os interferons do tipo I podem ser importantes para a diferenciação de  $T_H1$  em resposta a infecções virais, especialmente em seres humanos. Outros microrganismos estimulam as células NK para produzir IFN- $\gamma$ , que é em si um forte indutor de citocinas  $T_H1$  e também atua sobre as células dendríticas e

os macrófagos para induzir uma maior secreção de IL-12. Uma vez que as células  $T_H1$  desenvolvem, elas secretam IFN- $\gamma$ , que promove mais diferenciação de  $T_H1$  e assim, amplifica a reação. Além disso, o IFN- $\gamma$  inibe a diferenciação de células T  $CD4^+$  imaturas para os subgrupos  $T_H2$  e  $T_H17$ , promovendo, assim, a polarização da resposta imunológica em um sentido. As células T podem aumentar ainda mais a produção de citocinas pelas células dendríticas e macrófagos, em virtude do ligante de CD40 (CD40L) sobre as células T ativadas ligadas ao CD40 nas APCs e estimulam a secreção de IL-12.



**FIGURA 10-5** Desenvolvimento de células TH1. A IL-12 produzida pelas células dendríticas e macrófagos em resposta aos microrganismos, incluindo os microrganismos intracelulares e IFN- $\gamma$  produzidos por células NK (todos são parte da resposta imune inata inicial para os microrganismos) ativam os fatores de transcrição T-bet, STAT1 e STAT4, que estimulam a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> T imaturas para

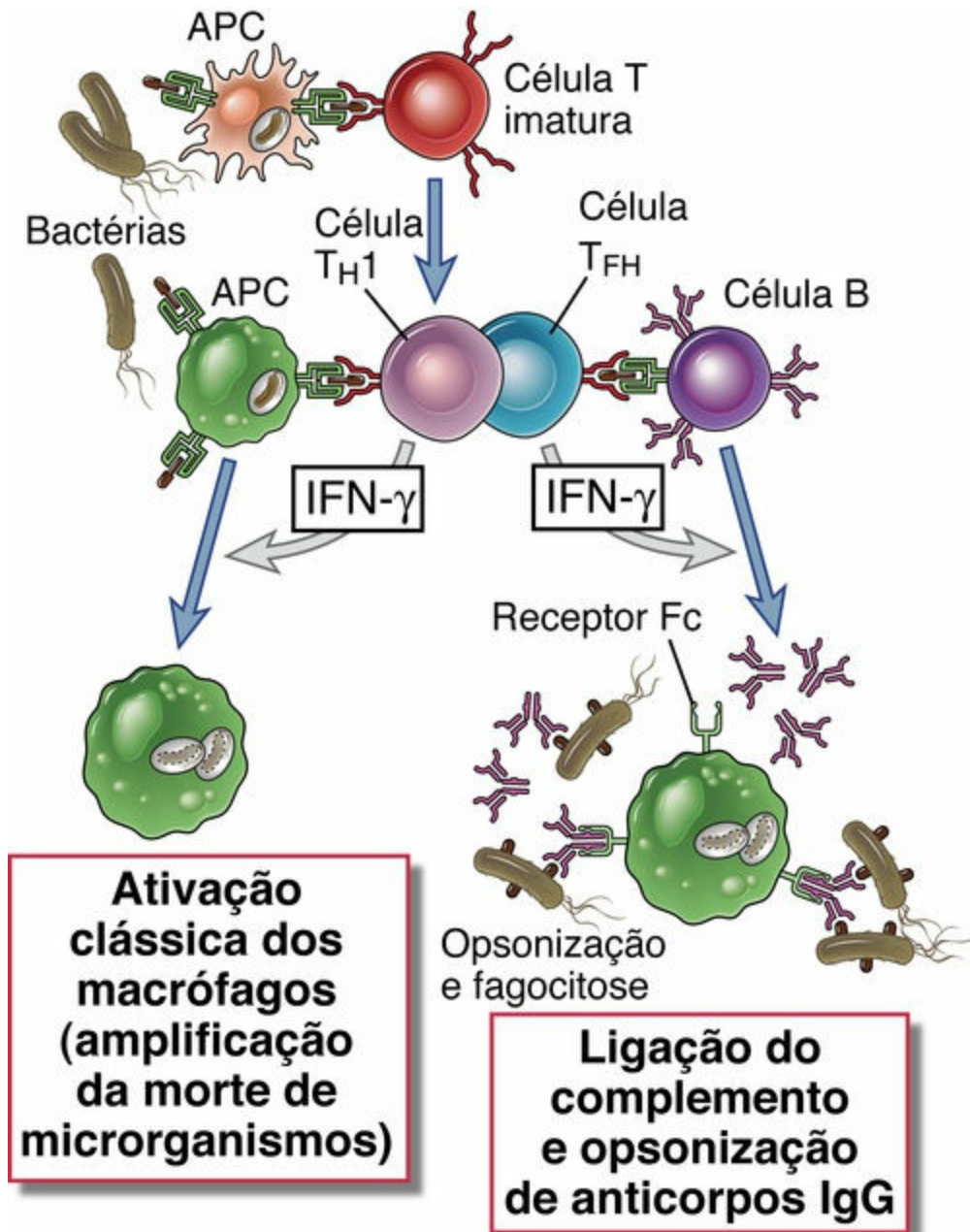


o subconjunto  $T_H1$ . O IFN- $\gamma$  produzido pelas células  $T_H1$  amplifica esta resposta e inibe o desenvolvimento das células  $T_H2$  e  $T_H17$ .

***O IFN- $\gamma$  e a IL-12 estimulam a diferenciação de  $T_H1$ , ativando os fatores de transcrição de T-bet, STAT1 e STAT4 (Fig. 10-5).*** O T-bet, um membro da família T-box de fatores de transcrição, é induzido em células T  $CD4^+$  imaturas em resposta ao antígeno e IFN- $\gamma$ . O IFN- $\gamma$  também ativa o fator de transcrição STAT1, que por sua vez estimula a expressão de T-bet. O T-bet, em seguida, promove a produção de IFN- $\gamma$  através de uma combinação da ativação da transcrição direta do gene de IFN- $\gamma$  e induzindo a remodelação da cromatina da região promotora do IFN- $\gamma$ . A capacidade de IFN- $\gamma$  para estimular a expressão de T-bet e a capacidade de T-bet para amplificar a transcrição do IFN- $\gamma$  configura uma amplificação positiva que conduz a diferenciação de células T em direção ao fenótipo  $T_H1$ . A IL-12 contribui para o compromisso  $T_H1$  através da ligação a receptores em células T  $CD4^+$  estimuladas com antígeno e da ativação do fator de transcrição STAT4, o que aumenta ainda mais a produção de IFN- $\gamma$ .

## Funções das Células $T_H1$

***A principal função das células  $T_H1$  é ativar os macrófagos para ingerir e destruir os microrganismos (Fig. 10-6).*** A mesma reação de ativação dos macrófagos mediada por  $T_H1$  está envolvida na reação prejudicial de hipersensibilidade do tipo tardia, que é um componente de muitas doenças inflamatórias e na inflamação granulomatosa, típica da tuberculose e também vista em algumas outras e desordens infecciosas e inflamatórias. Estas reações patológicas estão descritas no [Capítulo 19](#). As células  $T_H1$ , ou células T auxiliares foliculares que produzem a citocina  $T_H1$  IFN- $\gamma$ , também estimulam a produção de alguns anticorpos IgG, especialmente nos roedores.



**FIGURA 10-6** Funções de células  $T_H1$ .

As células  $T_H1$  secretam IFN- $\gamma$ , que atua sobre os macrófagos para aumentar a fagocitose e morte de microrganismos nos fagolisossomos e em linfócitos B para estimular a produção de anticorpos IgG que opsonizam os microrganismos para a fagocitose. A ajuda para a produção de anticorpos pode ser fornecida não pelas células  $T_H1$  clássicas, a maioria das quais migram dos órgãos linfoides para os locais de infecção e inflamação, mas pelas células T auxiliares foliculares (ESF) de que permanecem nos órgãos linfoides e produzem o IFN- $\gamma$ . O papel do IFN- $\gamma$  na produção

de anticorpos está estabelecido em camundongos, mas não em seres humanos. As células T<sub>H</sub>1 produzem também o TNF, o qual ativa neutrófilos e promove a inflamação (não mostrado).

Antes de discutir a ativação dos macrófagos e como eles destroem os microrganismos, vamos descrever as propriedades do interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), a citocina responsável pela maior parte das funções especializadas de células T<sub>H</sub>1.

## O interferon- $\gamma$

**O IFN- $\gamma$  é a principal citocina de ativação de macrófagos e possui funções críticas na imunidade contra microrganismos intracelulares. O IFN- $\gamma$  é também chamado de tipo II ou interferon imune.** Embora seu nome interferon implique atividade antiviral, ele não é uma citocina antiviral potente e funciona principalmente como um ativador de células efetoras do sistema imunológico.

O IFN- $\gamma$  é uma proteína homodimérica pertencente à família de citocinas do tipo II (Cap. 7). Além das células T<sub>H</sub>1 CD4<sup>+</sup>, as células NK e células T CD8<sup>+</sup> também produzem IFN $\gamma$ . As células NK secretam IFN- $\gamma$  em resposta à ativação de ligantes na superfície das células hospedeiras infectadas ou estressadas (Cap. 4) ou em resposta a IL-12; neste cenário, o IFN- $\gamma$  funciona como um mediador da imunidade inata. Na imunidade adaptativa, as células T produzem IFN- $\gamma$  em resposta ao reconhecimento do antígeno e a produção é aumentada pela IL-12 e IL-18.

O receptor para o IFN- $\gamma$  é composto por dois polipeptídeos estruturalmente homólogos pertencentes à família de receptores de citocina do tipo II, chamada IFN $\gamma$ R1 e IFN $\gamma$ R2. O IFN- $\gamma$  se liga e induz a dimerização das duas cadeias do receptor. Isso conduz à ativação de JAK1 e JAK2 quinase associadas e finalmente, à fosforilação e dimerização de STAT1, que estimula a transcrição de vários genes (Cap. 7). Os genes induzidos por IFN- $\gamma$  codificam muitas moléculas diferentes que medeiam as atividades biológicas dessa citocina, conforme descrito a seguir.

As funções de IFN- $\gamma$  são importantes na imunidade mediada por células contra os microrganismos intracelulares (Fig. 10-6).

- *IFN- $\gamma$  I ativa os macrófagos para destruir os microrganismos fagocitados.* A ativação de macrófagos resultando em um aumento da atividade microbicida é chamada de ativação clássica dos macrófagos, para contrastar com uma via alternativa de ativação que é induzida pelas citocinas T<sub>H</sub>2; estes tipos de ativação dos macrófagos são descritos com mais detalhes mais tarde. Nas reações imunológicas inatas, o IFN- $\gamma$  é produzido pelas células NK e atua sobre os macrófagos, juntamente com receptor do tipo toll (TLR) sinais entregues por microrganismos (Cap. 4) para disparar a ativação de macrófagos. Na imunidade celular adaptativa mediada por célula, o IFN- $\gamma$  produzido pelas células T<sub>H</sub>1

trabalha em conjunto com o ligante de CD40, também expresso pelas células T, para ativar os macrófagos.

- **O IFN- $\gamma$  atua sobre as células B para promover a mudança para certas subclasses de IgG, notavelmente IgG2a ou IgG2c (em camundongos) e para inibir a mudança para os isotipos dependentes de IL-4, como a IgE.** As subclasses de IgG induzidos por IFN- $\gamma$  se ligam aos receptores Fc $\gamma$  em fagócitos e ativam o complemento e ambos os mecanismos promovem a fagocitose de microrganismos opsonizados (Cap. 12). Assim, o IFN- $\gamma$  induz as respostas de anticorpos que também participam da eliminação de microrganismos mediada pelos fagócitos, em conjunto com os efeitos diretos da ativação dos macrófagos dessa citocina. O mecanismo de mudança de isotipo e o papel das citocinas neste processo são descritos no Capítulo 12. A principal fonte de IFN- $\gamma$  em respostas aos anticorpos pode ser células T auxiliares foliculares que produzem essa citocina e não células T<sub>H</sub>1 clássicas (Cap. 12). Esta ação do IFN- $\gamma$  nas células B está melhor estabelecida em camundongos do que nos seres humanos.
- **O IFN- $\gamma$  promove a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> para o subgrupo T<sub>H</sub>1 e inibe o desenvolvimento das células T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17.** Estas ações de IFN- $\gamma$  servem para amplificar a resposta de T<sub>H</sub>1 e foram descritas anteriormente.
- **O IFN- $\gamma$  estimula a expressão de várias proteínas diferentes que contribuem para a amplificação antígeno associado a apresentação do MHC associado ao antígeno e à iniciação e amplificação das respostas imunológicas dependentes das células T (Fig. 6-9).** Essas proteínas incluem as moléculas do MHC; muitas proteínas envolvidas no processamento do antígeno, incluindo o transportador associado ao processamento do antígeno (TAP) e os componentes do proteossoma; HLA-DM; e coestimuladores B7 em APC.

As ações dos IFN- $\gamma$  juntos resultam no aumento da ingestão de microrganismos e a destruição dos patógenos ingeridos. Os indivíduos com raras mutações herdadas de inativação do receptor de IFN- $\gamma$  e camundongos nocaute sem o IFN- $\gamma$  ou o receptor de IFN- $\gamma$  ou as moléculas necessárias para a diferenciação de T<sub>H</sub>1 ou para a sinalização de IFN- $\gamma$  (IL-12 ou o receptor de IL-12, T-bet, STAT1) são susceptíveis a infecções com microrganismos intracelulares, como as micobactérias, por causa de defeitos na morte dos microrganismos mediada por macrófagos.

## Outras Citocinas T<sub>H</sub>1

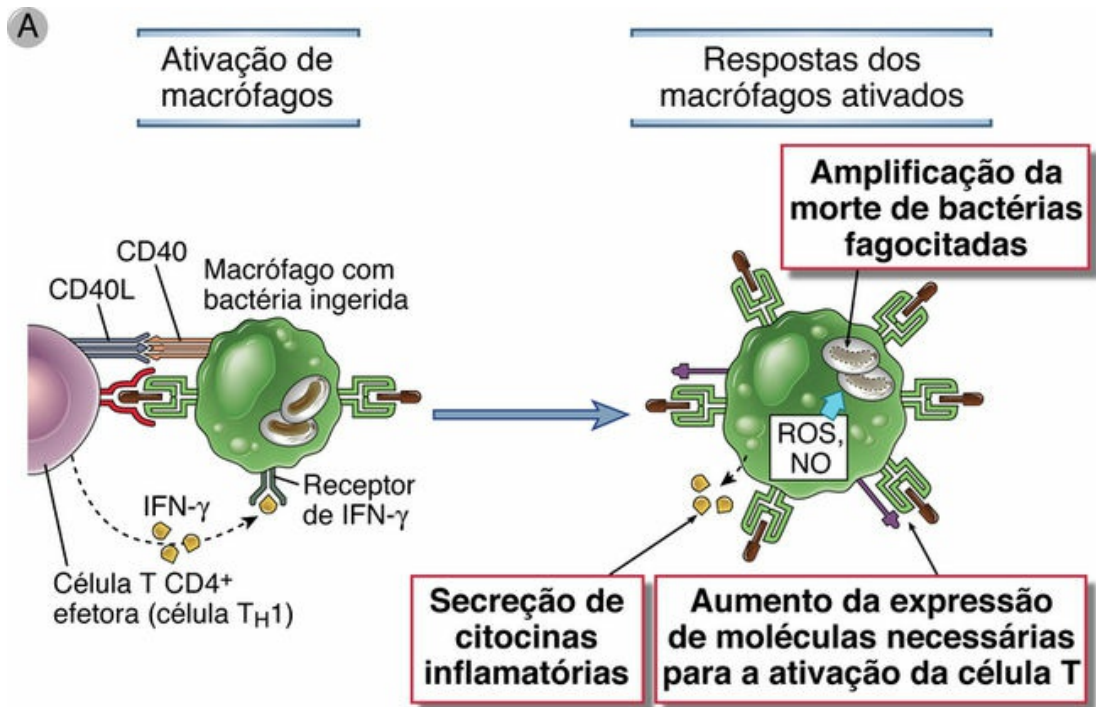
Em adição ao IFN- $\gamma$ , as células T<sub>H</sub>1 produzem TNF e várias quimiocinas, que contribuem para o recrutamento dos leucócitos e inflamação aumentada. De maneira surpreendente, as células T<sub>H</sub>1 são também importantes fontes de IL-10, que funciona, principalmente, para inibir células dendríticas e os macrófagos e, assim, para suprimir a ativação de T<sub>H</sub>1. Este é um exemplo de um circuito de

retroalimentação negativa nas respostas das células T.

## **Ativação Clássica dos Macrófagos e a Morte de Microrganismos Fagocitados Mediada por $T_H1$**

***As células  $T_H1$  ativam macrófagos por sinais mediados por contato entregues por interações do CD40L-CD40 e pelo IFN- $\gamma$  (Fig. 10-7).*** Quando as células  $T_H1$  são estimuladas por antígeno, as células expressam o CD40L na sua superfície e secretam IFN- $\gamma$ . As ações de IFN- $\gamma$  em macrófagos, descritas anteriormente, atuam em sinergia com as ações de CD40 e, juntos, são potentes estímulos para a ativação dos macrófagos. Os sinais de CD40 ativam o fator de transcrição fator nuclear kB (NF-kB) e a ativam a proteína de ativação 1 (AP-1) e, como discutido anteriormente, o IFN- $\gamma$  ativa o fator de transcrição STAT1. Esses fatores de transcrição em conjunto estimulam a expressão de várias enzimas nos fagolisossomos de macrófagos, incluindo a oxidase dos fagócitos, que induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS); da enzima óxido nítrico induzível sintase (iNOS), que estimula a produção de óxido nítrico (NO); e enzimas lisossomais. A exigência das interações entre a superfície moléculas de CD40 nos macrófagos e do CD40L nas células T assegura que os macrófagos que estão apresentando antígenos para as células T (ou seja, os macrófagos que são portadores de microrganismos intracelulares) também são os macrófagos que estarão em contato com as células T e, assim, ativados mais eficientemente pelas células T.





**B**

Resposta dos macrófagos	Papel na imunidade celular
Produção de espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico, enzimas lisossomais aumentadas	Morte de microrganismos nos fagolisossomos (função efetora dos macrófagos)
Secreção de citocinas (TNF, IL-1, IL-12) e quimiocinas	TNF, IL-1, quimiocinas: recrutamento de leucócitos (inflamação) IL-12: diferenciação de $T_H1$ , produção de IFN- $\gamma$
Expressão aumentada dos coestimuladores, moléculas do MHC	Ativação da célula T aumentada (amplificação da resposta de células T)

**FIGURA 10-7** Ativação de macrófagos pelas células  $T_H1$ .

**A**, Macrófagos são ativados pelas interações CD40L-CD40 e IFN- $\gamma$  expressos por células  $T_H1$  e executam várias funções que matam microrganismos, estimulam a inflamação e aumentam a capacidade de apresentação de antígenos das células. **B**, As principais respostas dos macrófagos ativados pela via clássica de ativação, e seus papéis na defesa do hospedeiro mediada por células T, são listados. Os macrófagos também são ativados durante as reações imunes inatas e desempenham funções semelhantes (Cap. 4).

**Os macrófagos ativados destroem os microrganismos fagocitados principalmente pelas ações de espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e enzimas lisossomais.** Todos estes potentes agentes microbicidas são produzidos



dentro dos lisossomos dos macrófagos e matam os microrganismos ingeridos após a fusão dos fagossomos com os lisossomos (Fig. 4-12). Essas substâncias tóxicas também podem ser liberadas para os tecidos adjacentes, onde elas destroem os microrganismos extracelulares e podem causar danos aos tecidos normais.

As imunodeficiências herdadas, bem como o *knockout* do gene em camundongos, estabeleceram a importância crítica de interações de CD40-CD40L, em adição ao IFN- $\gamma$ , na imunidade mediada por células contra patógenos intracelulares. Os seres humanos com mutações hereditárias no CD40L (**síndrome de hiper-IgM ligada ao cromossomo X**) e os camundongos nos quais o gene para CD40 ou CD40L é nocauteado são altamente susceptíveis a infecções com microrganismos intracelulares inofensivos, incluindo o fungo intracelular *Pneumocystis jiroveci* (Cap. 21), que exigem a ativação da célula T dependente dos macrófagos, a fim de ser erradicada. Como esperado, esses pacientes e os camundongos *knockouts* também têm defeitos na produção de anticorpos dependente de células T auxiliares.

Os macrófagos ativados estão envolvidos em várias outras reações de defesa do hospedeiro (Fig. 10-7). Eles estimulam a inflamação através da secreção de citocinas, principalmente o TNF, IL-1, e quimiocinas, e dos mediadores lipídicos de curta duração, tais como as prostaglandinas, os leucotrienos e o fator de ativação de plaquetas. A ação coletiva desses mediadores derivados de macrófagos da inflamação é o recrutamento de mais leucócitos, o que melhora a capacidade de acolhimento para destruir os organismos infecciosos. Os macrófagos ativados amplificam as respostas imunológicas mediadas por células tornando-se APCs mais eficientes devido ao aumento dos níveis de moléculas envolvidas no processamento de antígenos e no aumento da expressão de moléculas do MHC classe II e coestimuladores, e através da produção de citocinas (tais como IL-12) que estimulam a diferenciação do linfócito T nas células efetoras.

Algumas lesões teciduais podem normalmente acompanhar as reações  $T_H1$  mediadas por células imunológicas contra microrganismos porque os produtos microbicidas liberados por macrófagos ativados e neutrófilos são capazes de ferir o tecido normal e não fazem discriminação entre os microrganismos e os tecidos do hospedeiro. No entanto, essa lesão tecidual é geralmente limitada em extensão e duração, e ela se resolve conforme a infecção é neutralizada. Conforme mencionado anteriormente, a hipersensibilidade retardada é um exemplo de uma reação mediada por  $T_H1$  que pode causar significativa lesão ao tecido (Cap. 19).

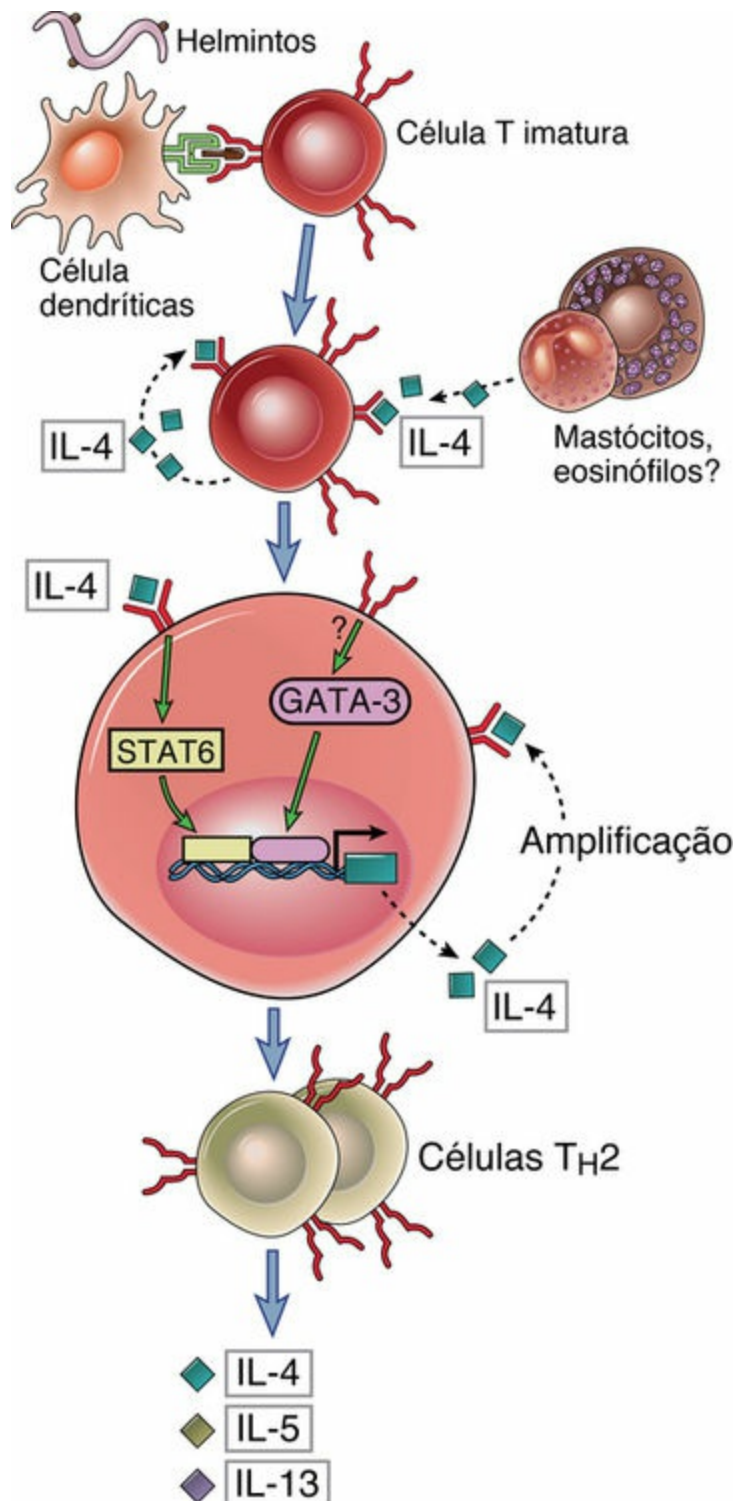
## O subgrupo $T_H2$

**O subgrupo  $T_H2$  é um mediador da defesa independente de fagócitos, em que os eosinófilos e mastócitos possuem papéis centrais.** Estas reações são importantes para a erradicação da infecção por helmintos e talvez também para a

eliminação de outros microrganismos em tecidos da mucosa. Eles são também essenciais para o desenvolvimento de doenças alérgicas (Cap. 20).

## Desenvolvimento das Células T<sub>H</sub>2

**A diferenciação em T<sub>H</sub>2 é estimulada pela citocina IL-4 e ocorre em resposta a helmintos e alérgenos (Fig. 10-8).** Os helmintos e alérgenos causam a estimulação crônica das células T, muitas vezes sem as fortes respostas imunológicas inatas que são necessárias para a diferenciação de T<sub>H</sub>1. Assim, as células T<sub>H</sub>2 podem se desenvolver em resposta a microrganismos e antígenos que causam estimulação persistente ou repetida das células T sem muita inflamação ou a produção de citocinas pró-inflamatórias que direcionam as respostas T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17. A dependência da diferenciação de T<sub>H</sub>2 em IL-4 levanta uma interessante pergunta: Uma vez que as células T<sub>H</sub>2 diferenciadas são a principal fonte de IL-4 durante as respostas imunológicas aos antígenos proteicos, de onde vem a IL-4 antes do desenvolvimento das células T<sub>H</sub>2? Em algumas situações, como infecções por helmintos, a IL-4 produzida por mastócitos e, possivelmente, outras populações de células, tais como células linfoides inatas, podem contribuir para o desenvolvimento de T<sub>H</sub>2. Outra possibilidade é que as células T CD4<sup>+</sup> estimuladas pelo antígeno secretam pequenas quantidades de IL-4 a partir de sua ativação inicial. Se o antígeno é persistente e está presente em altas concentrações, a concentração local de IL-4 aumenta gradualmente. Se o antígeno também não provocar inflamação com a produção atendente de IL-12, o resultado é o aumento da diferenciação de células T para o subgrupo T<sub>H</sub>2. Uma vez que as células T<sub>H</sub>2 têm se desenvolvido, a IL-4 que produzem serve para amplificar a reação e inibe o desenvolvimento de células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17.



**FIGURA 10-8** Desenvolvimento de células TH2.

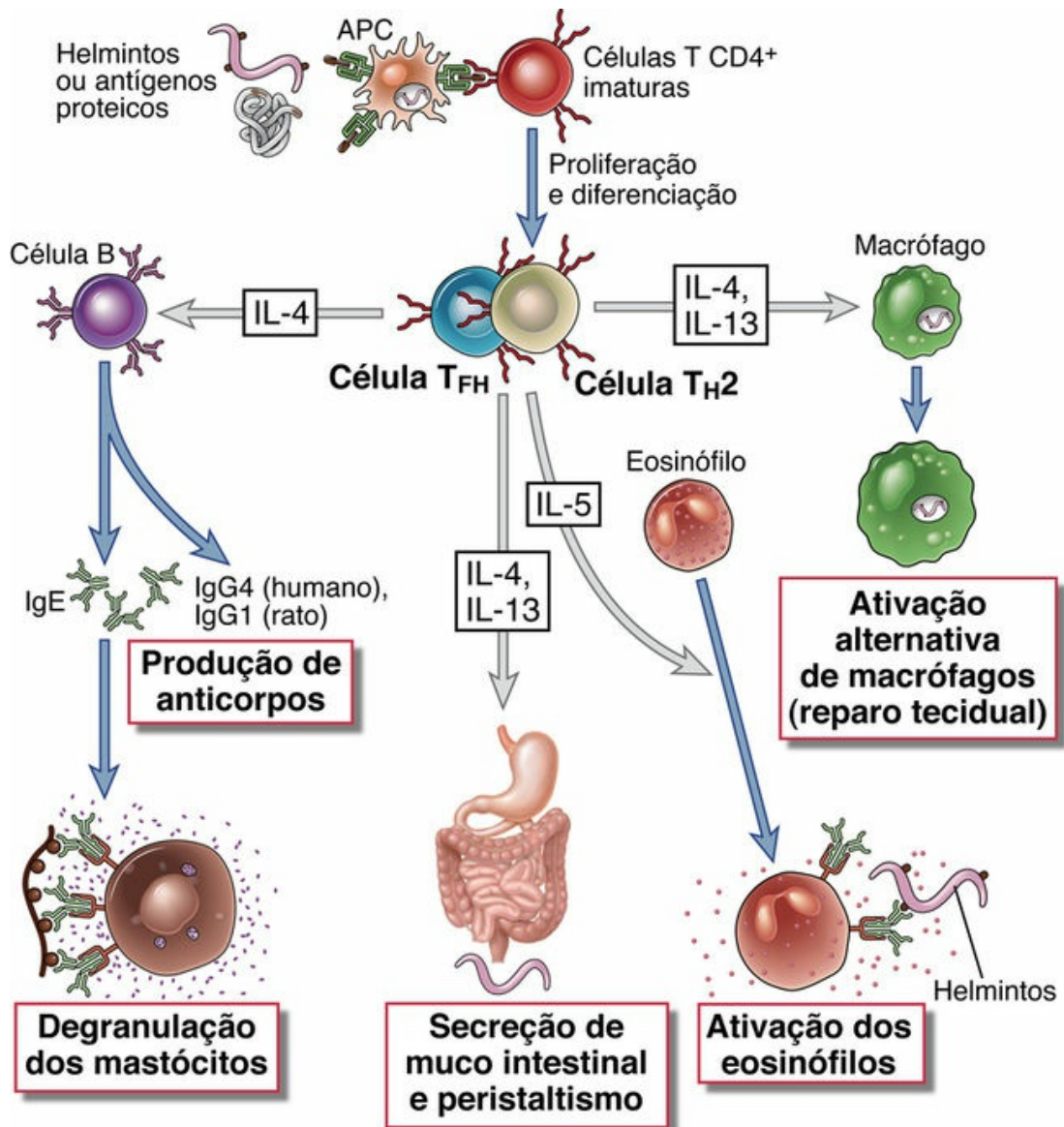
A IL-4 produzida pelas células T ativadas ou por mastócitos e eosinófilos, especialmente em resposta aos helmintos, ativa os fatores de transcrição GATA-3 e STAT6, que estimulam a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas para o subconjunto TH2. A IL-4 produzida pelas células TH2 amplifica essa

resposta e inibe o desenvolvimento de células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17.

**A IL-4 estimula o desenvolvimento de T<sub>H</sub>2, ativando o fator de transcrição STAT6, que juntamente com os sinais de TCR, induz a expressão do GATA-3 (Fig. 10-8).** O GATA-3 é um fator de transcrição que atua como um regulador mestre da diferenciação em T<sub>H</sub>2, aumentando a expressão dos genes das citocinas T<sub>H</sub>2 IL-4, IL-5 e IL-13, que estão localizados no mesmo locus genético. O GATA-3 funciona através da interação direta com os promotores destes genes e também causando a remodelação da cromatina, que abre o locus para acessibilidade a outros fatores de transcrição. Isto é semelhante à maneira pela qual o T-bet influencia a expressão de IFN- $\gamma$ . As funções do GATA-3 de promover a diferenciação estável das células em relação ao fenótipo T<sub>H</sub>2, reforçando a sua própria expressão através de uma retroalimentação (*feedback*) positiva. Além disso, o GATA-3 bloqueia a diferenciação T<sub>H</sub>1 através da inibição da expressão da cadeia de sinalização do receptor de IL-12. Os camundongos *knockouts* para IL-4, STAT6 ou GATA-3 são deficientes nas respostas de T<sub>H</sub>2.

## Funções das Células T<sub>H</sub>2

As células T<sub>H</sub>2 estimulam as reações que servem para erradicar infecções por helmintos mediadas por IgE, mastócitos e eosinófilos (Fig. 10-9). Os helmintos são muito grandes para serem fagocitados por neutrófilos e macrófagos e podem ser mais resistentes às atividades microbicidas desses fagócitos que são a maioria das bactérias e vírus. Portanto, são necessários mecanismos especiais para a defesa contra infecções por helmintos. As funções das células T<sub>H</sub>2 são mediadas por IL-4, que induz as respostas dos anticorpos IgE; a IL-5, que ativa os eosinófilos; e a IL-13, que tem diversas ações. Iremos primeiramente descrever as propriedades dessas citocinas e, em seguida, seus papéis na defesa do hospedeiro.



**FIGURA 10-9** Funções das células TH2.

As células T CD4<sup>+</sup> que se diferenciam em células TH2 segregam IL-4, IL-5 e IL-13. A IL-4 (e a IL-13) atua nas células B para estimular a produção de anticorpos que se ligam aos mastócitos, tais como a IgE. O auxílio na produção de anticorpos pode ser fornecido por células TFH que produzem citocinas TH2 e residem em órgãos linfóides e não por células TH2 clássicas. A IL-4 é também uma citocina de crescimento autócrino e diferenciação para células TH2. A IL-5 ativa os eosinófilos, uma resposta importante para a defesa contra infecções por helmintos. A IL-4 e a IL-13 estão envolvidas na imunidade nas barreiras das mucosas, induzem uma via alternativa de ativação dos macrófagos e inibem a ativação

clássica dos macrófagos mediada por  $T_H1$ .

## A Interleucina-4

**A IL-4 é a principal citocina do subgrupo  $T_H2$  e funciona tanto como um indutor quanto como uma citocina efetora dessas células.** É um membro de uma família de citocinas do tipo I de quatro  $\alpha$ -helicoidal. As principais fontes celulares de IL-4 são os linfócitos T  $CD4^+$  do subgrupo  $T_H2$  e os mastócitos ativados, mas outras células do tecido também produzem esta citocina. O receptor da IL-4 de células linfóides é constituído por uma cadeia  $\alpha$  de ligação de citocinas que faz parte da família de receptores de citocinas do tipo I, associado à cadeia  $\gamma_C$  compartilhada com outros receptores de citocina. Este receptor IL-4R $\alpha\gamma_C$  sinaliza por uma via JAKSTAT envolvendo JAK1, JAK3, e STAT6, e por uma via que envolve o substrato de resposta à insulina (IRS) chamado de IRS-2. A proteína STAT6 induz a transcrição de genes que são responsáveis por muitas das ações desta citocina. A IL-4 também se liga ao receptor de IL-13 (descrito mais adiante).

A IL-4 possui ações importantes sobre vários tipos de células.

- **A IL-4 estimula a mudança de classe da cadeia pesada da Ig da célula B para o isotipo IgE.** Os mecanismos de troca de classe são descritos no [Capítulo 12](#). Os camundongos *knockouts* para IL-4 têm menos do que 10% dos níveis normais de IgE. Os anticorpos IgE desempenham um papel importante na defesa mediada pelos eosinófilos contra as infecções por helmintos (e por alguns artrópodes). A IgE é também o principal mediador das reações de hipersensibilidade imediata (alérgicas), e a produção de IL-4 é importante para o desenvolvimento das alergias ([Cap. 20](#)). A IL-4 também amplifica a mudança para IgG4 (em seres humanos, ou a IgG1 homóloga em camundongos) e inibe a mudança para os isotipos IgG2a e IgG2c em camundongos, ambas as quais são estimuladas pelo IFN- $\gamma$ . Essa é uma de várias ações antagônicas recíprocas de IL-4 e IFN- $\gamma$ . A IL-13 pode também contribuir para a mudança para o isotipo IgE. As células efetoras que estimulam a mudança do isotipo podem ser células  $T_{FH}$  que produzem IL-4 e talvez, a IL-13 e não as células  $T_H2$  clássicas ([Cap. 12](#)).
- **A IL-4 estimula o desenvolvimento de células  $T_H2$  a partir de células T  $CD4^+$  imaturas, e funciona como um fator de crescimento autócrino para células as  $T_H2$  diferenciadas.** Esta função de IL-4 foi descrita anteriormente.
- **A IL-4, em conjunto com a IL-13, contribui para uma forma alternativa de ativação dos macrófagos, que é distinta da resposta de macrófagos ao IFN- $\gamma$ .** A IL-4 e a IL-13 suprimem a ativação clássica dos macrófagos mediada por IFN- $\gamma$  e, assim, inibem a defesa contra microrganismos intracelulares.
- **A IL-4 (e a IL-13) estimulam o peristaltismo no trato gastrointestinal e a IL-13**



***umenta a secreção de muco das células epiteliais e das vias respiratórias e do intestino.*** Ambas as ações contribuem para a eliminação dos microrganismos nas superfícies epiteliais.

- ***A IL-4 e a IL-13 estimulam o recrutamento de leucócitos***, principalmente dos eosinófilos, promovendo a expressão de moléculas de adesão sobre o endotélio e a secreção de quimiocinas que se ligam aos receptores de quimiocinas expressos nos eosinófilos.

## **A Interleucina-13**

A IL-13 é estrutural e funcionalmente semelhante à IL-4 e também desempenha um papel fundamental na defesa contra helmintos (Cap. 16) e nas doenças alérgicas (Cap. 20). A IL-13 é um membro de uma família de citocinas do tipo I de quatro  $\alpha$ -helicoidal, com homologia de sequência limitada, mas significativamente semelhante estruturalmente com a IL-4. A IL-13 é produzida principalmente pelo subgrupo  $T_H2$ , mas os basófilos, eosinófilos, e as células NKT podem também produzir essa citocina. O receptor funcional de IL-13 é um heterodímero da cadeia IL-4R $\alpha$  e da cadeia IL-13R $\alpha$ 1. Este complexo pode ligar-se tanto à IL-4 quanto à IL-13 com afinidade elevada e também sinaliza através das vias JAK1, JAK3 e STAT6. O receptor é expresso sobre uma ampla variedade de células, incluindo as células B, os fagócitos mononucleares, as células dendríticas, os eosinófilos, os basófilos, os fibroblastos, as células endoteliais e células epiteliais brônquicas. As células T não expressam o receptor da IL-13.

***A IL-13 trabalha em conjunto com a IL-4 na defesa contra os helmintos e na inflamação alérgica.*** Algumas das ações de IL-13 se sobrepõem às de IL-4 e outras são distintas. A IL-13 funciona com a IL-4 para induzir a ativação alternativa dos macrófagos, o que contribui para a reparação e fibrose do tecido. A IL-13 estimula a produção de muco pelas células epiteliais das vias respiratórias, um componente importante das reações alérgicas, tais como a asma. Conforme foi mencionado anteriormente, tanto a IL-13 e quanto a IL-4 podem ativar as células B a mudar para a IgE e alguns isotipos IgG e a recrutar leucócitos. Ao contrário da IL-4, a IL-13 não está envolvida na diferenciação de  $T_H2$ .

## **A Interleucina-5**

***A IL-5 é uma ativadora de eosinófilos e serve como o principal elo entre a ativação de células T e a inflamação eosinofílica.*** Ela é um homodímero de um polipeptídeo contendo um domínio de quatro  $\alpha$ -helicoidal e é um membro da família de citocinas de tipo I. Ela é produzida por células  $T_H2$  e pelos mastócitos ativados. O receptor de IL-5 é um heterodímero composto por uma única cadeia  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta$  comum ( $\beta_c$ ), que também é parte da IL-3 e do fator estimulador de colônia dos receptores dos macrófagos granulócitos (GM-CSF), (Fig. 7-23). A principal via de

sinalização induzida por IL-5 envolve JAK2 e STAT3.

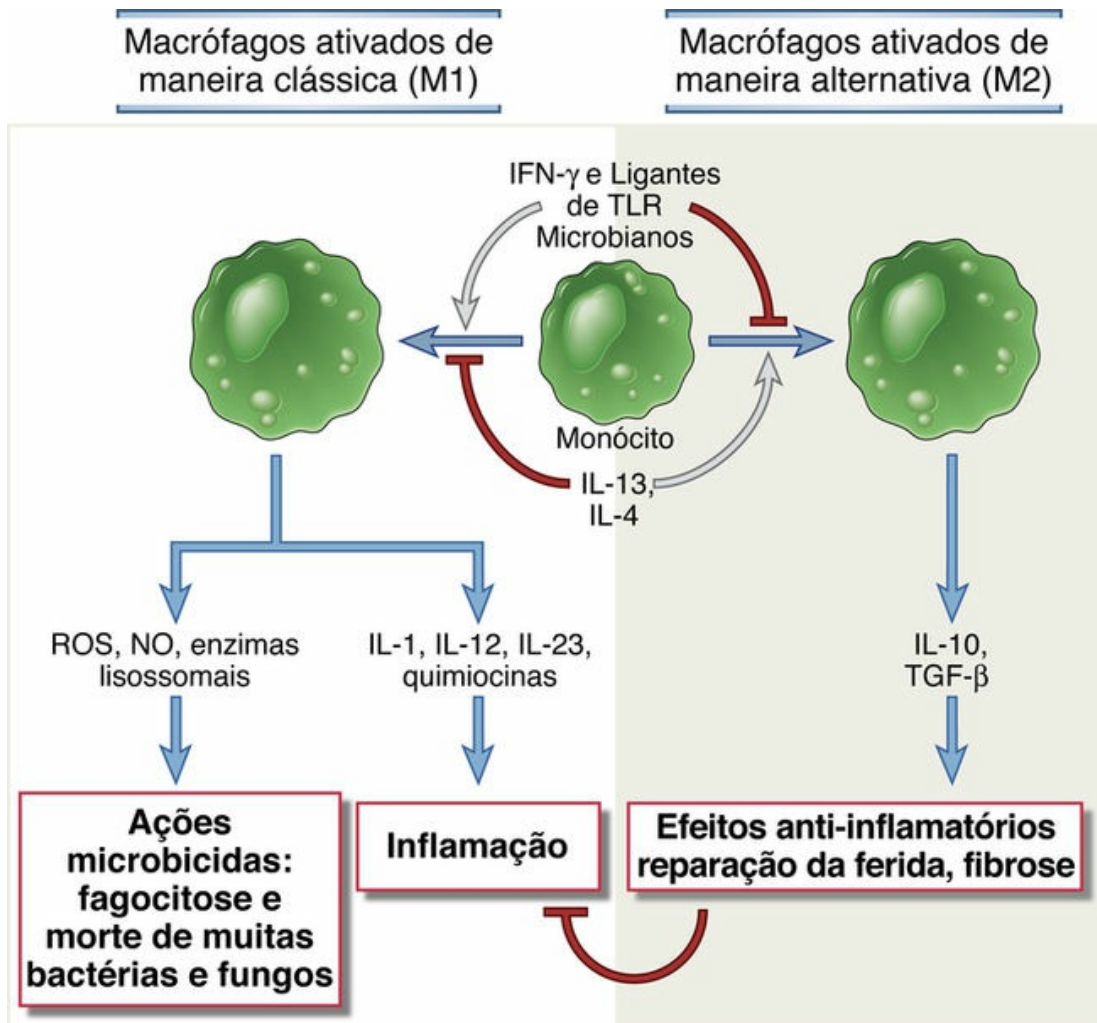
**As principais ações de IL-5 são a ativação dos eosinófilos maduros e a estimulação do crescimento e diferenciação dos eosinófilos.** Os eosinófilos ativados são capazes de destruir os helmintos. Os eosinófilos expressam receptores Fc específicos para IgE e alguns anticorpos IgG e são, assim, capazes de se ligar aos microrganismos, tais como helmintos, que são opsonizados por estes anticorpos. A IL-5 também estimula a produção dos anticorpos IgA.

## Papéis das Células T<sub>H</sub>2 na Defesa do Hospedeiro

As células T<sub>H</sub>2 funcionam na defesa contra infecções por helmintos por vários mecanismos (Fig. 10-9).

- **A IgE e as reações mediadas por eosinófilos.** A IL-4 (e a IL-13), secretadas pelas células T<sub>H</sub>2 ou pelas células T<sub>FH</sub> que produzem estas citocinas, estimulam a produção de anticorpos IgE específicos para o helminto, que opsonizam os helmintos e promovem a ligação de eosinófilos. A IL-5 ativa os eosinófilos e estas células liberam o conteúdo dos seus grânulos, incluindo a proteína básica principal e a principal proteína catiônica, que são capazes de destruir mesmo os tegumentos difíceis dos helmintos (Caps. 16 e 20).
- **A ativação dos mastócitos.** Os mastócitos expressam receptores Fc de alta afinidade que são responsáveis pelo revestimento das células com a IgE, e podem ser ativados por antígenos que se ligam à IgE, resultando na desgranulação. O conteúdo dos grânulos dos mastócitos inclui aminas vasoativas, e os mastócitos secretam citocinas, tais como TNF e quimiocinas, e os mediadores lipídicos, todos os quais induzem a inflamação local que ajuda a destruir os parasitas. Os mediadores de mastócitos também são responsáveis pelas alterações vasculares e inflamação nas reações alérgicas (Cap. 20).
- **A defesa do hospedeiro nas barreiras mucosas.** As citocinas produzidas pelas células T<sub>H</sub>2 estão envolvidas no bloqueio da entrada e promovendo a expulsão dos microrganismos dos órgãos de mucosas, através do aumento da produção de muco e do peristaltismo intestinal. Assim, as células T<sub>H</sub>2 desempenham um papel importante na defesa do hospedeiro nas barreiras com o ambiente externo, às vezes chamado **imunidade de barreira**.
- **A ativação alternativa dos macrófagos.** A IL-4 e a IL-13 ativam os macrófagos para expressar as enzimas que promovem a síntese de colágeno e fibrose. A resposta do macrófago às citocinas T<sub>H</sub>2 tem sido chamada de **ativação alternativa dos macrófagos** (Fig. 10-10) para distingui-la da ativação induzida por IFN- $\gamma$ , que foi caracterizada primeiro (e daí a designação clássica) e que resulta em potentes funções microbidas e inflamação (Fig. 10-7). Alternativamente os macrófagos ativados podem servir para iniciar o reparo após diversos tipos de lesões de tecidos. Esses macrófagos, bem como as células T<sub>H</sub>2 próprias,

induzem a formação de cicatrizes e fibrose através da secreção de fatores de crescimento que estimulam a proliferação de fibroblastos (o fator de crescimento derivado de plaquetas), a síntese de colágeno (IL-13, fator de crescimento transformante  $\beta$  [TGF- $\beta$ ]), e a formação de novos vasos sanguíneos ou angiogênese (fator de crescimento de fibroblastos). As citocinas T<sub>H</sub>2 também suprimem a ativação dos macrófagos clássicos e interferem na proteção imunológica mediada pelas respostas T<sub>H</sub>1 a infecções intracelulares (Cap. 16). A supressão da ativação clássica dos macrófagos ocorre, em parte, porque a IL-4 estimula a produção de citocinas, tais como IL-10 e TGF- $\beta$  por macrófagos alternativamente ativados que inibem o desenvolvimento e função de T<sub>H</sub>1.



**FIGURA 10-10** Ativação clássica e alternativa dos macrófagos.

Subconjuntos de macrófagos ativados são mostrados. Diferentes estímulos ativam monócitos-macrófagos para desenvolver-se em populações funcionalmente distintas. Os macrófagos ativados classicamente são induzidos por citocinas e produtos microbianos, particularmente o IFN- $\gamma$  e são microbicidas e envolvidos na inflamação potencialmente prejudicial. Os macrófagos ativados alternativamente são induzidos por IL-4 e IL-13 produzidas pelas células  $T_H2$  e outros leucócitos e funcionam para controlar a inflamação; eles também podem promover a reparação tecidual e fibrose.

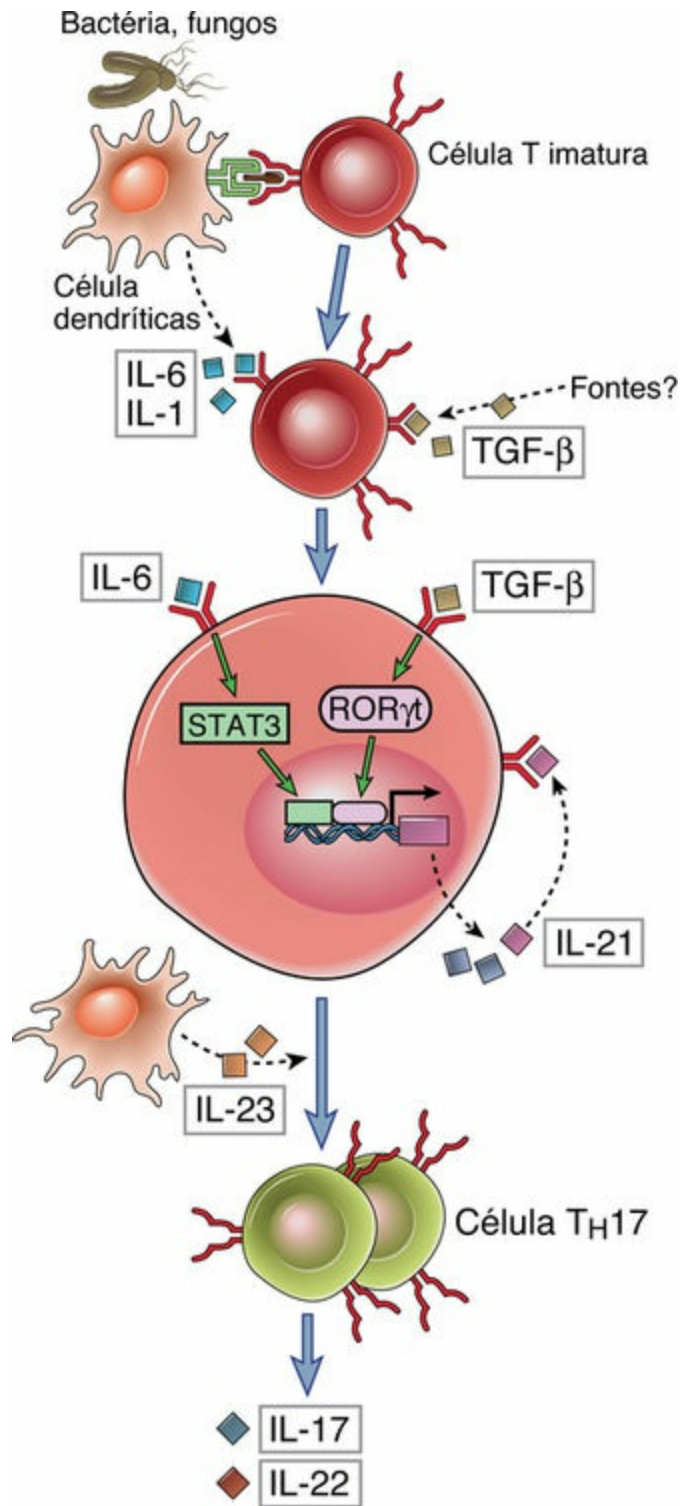
## O subgrupo $T_H17$

**O subgrupo  $T_H17$  está principalmente envolvido no recrutamento de leucócitos e na indução da inflamação.** Estas reações são críticas para destruir as

bactérias extracelulares e fungos, e também contribuem significativamente para as doenças inflamatórias.

## O Desenvolvimento das Células T<sub>H</sub>17

**O desenvolvimento das células T<sub>H</sub>17 é estimulado pelas citocinas pró-inflamatórias produzidas em resposta às bactérias e fungos (Fig. 10-11).** Várias bactérias e fungos agem sobre as células dendríticas e estimulam a produção de citocinas, incluindo a IL-6, IL-1, e IL-23, as quais promovem a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> para o subgrupo T<sub>H</sub>17. O acoplamento do receptor do tipo lectina Dectina-1 nas células dendríticas pelas glucanas fúngicas é um sinal para a produção dessas citocinas. A combinação de citocinas que direcionam o desenvolvimento das células T<sub>H</sub>17 pode ser produzida não apenas em resposta aos microrganismos particulares, tais como fungos, mas também quando as células infectadas com várias bactérias e fungos entram em apoptose e são ingeridas pelas células dendríticas. Considerando que a IL-6 e a IL-1 estimulam os primeiros passos na diferenciação T<sub>H</sub>17, a IL-23 pode ser mais importante para a proliferação e manutenção das células T<sub>H</sub>17 diferenciadas. Um aspecto surpreendente da diferenciação de T<sub>H</sub>17 é que o TGF-β, que é produzido por muitos tipos de célula e é uma citocina anti-inflamatória (Cap. 15), promove o desenvolvimento de T<sub>H</sub>17 pró-inflamatória quando as células de outros mediadores de inflamação, tais como a IL-6 ou IL-1 estão presentes. A diferenciação em T<sub>H</sub>17 é inibida por IFN-γ e IL-4; portanto, fortes respostas T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2 tendem a suprimir o desenvolvimento T<sub>H</sub>17.



**FIGURA 10-11** Desenvolvimento das células TH17. A IL-1 e a IL-6 produzidas pelas APCs e fator transformador de crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) produzidos por várias células ativam os fatores de transcrição ROR $\gamma$ t e STAT3, que estimulam a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas para o subconjunto TH17. A IL-23, que também é produzida pelas



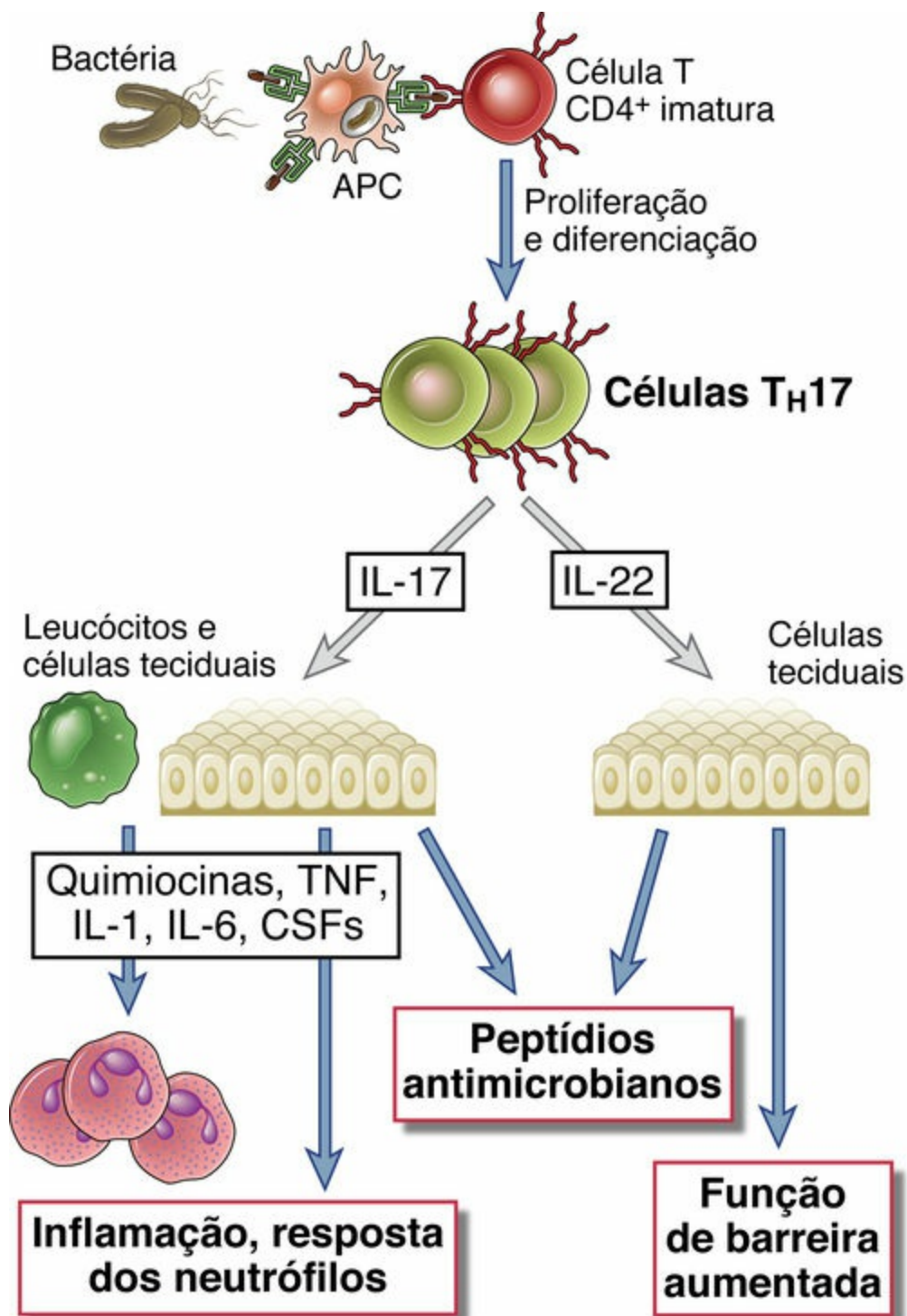
APCs, especialmente em resposta ao ataque de fungos, estabiliza as células  $T_H17$ . O TGF- $\beta$  pode promover respostas  $T_H17$  indiretamente por supressores de células  $T_H1$  e  $T_H2$ , ambos os quais inibem a diferenciação  $T_H17$  (não mostrado). A IL-21 produzida pelas células  $T_H17$  amplifica esta resposta.

O desenvolvimento de células  $T_H17$  é dependente dos fatores de transcrição ROR $\gamma$ t e STAT3 (Fig. 10-11). O TGF- $\beta$  e as citocinas inflamatórias, principalmente a IL-6 e a IL-1, trabalham cooperativamente para induzir a produção de ROR $\gamma$ t, um fator de transcrição que é um membro da família de receptores do ácido retinoico. A ROR $\gamma$ t é uma proteína restrita de célula T codificada pelo gene RORC, por isso, por vezes, a proteína pode ser chamada de RORC. As citocinas inflamatórias, notadamente a IL-6, ativam o fator de transcrição STAT3, que funciona com a ROR $\gamma$ t para conduzir a resposta  $T_H17$ .

As células  $T_H17$  parecem ser abundantes em tecidos de mucosa, em particular do trato gastrointestinal, o que sugere que o ambiente de tecido influencie na geração do subgrupo presente, talvez, proporcionando concentrações locais elevadas de TGF- $\beta$  e citocinas inflamatórias inatas. Esta observação também sugere que as células  $T_H17$  possam ser especialmente importantes no combate às infecções intestinais e no desenvolvimento da inflamação intestinal. O desenvolvimento das células  $T_H17$  no trato gastrointestinal é dependente da população microbiana local; algumas bactérias comensais das espécies de *Clostridium* são particularmente potentes indutoras das células  $T_H17$ .

## Funções das Células $T_H17$

**As células  $T_H17$  combatem os microrganismos através do recrutamento dos leucócitos, principalmente neutrófilos, para os locais de infecção (Fig. 10-12).** Uma vez que os neutrófilos são um dos principais mecanismos de defesa contra as bactérias extracelulares e fungos, as células  $T_H17$  possuem um papel especialmente importante na defesa contra essas infecções. A maioria das ações destas células inflamatórias é mediada pela IL-17, mas outras citocinas produzidas por este subgrupo podem também contribuir.



**FIGURA 10-12** Funções das células  $T_H17$ .

As citocinas produzidas pelas células  $T_H17$  estimulam a produção local de quimiocinas que recrutam os neutrófilos e outros leucócitos, aumentam a produção de peptídios antimicrobianos (defensinas), e promovem as funções de barreira epiteliais.

## A Interleucina-17

A IL-17 é uma citocina incomum porque nem ela nem o seu receptor são homólogas a qualquer outro par de citocina e receptor conhecidos. A família da IL-17 inclui seis proteínas estruturalmente relacionadas, das quais a IL-17A e a IL-17F são as mais semelhantes e as funções imunológicas dessa família de citocinas parecem ser mediadas principalmente por IL-17A. A IL-17A e a IL-17F são produzidas pelas células  $T_H17$ , enquanto os outros membros da família são produzidos por diversos tipos de células. Os receptores da IL-17 são multiméricos e expressos em uma vasta gama de células. A sua estrutura e os mecanismos de sinalização não estão bem definidos.

A IL-17 é um importante elo entre a imunidade adaptativa mediada por células T e a resposta inflamatória aguda, que foi discutida no [Capítulo 4](#) como uma das principais reações da imunidade inata. O termo *inflamação imunológica* é por vezes utilizado para indicar a forte reação inflamatória aguda que pode acompanhar as respostas das células T; em muitos casos, estas reações são mais floridas do que o que é visto na imunidade inata sozinha. A IL-17 desempenha diversas funções importantes na defesa do hospedeiro.

- **A IL-17 induz a inflamação rica em neutrófilos.** Ela estimula a produção de outras citocinas e quimiocinas (tais como TNF) que recrutam neutrófilos e, em menor proporção, os monócitos para o local de ativação das células T. Ela também aumenta a geração de neutrófilos através do aumento da produção de G-CSF e a expressão dos seus receptores. Os neutrófilos recrutados ingerem e destroem bactérias e fungos.
- **A IL-17 estimula a produção de substâncias antimicrobianas**, incluindo as defensinas, a partir de numerosos tipos de células ([Caps. 4 e 13](#)).

## Outras Citocinas $T_H17$

A IL-22 é um membro da família de citocinas do tipo II. Ela é produzida por células T ativadas, particularmente células  $T_H17$  e por algumas células NK e células inatas do grupo 3 linfóide. A IL-22 é produzida nos tecidos epiteliais, especialmente da pele e do trato gastrointestinal, e serve para manter a integridade epitelial, principalmente através da promoção da função de barreira do epitélio, estimulando as reações de reparação e pela indução da produção de peptídeos antimicrobianos. A IL-22 também contribui para a inflamação, em parte, através da estimulação da produção epitelial de quimiocinas, podendo conseqüentemente ser envolvida nas lesões de tecido em doenças inflamatórias.

A IL-21 é produzida por células T  $CD4^+$  ativadas, incluindo as células  $T_H17$  e as células T auxiliares foliculares. Ela possui uma ampla variedade de efeitos sobre as células B e T e células NK. O receptor da IL-21 pertence à família de receptores de citocina do tipo I, consiste de uma cadeia de ligação ao ligante e a subunidade  $\gamma c$  e

ativa uma via de sinalização JAK-STAT em que a STAT3 é especialmente proeminente. Uma função importante da IL-21 é nas respostas de anticorpos, em especial as reações que ocorrem nos centros germinativos (Cap. 12). A IL-21 é necessária para a geração de células T auxiliares foliculares estimula as células B nos centros germinativos. A IL-21 também tem sido mostrada para promover a diferenciação de células T<sub>H</sub>17, especialmente em seres humanos, proporcionando uma via autócrina para a amplificação das respostas T<sub>H</sub>17. Algumas das outras ações relatadas da IL-21 incluem o aumento da proliferação, diferenciação e função efetora das células T CD8<sup>+</sup> e das células NK.

## **Funções das Células T<sub>H</sub>17 na Defesa do Hospedeiro**

***A principal função efetora das células T<sub>H</sub>17 é destruir as bactérias extracelulares e os fungos, principalmente por indução da inflamação neutrofílica (Fig. 10-12).*** Os neutrófilos recrutados ingerem e matam os microrganismos extracelulares. A importância deste papel das células T<sub>H</sub>17 é ilustrada pela doença hereditária chamada **síndrome de Jó** (ou síndrome de hiper-IgE), causada por mutações em STAT3 e é caracterizada pelo aumento da susceptibilidade a infecções fúngicas cutâneas e bacterianas. Os pacientes apresentam múltiplos abscessos bacterianos e fúngicos da pele, assemelhando-se aos relatos bíblicos das punições vistas em Jó. As respostas T<sub>H</sub>17 defeituosas também estão associados à candidíase mucocutânea crônica.

***As células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17 funcionam cooperativamente na eliminação de microrganismos mediada pelos fagócitos na imunidade celular.*** Antes da descoberta do subgrupo T<sub>H</sub>17, foi pensado que a imunidade mediada por células era responsabilidade das células T<sub>H</sub>1, um conceito reforçado pela análise experimental clássica dessa reação que ocorre no baço. Hoje sabe-se que em muitas infecções de tecidos, células T<sub>H</sub>17 são provavelmente as células T efetoras mais importantes para o recrutamento dos fagócitos (monócitos e neutrófilos) para o local da infecção. Este processo de recrutamento celular é conduzido pelas quimiocinas produzidas pelas células T e por outras células no tecido responsivas às citocinas de células T e aos próprios microrganismos. Uma vez que os fagócitos se apresentam no local da infecção eles podem ser ativados por células T<sub>H</sub>1 para ingerir e destruir os microrganismos.

***As células T<sub>H</sub>17 contribuem para a patogênese de muitas doenças inflamatórias.*** As respostas T<sub>H</sub>17 foram associadas à psoríase, à doença inflamatória do intestino, à artrite reumatoide e à esclerose múltipla. Os agentes que bloqueiam o desenvolvimento ou as funções das células T<sub>H</sub>17 estão em ensaios clínicos para várias dessas doenças, e têm mostrado impressionante eficácia na

psoríase. Estes antagonistas não são eficazes na doença inflamatória intestinal e, talvez, na artrite reumatoide, bem como, de modo que o papel das células  $T_H17$  nestas doenças é incerto. As células  $T_H1$  e  $T_H17$  podem estar presentes nas lesões de várias doenças inflamatórias e a sua contribuição relativa para o desenvolvimento e propagação dos distúrbios é uma área de investigação ativa.

## Funções dos outros subtipos de células T

Em adição às células  $CD4^+$  e  $CD8^+$ , há menores populações de células T que possuem características distintas e provavelmente servem funções especializadas na defesa do hospedeiro. O melhor definido destes subgrupos são as células  $\gamma\delta$  T e células NKT. Ambos os subgrupos possuem características comuns que as distingue das células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$ .

- As células  $\gamma\delta$  T e as células NKT I reconhecem uma grande variedade de antígenos, muitos dos quais não são peptídios e estes não são apresentados pelas moléculas do MHC de classes I e classe II nas APCs.
- Os receptores de antígenos de muitas células  $\gamma\delta$  T e de células NKT possuem diversidade limitada, o que sugere que ambos os tipos de células podem ter evoluído para reconhecer um pequeno grupo de antígenos microbianos. Devido a esta característica, estas células T são muitas vezes ditas se encontrarem em um cruzamento entre a imunidade inata e a adaptativa.
- Ambos os tipos de células são abundantes em tecidos epiteliais, tais como o trato gastrointestinal.

Devido a estas propriedades incomuns, células  $\gamma\delta$  T e as células NKT são postuladas para servir papéis especiais na defesa do hospedeiro, semelhante às funções das células linfoides inatas ([Cap. 4](#)). Suas funções comuns podem incluir o seguinte:

- A defesa precoce contra microrganismos encontrados no epitélio, antes das respostas imunológicas adaptativas se desenvolverem
- A vigilância contra células estressadas, tais como células que sofreram danos no DNA ou estão infectadas, e a eliminação destas células
- A produção de citocinas que influenciam as respostas imunológicas adaptativas tardias.

## As Células T $\gamma\delta$

O receptor de antígeno restrito ao MHC dos linfócitos T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  é um heterodímero composto por cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  ([Cap. 7](#)). Há um segundo tipo de receptor clonalmente distribuído e composto por heterodímeros de cadeias  $\gamma$  e  $\delta$ , que são homólogas às cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR encontrada em linfócitos T  $CD4^+$  e  $CD8^+$ . As

células T que expressam o  $\gamma\delta$  TCR representam uma linhagem diferente das células T mais numerosas que expressam  $\alpha\beta$ . Os percentuais de  $\gamma\delta$  nas células T variam amplamente em diferentes tecidos e espécies, mas em geral, menos de 5% de todas as células T expressam esta forma de TCR. Os heterodímeros  $\gamma\delta$  associam-se às proteínas CD3 e  $\zeta$  da mesma maneira que os heterodímeros de TCR  $\alpha\beta$  fazem, e os eventos de sinalização induzidos por TCR típico de células T expressando  $\alpha\beta$  são também observados em células T  $\gamma\delta$ . Embora a potencial diversidade teórica da TCR  $\gamma\delta$  seja ainda maior do que a diversidade do  $\alpha\beta$  TCR, na realidade, apenas um número limitado de regiões  $\gamma$  e  $\delta$  V são expressas em alguns subgrupos destas células, e há pouca ou nenhuma diversidade juncional.

***As diferentes populações de células T  $\gamma\delta$  podem desenvolver-se em distintas vezes durante a ontogenia, conter diferentes regiões V nos seus receptores de antígenos, residir em tecidos diferentes e ter uma capacidade limitada para recircular entre estes tecidos.*** Nos camundongos, muitas células T  $\gamma\delta$  da pele desenvolvem na vida neonatal e expressam um TCR especial com essencialmente nenhuma variabilidade na região V, ao passo que muitas das células T  $\gamma\delta$  na vagina, no útero e na língua aparecem mais tarde e expressam um outro TCR com uma região V diferente. A diversidade limitada dos TCRs  $\gamma\delta$  em diversos tecidos sugere que os ligantes para estes receptores podem ser invariantes e conservados entre os tipos de células ou microrganismos comumente encontrados nestes tecidos. Uma característica intrigante das células T  $\gamma\delta$  é a sua abundância nos tecidos epiteliais de certas espécies. Por exemplo, mais de 50% dos linfócitos na mucosa do intestino delgado de camundongos e galinhas, chamados de linfócitos intraepiteliais, são as células T  $\gamma\delta$ . Na pele dos camundongos, muitas das células T intraepidermais expressam o receptor  $\gamma\delta$ . Populações de células equivalentes não são tão abundantes nos seres humanos; apenas cerca de 10% das células T intraepiteliais intestinais humanas expressam o TCR  $\gamma\delta$ . As células T  $\gamma\delta$  nos órgãos linfoides expressam TCRs mais diversificados do que as células epiteliais  $\gamma\delta$ .

As células T  $\gamma\delta$  não reconhecem os antígenos peptídicos associados ao MHC e não são restritas ao MHC. Alguns clones das células T  $\gamma\delta$  reconhecem pequenas moléculas fosforiladas, alquil aminas, ou lipídios que são comumente encontrados em micobactérias e outros microrganismos e que podem ser apresentados por moléculas não clássicas tipo MHC classe I. Outras células T  $\gamma\delta$  reconhecem antígenos proteicos ou não proteicos que não requerem processamento ou qualquer tipo particular de APCs para a sua apresentação. Muitas células T  $\gamma\delta$  são desencadeadas por proteínas de choque térmico microbianas. A hipótese de trabalho para a especificidade das células T  $\gamma\delta$  é que elas podem reconhecer antígenos que são frequentemente encontrados nos limites epiteliais entre o hospedeiro e o ambiente externo.

***Uma série de atividades biológicas têm sido atribuídas às células T  $\gamma\delta$ , incluindo a secreção de citocinas e a morte de células infectadas,*** mas a



função destas células permanece mal compreendido. Tem sido postulado que este subgrupo de células T pode iniciar as respostas imunológicas a microrganismos nos epitélios, antes do recrutamento e ativação das células T  $\alpha\beta$  específicas de antígeno. No entanto, os camundongos com deficiência nas células T  $\gamma\delta$ , criada através da ruptura direcionada do gene  $\gamma$  ou  $\delta$  TCR, possuem pouca ou nenhuma imunodeficiência e apenas um modesto aumento na susceptibilidade às infecções por algumas bactérias intracelulares. Curiosamente, na doença inflamatória da pele psoríase, a IL-17 desempenha um papel patogênico importante, e em um modelo de camundongos, as primeiras células-IL-17 produzidas nas lesões parecem ser células T  $\gamma\delta$ . Não se sabe se esse é o caso em outras desordens inflamatórias, ou o que as células  $\gamma\delta$  estão reconhecendo ou o quanto elas contribuem para o desenvolvimento da doença.

## As Células NKT

Uma pequena população de células T também expressa os marcadores que são encontrados nas células NK, como o CD56; essas são chamadas de células NKT. As cadeias  $\alpha$  do TCR expressas por um subgrupo das células NKT possuem uma diversidade limitada, e, em seres humanos, estas células caracterizam-se por uma região V codificada por um segmento do gene V $\alpha$ 24-J $\alpha$ 18 rearranjado, com pouca ou nenhuma diversidade juncional, associada a uma das três cadeias  $\beta$ . Devido a essa diversidade limitada, estas células são também chamadas de células NKT invariantes (iNKT). Existem outras células NKT que têm diversos receptores de antígenos. Todos os TCR das células NKT reconhecem os lipídios que estão ligados a moléculas de tipo o MHC de classe I chamadas de moléculas CD1. As células NKT e outras células T específicas de antígeno lipídico são capazes de rapidamente produzir citocinas, tais como a IL-4 e o IFN- $\gamma$ , após a ativação, e eles podem ajudar as células da zona B marginal para produzir anticorpos contra antígenos lipídicos. As células NKT podem mediar as respostas imunológicas inatas protetoras contra alguns agentes patogênicos, tais como as micobactérias (que possuem paredes celulares ricas em lipídios) e as células NKT invariantes podem até regular as respostas imunes adaptativas principalmente através da secreção de citocinas. Entretanto, os papéis dessas células na imunidade protetora em humanos ou na doença não estão claras.

Tendo concluído a nossa discussão sobre as funções das células T efetoras CD4<sup>+</sup> e algumas populações menos comuns de células T, no [capítulo 11](#), vamos considerar as células efetoras da linhagem CD8<sup>+</sup>, cujos papéis principais estão na defesa contra as infecções virais.

## Resumo

A imunidade celular é a resposta do sistema imunológico adaptativo estimulada pelos

microrganismos no interior das células hospedeiras. Ela é mediada pelos linfócitos T e pode ser transferida de indivíduos imunizados aos indivíduos imaturos através das células T e não por anticorpos.

Os linfócitos T CD4<sup>+</sup> auxiliares podem diferenciar-se em células efetoras T<sub>H</sub>1 especializadas que segregam IFN- $\gamma$ , que medeiam a defesa contra microrganismos intracelulares, ou em células T<sub>H</sub>2 secretoras de IL-4 e IL-5, que favorecem as reações imunológicas contra helmintos mediadas por IgE e por eosinófilos/mastócitos, ou em células T<sub>H</sub>17, que promovem a inflamação e medeiam a defesa contra fungos e bactérias extracelulares.

A diferenciação das células T CD4<sup>+</sup> imaturas em subgrupos de células efetoras é induzida por citocinas produzidas pelas APCs, pelas próprias células T e pelas outras células. O programa de diferenciação é governado pelos fatores de transcrição que promovem a expressão do gene da citocina nas células T e as alterações epigenéticas nos loci de genes de citocina, que pode ser associada ao compromisso estável a um determinado subgrupo. Cada subgrupo produz citocinas que aumentam o seu próprio desenvolvimento e inibem o desenvolvimento dos outros subgrupos, conduzindo assim ao aumento da polarização da resposta.

As células T CD4<sup>+</sup> T<sub>H</sub>1 reconhecem os antígenos de microrganismos que foram ingeridos por fagócitos e ativam os fagócitos para matar os microrganismos. A ativação dos macrófagos por células T<sub>H</sub>1 é mediada pelo IFN- $\gamma$  e pelas interações de CD40L-CD40. Os macrófagos ativados destroem os microrganismos fagocitados ingeridos nos fagolisossomos pelas ações de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio e enzimas (chamada de ativação clássica dos macrófagos). Os macrófagos ativados também estimulam a inflamação e podem danificar os tecidos.

As células T CD4<sup>+</sup> T<sub>H</sub>2 reconhecem os antígenos produzidos pelos helmintos e outros microrganismos, assim como os antígenos ambientais associados a alergias. A IL-4, secretada por células T<sub>H</sub>2 ou células T<sub>FH</sub> ativadas, promove a comutação de isotipo de células B e a produção de IgE, que pode recobrir os helmintos e mediar a degranulação dos mastócitos e a inflamação. A IL-5 secretado pelas células T<sub>H</sub>2 ativadas ativa os eosinófilos para liberar o conteúdo dos grânulos que destroem helmintos, mas pode também danificar tecidos do hospedeiro. A IL-4 e IL-13 em conjunto fornecem proteção em barreiras epiteliais e induzem uma forma alternativa de ativação dos macrófagos, que gera macrófagos que controlam a inflamação e medeiam o reparo tecidual e fibrose.

As células CD4<sup>+</sup> T<sub>H</sub>17 estimulam respostas inflamatórias ricas em neutrófilos que erradicam bactérias extracelulares e fungos. As células T<sub>H</sub>17 podem também ser

importantes, mediando os danos nos tecidos nas doenças autoimunes. Tanto as células T<sub>H</sub>1 quanto T<sub>H</sub>17 contribuem para imunidade mediada por células, cada subgrupo possui diferentes papéis na erradicação das infecções mediadas por fagócitos.

As células T  $\gamma\delta$  e as células NKT são células T que expressam uma diversidade limitada de receptores e reconhecem vários antígenos sem um requisito para a apresentação associada ao MHC. Estas células produzem citocinas e, provavelmente, contribuem para a defesa do hospedeiro e doenças inflamatórias.

## Leituras selecionadas

### Diferenciação e funções dos subgrupos das células T CD4<sup>+</sup> das células efectoras: T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 E T<sub>H</sub>17

- Annunziato, F., Romagnani, S. Heterogeneity of human effector CD4<sup>+</sup> T cells. *Arthritis Research and Therapy*. 2009; 11:257–264.
- Baumjohann, D., Ansel, K. M. Micro-RNA-mediated regulation of T helper cell differentiation and plasticity. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:666–678.
- Dong, C. TH17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:337–348.
- Kanno, Y., Golnaz, V., Hirahara, K., Singleton, K., O’Shea, J. J. Transcriptional and epigenetic control of T helper cell specification: molecular mechanisms underlying commitment and plasticity. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:707–731.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., Kuchroo, V. K. IL-17 and TH17 cells. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:485–517.
- Littman, D. R., Rudensky, A. Y. TH17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. *Cell*. 2010; 140:845–858.
- Locksley, R. M. Nine lives: plasticity among helper T cell subsets. *Journal of Experimental Medicine*. 2009; 206:1643–1646.
- McGeachy, M. J., Cua, D. J. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity*. 2008; 28:445–453.
- Murphy, K. M. Stockinger B: Effector T: cell plasticity: flexibility in the face of changing circumstances. *Nature Immunology*. 2010; 11:674–680.
- Paul, W. E., Zhu, J. How are TH2 responses initiated and amplified? *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:225–235.
- Pulendran, B., Artis, D. New paradigms in type 2 immunity. *Science*. 2012; 337:431–435.
- Steinman, L. A brief history of TH17, the first major revision in the TH1/ TH2 hypothesis

of T cell-mediated tissue damage. *Nature Medicine*. 2007; 13:139–145.

Zhu, J., Yamane, H., Paul, W. E. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:445–489.

### **Ativação dos Macrófagos**

Van Dyken, S. J., Locksley, R. M. Interleukin-4- and interleukin- 13-mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:317–343.

Billiau, A., Matthys, P. Interferon- $\gamma$ : a historical perspective. *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2009; 20:97–113.

Gordon, S., Martinez, F. O. Alternative activation of macrophages: mechanisms and functions. *Immunity*. 2010; 32:593–604.

Sica, A., Mantovani, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *Journal of Clinical Investigation*. 2012; 122:787–795.

### **Outras populações de Células T**

Bendelac, A., Savage, P. B., Teyton, L. The biology of NKT cells. *Annual Review of Immunology*. 2007; 25:297–336.

Chien, Y.-H., Meyer, C., Bonneville, M.  $\gamma\delta$  T cells: first line of defense and beyond. *Annual Review of Immunology*. 2014; 32:121–155.

Godfrey, D. I., Stankovic, S., Baxter, A. G. Raising the NKT cell family. *Nature Immunology*. 2010; 11:197–206.

Vantourout, D., Hayday, A. Six-of-the-best: unique contributions of  $\gamma\delta$  T cells to immunology. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:88–100.

## CAPÍTULO 11

# Diferenciação e Funções das Células T CD8<sup>+</sup> Efetoras

### DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS T CD8<sup>+</sup> EM LINFÓCITOS T CITOTÓXICOS

Natureza dos Antígenos e das Células Apresentadoras de Antígeno para

Ativação dos Linfócitos T CD8<sup>+</sup>

Papel das Células T Auxiliares

Papel das Citocinas

Inibição das Respostas por Células T CD8<sup>+</sup>: O Conceito de Exaustão das Células T

### FUNÇÕES EFETORAS DOS LINFÓCITOS T CD8<sup>+</sup> CITOTÓXICOS

Mecanismos de Citotoxicidade Mediada por CTLs

Produção de Citocinas pelas Células T CD8<sup>+</sup> Efetoras

### FUNÇÕES DOS CTLs CD8<sup>+</sup> NA DEFESA DO HOSPEDEIRO

### RESUMO

Os vírus evoluíram para utilizar várias moléculas da superfície celular para obter entrada nas células do hospedeiro e para usar a maquinaria genética e de síntese proteica das células do hospedeiro para se replicar e disseminar de uma célula para outra. Os vírus podem infectar e sobreviver em uma ampla variedade de células. Os vírus não podem ser destruídos se as células infectadas não possuem mecanismos microbicidas intrínsecos, ou se os vírus estiverem no citosol onde são inacessíveis a estes mecanismos de morte. Nessas situações, a única maneira de erradicar a infecção estabelecida é matando a célula infectada, liberando o vírus para o meio extracelular e paralisando sua capacidade de sobreviver e se replicar. Esta função de promoção de morte de células com vírus em seu citosol é mediada por **linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> (CTLs)**, as células efetoras da linhagem T CD8<sup>+</sup> (Fig. 10-1, B). As citocinas produzidas por células efetoras T CD8<sup>+</sup> também contribuem para a eliminação de uma variedade de microrganismos intracelulares. Além do seu papel

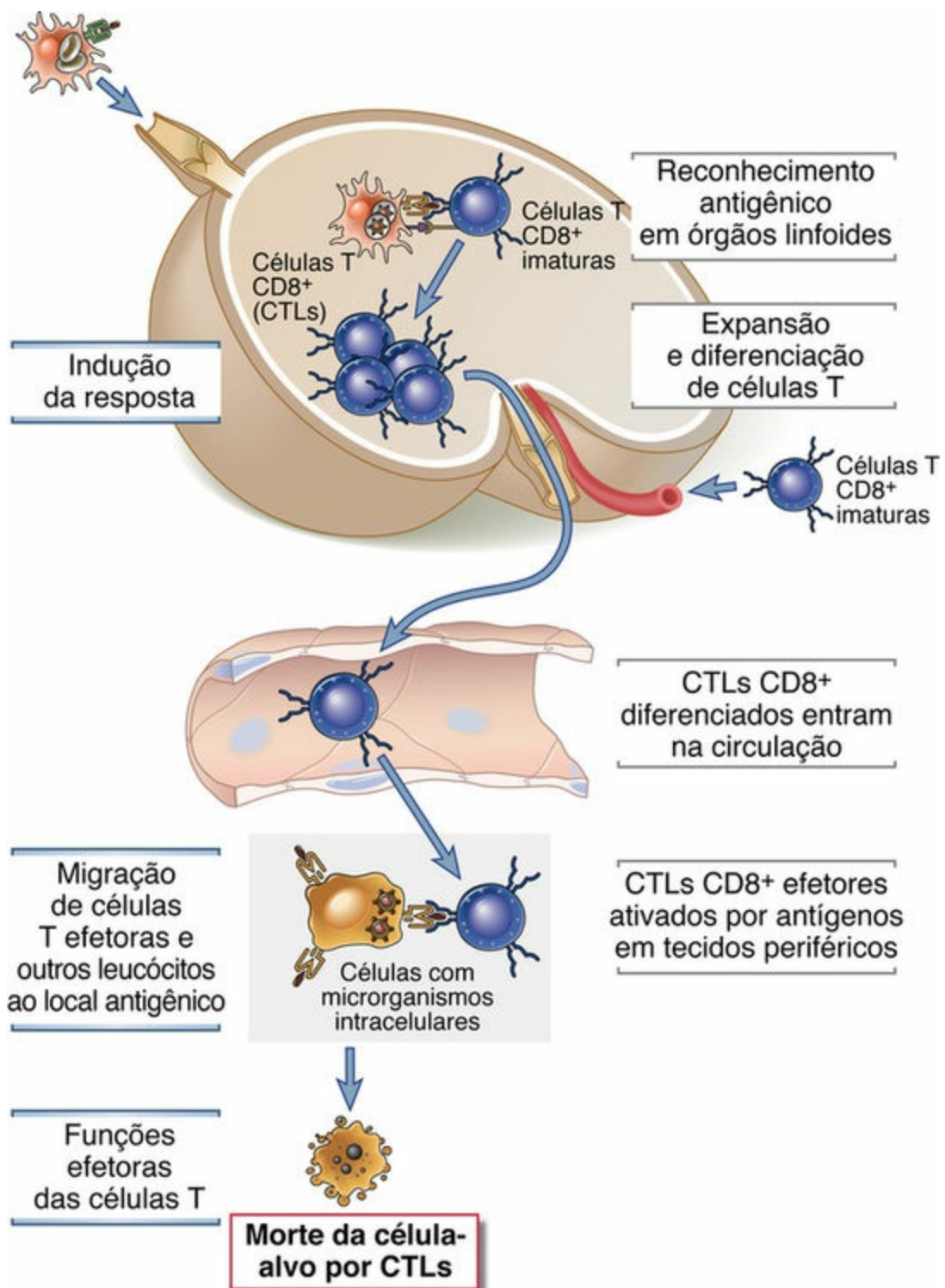
na defesa contra micróbios, a segunda função importante dos CTLs CD8<sup>+</sup> é a erradicação de diversos tumores. Essas células também desempenham papéis fundamentais na rejeição aguda de enxertos de órgãos.

No [Capítulo 6](#), discutimos a natureza dos peptídeos do complexo de MHC que são reconhecidos por células T CD8<sup>+</sup>. Abordamos os primeiros passos de ativação de células T no [Capítulo 9](#). Mencionamos algumas das características da ativação de células CD8<sup>+</sup>, incluindo sua notável expansão clonal após a ativação por antígenos e outros sinais. A diferenciação das células CD8<sup>+</sup> imaturas, que não possuem capacidade de matar, em CTLs funcionais, apresenta várias características especiais que devem ser consideradas separadamente. Neste capítulo, descreveremos o quão funcionalmente eficaz os CTLs são produzidos e como eles matam outras células e, em seguida, discutiremos os papéis dos CTLs na defesa do hospedeiro.

## **Diferenciação das células T CD8<sup>+</sup> em linfócitos T citotóxicos**

A ativação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas requer o reconhecimento do antígeno e sinais secundários e prossegue em passos muito semelhantes aos de outras respostas de células T ([Fig. 11-1](#)). No entanto, a ativação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas é dependente de uma via específica de apresentação de antígeno em um subconjunto especializado de células dendríticas e pode também exigir auxílio das células T CD4<sup>+</sup>.





**FIGURA 11-1** Fases indutora e efetora das respostas das células T CD8<sup>+</sup>.

Indução da resposta: as células T CD8<sup>+</sup> reconhecem os peptídeos derivados de antígenos proteicos que são apresentados por células dendríticas em órgãos linfóides periféricos. Os linfócitos T são estimulados a proliferar e diferenciar-se em CTLs (e células de memória), que entram

na circulação. Migração de células T efetoras e outros leucócitos para o local do antígeno: as células T efetoras migram para locais teciduais infectados, de crescimento tumoral ou de rejeição de enxerto. Funções efetoras de células T: CTLs CD8<sup>+</sup> reconhecem o antígeno nos tecidos e respondem matando as células nas quais o antígeno é produzido.

***A diferenciação das células T CD8<sup>+</sup> em CTLs efetores envolve a aquisição da maquinaria para matar as células-alvo.*** A célula infectada ou tumoral que é morta por CTLs é geralmente chamada de célula-alvo. Células CD8<sup>+</sup> imaturas reconhecem antígenos, mas precisam se proliferar e diferenciar para gerar um conjunto suficientemente grande de CTLs para destruir a origem do antígeno. Dentro do citoplasma de CTLs diferenciados, existem numerosos lisossomos modificados (denominados grânulos) que contêm proteínas, incluindo perforinas e granzimas, cuja função é matar outras células (descrito mais adiante). Além disso, os CTLs diferenciados são capazes de secretar citocinas, principalmente IFN- $\gamma$ , que têm a função de ativar os fagócitos.

Os eventos moleculares na diferenciação dos CTLs envolvem a transcrição dos genes que codificam estas moléculas efetoras. Dois fatores de transcrição necessários para a expressão desses genes são T-bet (que discutimos em relação à diferenciação para T<sub>H</sub>1 no [Cap. 10](#)) e a eomesodermina, que é estruturalmente relacionada com T-bet. T-bet e eomesodermina contribuem para o elevado nível de expressão de perforina, granzimas e algumas citocinas, especialmente IFN- $\gamma$ .

## Natureza dos Antígenos e das Células Apresentadoras de Antígeno para Ativação dos Linfócitos T CD8<sup>+</sup>

***A ativação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas, como a de todas as células T imaturas, é mais bem iniciada pelos antígenos apresentados por células dendríticas.*** Este requisito levanta o problema de que os antígenos reconhecidos pelas células T CD8<sup>+</sup> podem ser vírus que infectam os diferentes tipos celulares, incluindo outras células além das células dendríticas, ou eles podem ser antígenos de tumores que também são derivados a partir de uma variedade de tipos celulares. A via do MHC de classe I de apresentação de antígenos a células T CD8<sup>+</sup> requer que os antígenos proteicos estejam presentes no citosol de células infectadas de modo que estas proteínas possam ser degradadas em proteossomas, para, em seguida, entrar no retículo endoplasmático por meio do transportador TAP. Proteínas de um vírus que infecta um tipo específico de célula, tais como células do fígado, podem acessar o

citossol e proteossomas nestas células, mas são incapazes de fazê-lo na maioria das células apresentadoras de antígenos (APCs), uma vez que estas APCs não são infectadas pelo vírus e não sintetizam endogenamente o antígeno viral. Como discutimos no [Capítulo 6](#), o sistema imunológico lida com este problema pelo processo de apresentação cruzada. Neste processo, as células dendríticas especializadas ingerem as células infectadas, células tumorais ou proteínas expressas por estas células, transferem os antígenos proteicos para o citossol e processam os antígenos para entrada na via de apresentação de antígenos por MHC de classe I para o reconhecimento por células T CD8<sup>+</sup> ([Fig. 6-20](#)). Apenas alguns subconjuntos de células dendríticas são eficientes na apresentação cruzada e, conseqüentemente, estes subconjuntos de células dendríticas são cruciais para a ativação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas. Resultados obtidos a partir de experimentos em camundongos sugerem que as APCs de apresentação cruzada mais eficientes são as células dendríticas de tecidos linfoides que expressam CD8 ou o subconjunto do tecido periférico que expressa a integrina CD103 ([Cap. 6](#)). As células dendríticas especializadas em apresentação cruzada correspondentes nos tecidos humanos expressam altos níveis de CD141, também conhecida como BDCA-3. Além disso, as células dendríticas plasmocitoides podem também realizar apresentação cruzada de proteínas derivadas de vírus presentes no sangue para as células T CD8<sup>+</sup> imaturas no baço.

Além da apresentação de antígenos na forma de complexos peptídeo-MHC, as células dendríticas provavelmente também proporcionam coestimulação via B7 ou outras moléculas ([Cap. 9](#)).

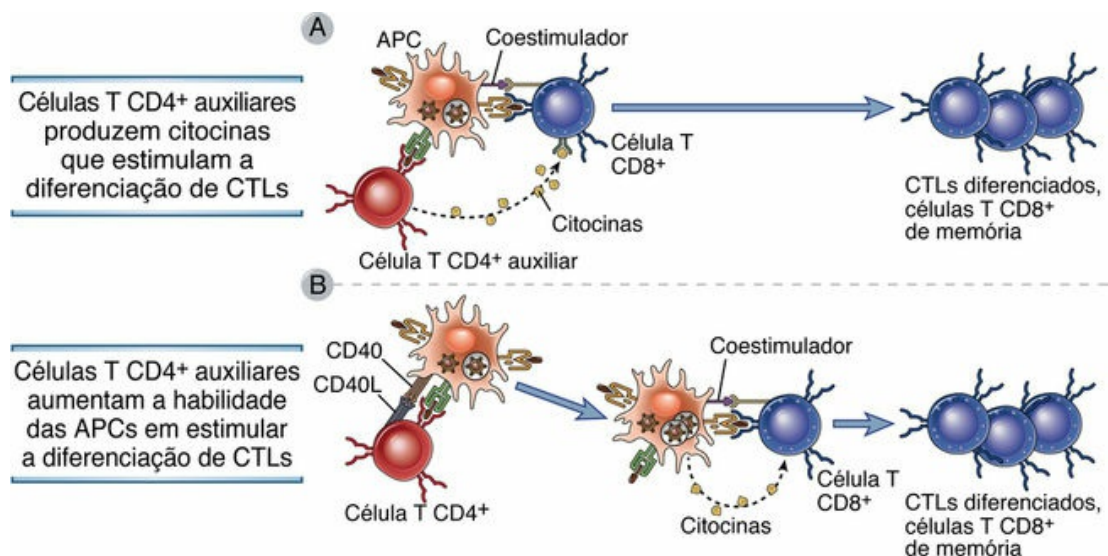
## Papel das Células T Auxiliares

***A ativação completa de células T CD8<sup>+</sup> imaturas e sua diferenciação em CTLs funcionais e células de memória podem requerer a participação de células CD4<sup>+</sup> auxiliares.*** Em outras palavras, as células T auxiliares podem proporcionar sinais secundários para as células T CD8<sup>+</sup>. As células T auxiliares são ativadas pelos antígenos apresentados em moléculas MHC de classe II e por coestimuladores B7 expressos em células dendríticas.

A necessidade de células auxiliares pode variar de acordo com o tipo de exposição antigênica. No cenário de uma intensa resposta imune inata frente a um micróbio, ou se as APCs tiverem sido diretamente infectadas pelo micróbio, as células T CD4<sup>+</sup> auxiliares podem não ser essenciais. As células T CD4<sup>+</sup> auxiliares podem ser necessárias para respostas de células T CD8<sup>+</sup> frente a infecções virais latentes, transplantes de órgãos e tumores, os quais tendem a provocar reações relativamente fracas da imunidade inata. A importância variável das células T CD4<sup>+</sup> para o

desenvolvimento de respostas por CTLs é ilustrada por estudos com camundongos onde células T auxiliares são depletadas. Nesses camundongos, algumas infecções virais não conseguem gerar CTLs eficazes ou células T CD8<sup>+</sup> de memória, não sendo erradicadas, ao passo que outros vírus estimulam respostas eficazes por CTL. A falta da função das células T CD4<sup>+</sup> auxiliares é a explicação aceita para os defeitos de geração de CTLs observados em indivíduos infectados pelo HIV, que infecta e elimina apenas as células T CD4<sup>+</sup>. Existem também evidências de que as células T auxiliares CD4<sup>+</sup> são mais importantes para a geração de células T CD8<sup>+</sup> de memória do que para a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas em CTLs efetores.

As células T auxiliares podem promover a ativação das células T CD8<sup>+</sup> por meio de diversos mecanismos (Fig. 11-2).



**FIGURA 11-2** Papel das células T auxiliares na diferenciação de linfócitos T CD8<sup>+</sup>.

As células T CD4<sup>+</sup> auxiliares promovem o desenvolvimento de CTLs CD8<sup>+</sup> e células de memória por meio da secreção de citocinas, que atuam diretamente sobre a célula CD8<sup>+</sup> (**A**), ou por ativação de APCs para se tornarem mais eficazes na estimulação da diferenciação das células T CD8<sup>+</sup> (**B**).

- As células T auxiliares podem secretar citocinas que estimulam a diferenciação das células T CD8<sup>+</sup>. A natureza destas citocinas será discutida na seção seguinte.
- Células T auxiliares ativadas expressam o ligante CD40 (CD40L), o qual pode ligar-se a CD40 nas células dendríticas carregadas com antígenos. Esta interação ativa

as APCs para torná-las mais eficientes para estimular a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup>, em parte, induzindo a expressão dos coestimuladores. Este processo tem sido denominado *licenciamento* das APCs.

## Papel das Citocinas

Várias citocinas contribuem para a diferenciação das células T CD8<sup>+</sup> e para a manutenção de células efetoras e de memória dessa linhagem.

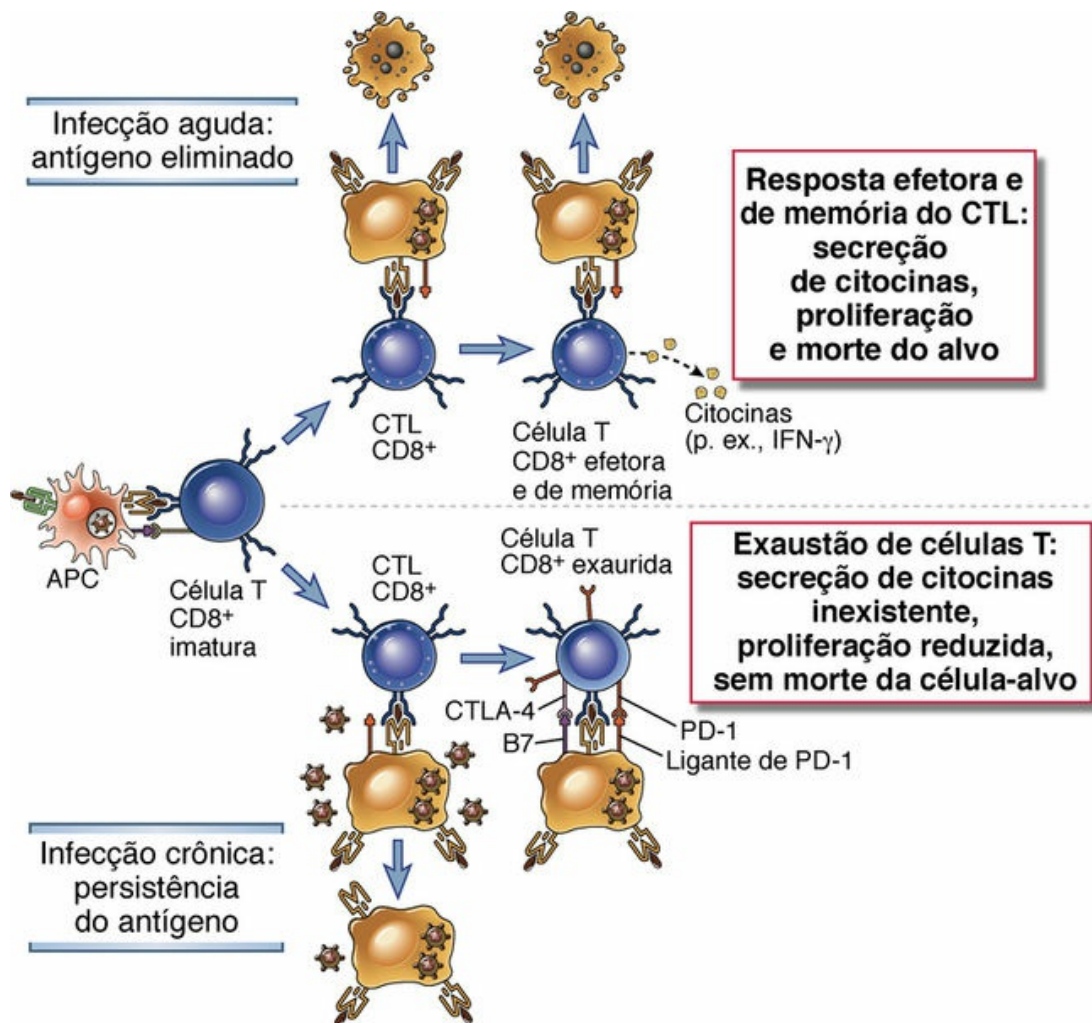
- IL-2 promove a proliferação e diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> em CTLs e células de memória. As células T CD8<sup>+</sup> expressam as cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  do receptor de IL-2 e podem expressar níveis elevados da cadeia  $\alpha$  após a ativação (Cap. 9).
- IL-12 e IFN de tipo I têm demonstrado estimular a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas em CTLs efetores. Estas citocinas podem ser produzidas por diferentes populações de células dendríticas durante a resposta imune inata frente a infecções virais e algumas infecções bacterianas. Recorde-se que as mesmas citocinas estão envolvidas na diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> em células T<sub>H</sub>1. Esta semelhança pode refletir o fato de que o desenvolvimento de ambas as populações de células, T<sub>H</sub>1 e CTLs, depende de fatores de transcrição semelhantes, tais como T-bet (para ambos) e a eomesodermina relacionada (para CTLs).
- IL-15 é importante para a sobrevivência das células CD8<sup>+</sup> de memória. IL-15 pode ser produzida por muitos tipos de células, incluindo as células dendríticas. Camundongos sem IL-15 mostram uma perda significativa de células T CD8<sup>+</sup> de memória.
- IL-21 produzida por células T CD4<sup>+</sup> ativadas desempenha uma função na indução das células T CD8<sup>+</sup> de memória e na prevenção da exaustão das células T CD8<sup>+</sup> (discutida na seção seguinte).

## Inibição das Respostas por Células T CD8<sup>+</sup>: O Conceito de Exaustão das Células T

***Em algumas infecções virais crônicas, as respostas das células T CD8<sup>+</sup> podem ser iniciadas, mas gradualmente extintas, um fenômeno que é chamado de exaustão (Fig. 11-3).*** O termo *exaustão* tem sido utilizado para atribuir que a resposta efetora se desenvolve, mas está ativamente suprimida (ao contrário de *tolerância*, quando os linfócitos normalmente não se desenvolvem em células efetoras). Este fenômeno de exaustão foi descrito pela primeira vez em uma infecção

viral crônica em camundongos, que resultou na persistência prolongada do vírus. As células T CD8<sup>+</sup> exaustas mostram numerosas alterações funcionais e fenotípicas, incluindo diminuição da produção de IFN- $\gamma$  e aumento da expressão de múltiplos receptores inibitórios, notadamente PD-1 (Cap. 9). Um mecanismo documentado de extinção da resposta são sinais inibitórios de PD-1, que bloqueiam a ativação de CTLs. O mesmo fenômeno de exaustão de células T mediado por PD-1 pode contribuir para a cronicidade de algumas infecções virais em seres humanos, tais como o HIV e o vírus da hepatite C (HCV), e a capacidade de alguns tumores de evadir a resposta imunitária (Cap. 18). Os anticorpos que bloqueiam PD-1 são eficazes na imunoterapia de tumores e estão sendo testados em infecções virais crônicas. A exaustão pode ter evoluído como uma forma de atenuar as consequências de dano tecidual em infecções virais crônicas.





**FIGURA 11-3** Exaustão de células T.

Em infecções agudas, as células T CD8<sup>+</sup> diferenciam-se em CTLs que eliminam as células infectadas. Em situações de exposição persistente ou crônica a antígenos, a resposta das células T CD8<sup>+</sup> é suprimida pela expressão e acoplamento de PD-1 e outros receptores inibitórios.

## Funções efetoras dos linfócitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos

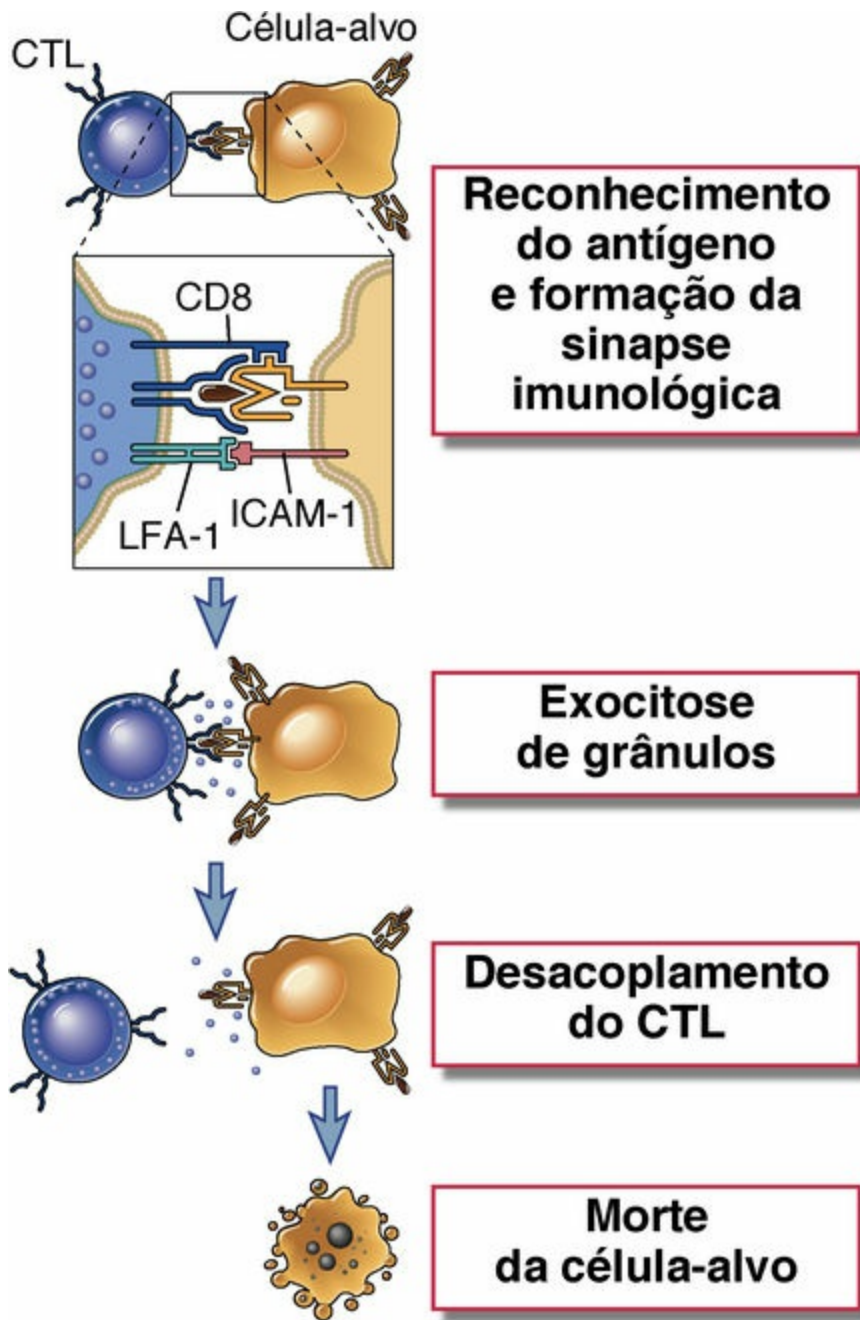
Os CTLs CD8<sup>+</sup> eliminam micróbios intracelulares principalmente matando as células infectadas (Fig. 10-1, B). Além da morte celular direta, as células T CD8<sup>+</sup> secretam IFN- $\gamma$  e, assim, contribuem para a ativação clássica dos macrófagos na defesa do hospedeiro e em reações de hipersensibilidade. Aqui, abordaremos os mecanismos pelos quais CTLs diferenciados matam as células portadoras de micróbios.

## Mecanismos de Citotoxicidade Mediada por CTLs

***A morte mediada por CTLs envolve o reconhecimento específico de células-alvo e a liberação de proteínas que induzem a morte celular.*** Os CTLs matam os alvos que expressam o antígeno associado à MHC I de mesma classe que

desencadeou a proliferação e diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas a partir da qual eles são derivados, e não matam as células adjacentes não infectadas que não expressam este antígeno. Na verdade, até mesmo os CTLs não sofrem danos durante a morte de alvos que expressam o antígeno. Esta especificidade da função efetora dos CTLs garante que as células normais não sofram danos por CTLs que reagem contra as células infectadas. Esta morte é altamente específica porque uma justaposição estreita, conhecida como **sinapse** (Cap. 7), é formada no local de contato do CTL e do alvo que expressa o antígeno, e as moléculas que realmente executam a morte são secretadas na sinapse e não podem se difundir para outras células vizinhas.

O processo de morte dos alvos mediada por CTLs consiste em reconhecimento do antígeno, ativação dos CTLs, execução do **golpe letal** que mata as células-alvo e liberação dos CTLs (Fig. 11-4). Cada uma dessas etapas é controlada por interações moleculares específicas.



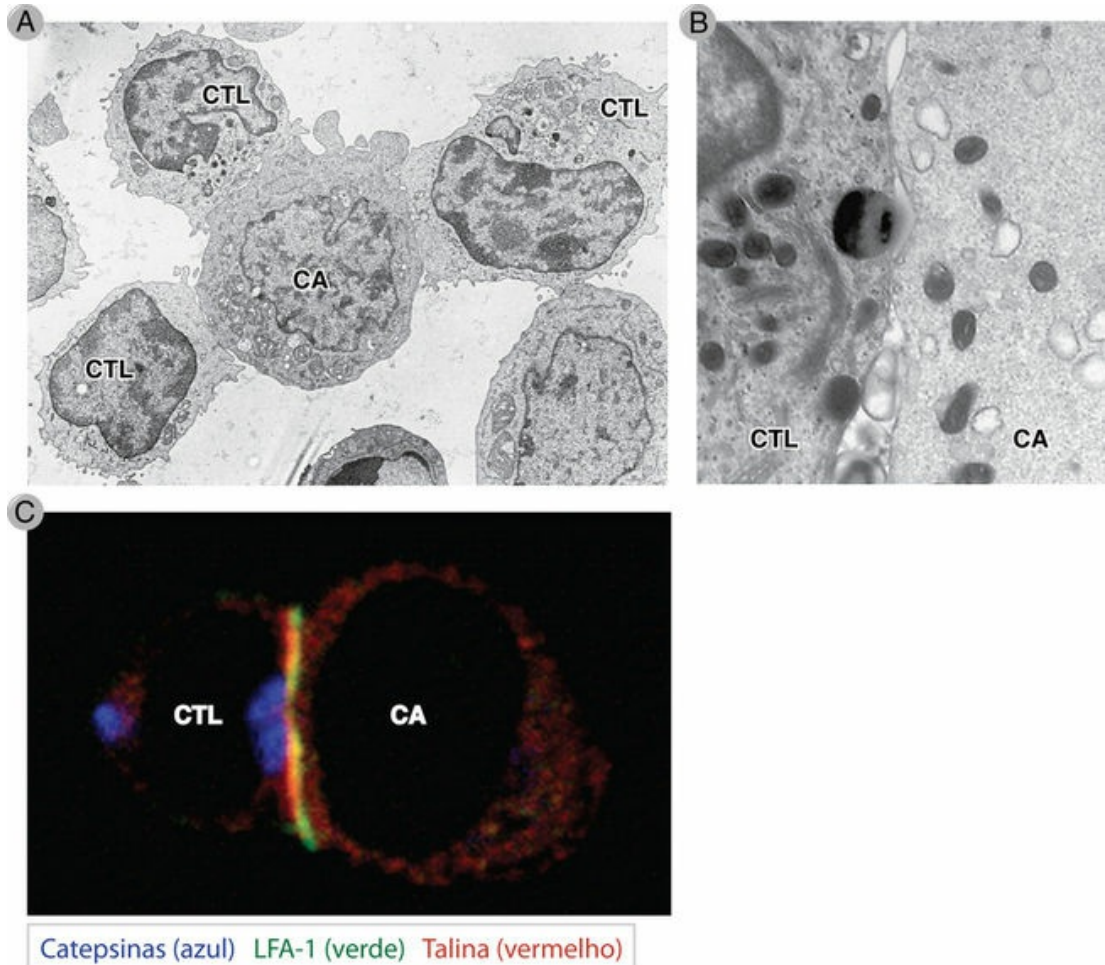
**FIGURA 11-4** Passos na lise das células-alvo mediada por CTLs.

Um CTL reconhece a célula-alvo que expressa o antígeno, sendo posteriormente ativado. A ativação resulta na liberação de conteúdo granular do CTL na célula-alvo por meio da área de contato (sinapse imunológica). O conteúdo dos grânulos é letal para a célula-alvo. O CTL pode desacoplar e matar outras células-alvo. A formação de conjugados entre um CTL e o seu alvo e a ativação do CTL também requerem interações entre moléculas acessórias (LFA-1, CD8) expressas no CTL e seus ligantes específicos (ICAM-1 e MHC

de classe I, respectivamente) expressos na célula-alvo (*não demonstrado*).

## **Reconhecimento de Antígenos e Ativação de CTLs**

**Os CTLs ligam-se e reagem com a célula-alvo por meio da utilização do seu receptor antigênico, o correceptor (CD8), e moléculas de adesão.** Para serem eficientemente reconhecidas pelos CTLs, as células-alvo devem expressar moléculas MHC de classe I complexadas a um peptídeo (o complexo serve como um ligante para o receptor de células T [TCR] e também se liga ao correceptor de CD8) e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM 1, o principal ligante da integrina LFA-1). Os CTLs e suas células-alvo formam conjugados firmes (Fig. 11-5). Este sinapse imune (Cap. 7) formada entre as duas células é caracterizada por um anel que compõe uma justaposição estreita entre os CTLs e as membranas celulares alvo, mediada por LFA-1 ligando-se a ICAM-1, e uma lacuna ou espaço fechado no interior do anel. Regiões distintas da membrana de CTL podem ser observadas dentro do anel por meio de microscopia de imunofluorescência, incluindo um domínio proteico conservado, que inclui TCR, proteína quinase C- $\theta$ , Lck e um domínio secretor, que aparece como uma lacuna em um lado do domínio proteico. Esta interação resulta na iniciação de sinais bioquímicos que ativam os CTLs, os quais são essencialmente os mesmos sinais envolvidos na ativação de células T auxiliares. Citocinas e coestimuladores fornecidos pelas células dendríticas, que são necessários para a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> imaturas em CTLs, não são requeridos para desencadear a função efetora dos CTLs (ou seja, promover a morte celular). Portanto, uma vez que as células T CD8<sup>+</sup> específicas para um antígeno foram diferenciadas em CTLs totalmente funcionais, eles podem matar qualquer célula nucleada que exiba este antígeno.



**FIGURA 11-5** Formação de conjugados entre os CTLs e as células-alvo.

**A**, Micrografia eletrônica de três CTLs, derivados de uma linhagem celular específica para a molécula MHC humana HLA-A2, ligando-se a uma célula-alvo (CA) expressando HLA-A2 1 minuto após a mistura dos alvos e CTLs. Note que no CTL do canto superior esquerdo, os grânulos foram redistribuídos na direção da célula-alvo. **B**, Micrografia eletrônica do ponto de contato entre a membrana do CTL (à esquerda) e da célula-alvo (à direita). Dois grânulos de CTL estão perto da sinapse. Várias mitocôndrias também são visíveis. **C**, Micrografia de fluorescência confocal de uma sinapse imune entre um CTL (esquerda) e uma célula-alvo (direita) marcados com anticorpos contra as catepsinas presentes em um grânulo secretor (*azul*), LFA-1 (*verde*) e a proteína talina do citoesqueleto (*vermelho*). A imagem mostra a localização central do grânulo secretor e a localização periférica da molécula de adesão LFA-1, bem como a proteína talina associada ao citoesqueleto. (**A**, Cortesia de Dr.



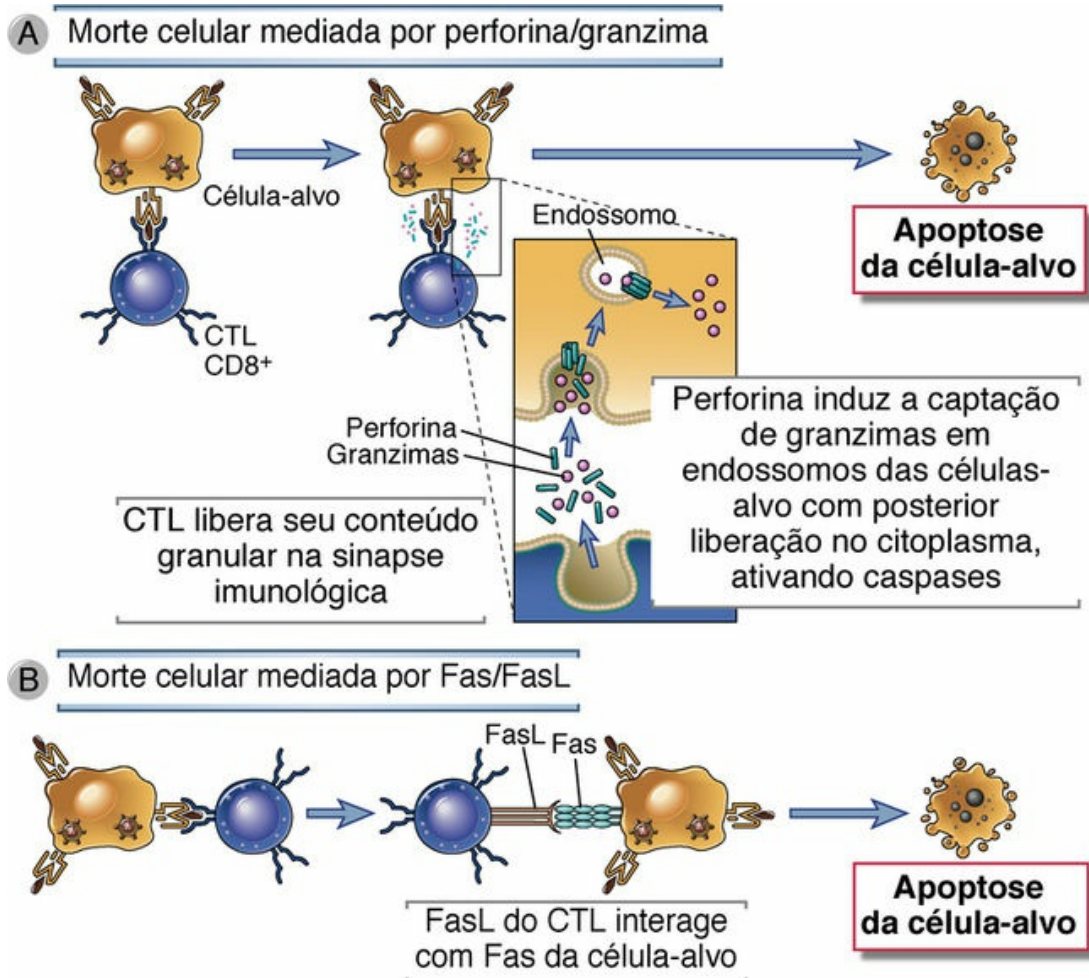
P. Peters, Netherlands Cancer Institute, Amsterdam. **B**,  
Reimpresso de Stinchcombe JC, Bossi G, Booth S, Griffiths  
GM: The immunological synapse of CTL contains a secretory  
domain and membrane bridges, *Immunity* 8:751-761, 2001.  
Copyright © Cell Press, with permission from Elsevier. **C**,  
Reimpresso de Stinchcombe JC, Griffiths GM: The role of the  
secretory immunological synapse in killing by CD8<sup>+</sup> CTL,  
*Seminars in Immunology* 15:301-205. Copyright © 2003  
Elsevier Science Ltd., com permissão da Elsevier.)

Além dos receptores de células T, os CTLs CD8<sup>+</sup> expressam receptores que também são expressos pelas células NK, as quais contribuem para a regulação e ativação dos CTLs. Alguns destes receptores pertencem à família dos receptores de imunoglobulina assassina (KIR), discutida no [Capítulo 4](#), e reconhecem as moléculas MHC de classe I em células-alvo, mas não são específicos para um determinado complexo MHC-peptídeo. Estes KIRs transduzem sinais inibidores que podem servir para evitar que os CTLs matem as células normais. Além disso, os CTLs expressam o receptor NKG2D, descrito no [Capítulo 4](#), que reconhece moléculas semelhantes ao MHC de classe I MIC-A, MICB e ULBP, expressas em células submetidas a estresse (infectadas ou transformadas). NKG2D pode servir para fornecer sinais que atuam em conjunto com o reconhecimento do antígeno por TCR para aumentar a atividade de morte.

## **Morte das Células-Alvo por CTLs**

***Dentro de alguns minutos, após o receptor de antígenos de CTL reconhecer seu antígeno em uma célula-alvo, o CTL fornece proteínas granuladas que conduzem à morte apoptótica da célula-alvo.*** A morte de células-alvo ocorre 2 a 6 horas após o reconhecimento do antígeno e prossegue mesmo após desacoplamento do CTL. Assim, o CTL executa um golpe letal na célula-alvo. O principal mecanismo de morte de alvos celulares mediada por CTLs é a liberação de proteínas citotóxicas armazenadas dentro de grânulos citoplasmáticos (também chamados lisossomos secretores) na célula-alvo, desencadeando a apoptose da mesma ([Fig. 11-6](#)). Como discutido anteriormente, o reconhecimento da célula-alvo por CTL leva à ativação do CTL, tendo como consequência a reorganização do citoesqueleto. Neste processo, o centro organizador dos microtúbulos do CTL se move para a área do citoplasma perto da área de contato com a célula-alvo. Os grânulos citoplasmáticos do CTL são transportados ao longo dos microtúbulos e tornam-se concentrados na região da sinapse, e os grânulos da membrana fundem-se com a membrana plasmática no domínio secretor. A fusão de membrana resulta na exocitose de conteúdo granuloso dos CTLs para o espaço confinado dentro do anel sináptico, entre as membranas plasmáticas da célula-alvo e do CTL.





**FIGURA 11-6** Mecanismos de morte das células-alvo mediada por CTLs.

CTLs matam células-alvo por dois mecanismos principais. **A**, Complexos de perforina e granzimas são liberados do CTL por exocitose de grânulos e entram nas células-alvo. As granzimas são liberadas no citoplasma das células-alvo por um mecanismo dependente de perforina e induzem a apoptose. **B**, FasL é expresso em CTLs ativados, liga-se ao Fas expresso na superfície das células-alvo e induz a apoptose.

**As principais proteínas citotóxicas dos grânulos de CTLs (e células NK) são granzimas e perforinas. Granzimas A, B, e C são serino-proteases que partilham uma sequência His-Asp-Ser nos seus domínios catalíticos. A granzima B cliva proteínas após resíduos de aspartato, sendo a única inequivocamente necessária para citotoxicidade de CTL *in vivo*. Ela pode ativar caspases que induzem a morte celular (as caspases executoras). Perforina é uma molécula causadora de perturbação membranar que é homóloga da proteína C9 do complemento. Os grânulos também contêm um proteoglicano sulfatado, **serglicina**, que serve para a**

montagem de um complexo contendo perforina e granzimas.

A principal função da perforina é a facilitação da liberação das granzimas dentro do citosol da célula-alvo. A maneira pela qual isso é feito ainda não é bem compreendida. Perforina pode se polimerizar e formar poros aquosos na membrana da célula-alvo, mas esses poros podem não ser de tamanho suficiente para permitir a entrada das granzimas. De acordo com um modelo atual, os complexos de granzima B, perforina e serglicina são liberados dos CTLs nas células-alvo, sendo que a inserção de perforina na membrana da célula-alvo provoca um processo de reparo da membrana, que leva à internalização tanto da perforina quanto de granzimas em endossomos. A perforina pode, então, atuar sobre a membrana endossomal para facilitar a liberação das granzimas no citosol da célula-alvo. Uma vez no citosol, as granzimas clivam vários substratos, incluindo caspases, iniciando a morte da célula por apoptose. Por exemplo, a granzima B ativa caspase 3, assim como um membro da família Bcl-2, denominado Bid, que desencadeia a via mitocondrial de apoptose (Fig. 15-8). Outra proteína encontrada em grânulos de CTLs humanos (e células NK), chamada granulicina, pode alterar a permeabilidade das membranas microbianas e das células-alvo, entretanto a sua importância na morte celular por CTLs não está estabelecida.

Os CTLs também usam um mecanismo de morte independente dos grânulos, que é mediado por interações de moléculas da membrana dos CTLs com as células-alvo. Durante sua ativação, os CTLs expressam uma proteína de membrana denominada **ligante Fas (FasL)**, que se liga ao receptor de morte Fas, que é expresso em muitos tipos celulares. Esta interação também resulta na ativação de caspases e apoptose de alvos que expressam Fas (Fig. 15-8). Estudos com camundongos deficientes em perforina, granzima B ou FasL indicam que perforina e granzima B são os principais mediadores da morte por CTLs CD8<sup>+</sup>. Algumas células T CD4<sup>+</sup>, encontradas no intestino, e muitas vezes induzidas em infecções virais, expressam perforinas e granzimas, e também são capazes de matar as células-alvo (que, naturalmente, devem expressar peptídeos associados ao MHC de classe II para serem reconhecidos pelas células T CD4<sup>+</sup>).

Após o golpe letal, o CTL desacopla da sua célula-alvo, o que geralmente ocorre mesmo antes de a célula-alvo morrer. CTLs em si não sofrem danos durante a morte da célula-alvo, o que se atribui ao fato de que o processo de exocitose dirigida por grânulos durante a morte mediada por CTLs, preferencialmente, entrega os conteúdos granulosos para a célula-alvo longe do CTL. Além disso, os grânulos de CTL contêm uma enzima proteolítica denominada catepsina B, que é exposta à superfície do CTL na exocitose granular, onde ela degrada as moléculas de perforina errantes que vêm para a vizinhança da membrana do CTL.

## Produção de Citocinas pelas Células T CD8<sup>+</sup> Efetoras

**Células T CD8<sup>+</sup> produzem IFN- $\gamma$ , uma citocina ativadora de macrófagos.** Na verdade, a secreção de IFN- $\gamma$  em resposta a peptídeos específicos é um ensaio sensível para a avaliação da presença de células T CD8<sup>+</sup> antígeno-específicas em uma população de linfócitos. A produção desta citocina é outra semelhança entre as células T CD8<sup>+</sup> e as células T<sub>H</sub>1. É provável que estes dois subconjuntos de células T contribuam para a eliminação fagocítica de micróbios induzida por IFN- $\gamma$ . As células CD8<sup>+</sup> podem também desempenhar um papel em algumas reações inflamatórias induzidas por citocinas, tais como reações cutâneas de sensibilidade de contato induzida por produtos químicos ambientais, em que as células T CD8<sup>+</sup> produtoras de IFN- $\gamma$  algumas vezes chegam mais cedo e em maior número do que as células T CD4<sup>+</sup>.

## Funções dos CTLs CD8<sup>+</sup> na defesa do hospedeiro

**Em infecções por micróbios intracelulares, a atividade citolítica dos CTLs é importante para a erradicação do reservatório de infecção** (Fig. 10-1, B). Isso é particularmente importante em dois tipos de situações nas quais as células não podem destruir micróbios que as infectam. Em primeiro lugar, a maioria dos vírus vive e se replica em células que não possuem a maquinaria fagossomo/lisossomo para destruir micróbios (tais como os vírus da hepatite em células do fígado). Em segundo lugar, mesmo em fagócitos, alguns micróbios escapam das vesículas e vivem no citoplasma, onde mecanismos microbicidas são ineficazes, uma vez que os mesmos são em grande parte restritos a vesículas (para proteger as células dos danos). Essas infecções podem ser eliminadas apenas pela destruição das células infectadas, e em respostas imunes adaptativas, os CTLs CD8<sup>+</sup> constituem o principal mecanismo para matar as células infectadas (Fig. 16-4). Além disso, as caspases que são ativadas nas células-alvo por granzimas e FasL clivam vários substratos e ativam as enzimas que degradam o DNA, mas elas não distinguem entre as proteínas microbianas e as do hospedeiro. Por conseguinte, por meio da ativação de nucleases nas células-alvo, os CTLs podem iniciar a destruição do DNA microbiano, bem como do genoma da célula-alvo, eliminando, desse modo, o DNA potencialmente infeccioso. A enorme expansão de células T CD8<sup>+</sup> que se segue às infecções (Fig. 9-12) fornece um grande arsenal de CTLs para combatê-las. Defeitos no desenvolvimento e na atividade dos CTLs resultam em aumento da suscetibilidade a infecções virais e algumas infecções bacterianas e reativação de infecções virais latentes (como a infecção pelo vírus Epstein-Barr), que normalmente são mantidas em xeque pelos CTLs específicos de vírus.

Além do seu papel de eliminar as células infectadas por vírus, os CTLs parecem ser cruciais na defesa do hospedeiro contra certas bactérias intracelulares, incluindo

*Mycobacterium tuberculosis*, e na eliminação de um número de outros organismos, incluindo o parasita protozoário causador da malária (Cap. 16).

***Destruição de células infectadas por CTLs é uma causa de lesão tecidual em algumas doenças infecciosas.*** Por exemplo, nos casos de infecção pelos vírus da hepatite B e C, as células do fígado infectadas são mortas pela resposta do hospedeiro mediada por CTLs (e células NK) e não pelos vírus. Estes vírus não são citopáticos, mas o hospedeiro sente e reage contra o micróbio infeccioso e não é capaz de distinguir os micróbios que são intrinsecamente prejudiciais ou relativamente inofensivos (Cap. 19).

***CTLs são importantes mediadores da imunidade contra tumores e na rejeição de transplantes de órgãos.*** Estas funções dos CTLs serão descritas em capítulos posteriores.

## Resumo

Células T do subtipo  $CD8^+$  se proliferam e diferenciam em linfócitos T citotóxicos (CTLs), que expressam grânulos citotóxicos e podem matar células infectadas.

A diferenciação das células T  $CD8^+$  em CTLs funcionais e células de memória requer o reconhecimento do antígeno apresentado pelas células dendríticas, sinais de células T  $CD4^+$  auxiliares em algumas situações, coestimulação e citocinas. A diferenciação em CTLs envolve a aquisição da maquinaria para matar as células-alvo e é determinada por vários fatores de transcrição.

Em algumas situações de exposição crônica a antígenos (p. ex., tumores e infecções virais crônicas), as células T  $CD8^+$  iniciam uma resposta, mas começam a expressar receptores inibitórios que suprimem a resposta, um processo chamado de exaustão.

Os CTLs  $CD8^+$  matam as células que expressam os peptídeos derivados de antígenos citossólicos (p. ex., antígenos virais) que são apresentados em associação com moléculas MHC de classe I. A morte mediada por CTLs é mediada principalmente por exocitose de grânulos, que liberam granzimas e perforina. A perforina facilita a entrada da granzima no citoplasma das células-alvo, e as granzimas iniciam diversas vias que levam à apoptose.

As células T  $CD8^+$  também secretam IFN- $\gamma$  e, portanto, podem participar na defesa contra micróbios fagocitados e em reações de DTH.

## Leituras selecionadas

### Ativação de Células T $CD8^+$

- Castellino, F., Germain, R. N. Cooperation between CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells: when, where, and how. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:519–540.
- Kaech, S. M., Cui, W. Transcriptional control of effector and memory CD8<sup>+</sup> T cell differentiation. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:749–761.
- Masopust, D., Vezys, V., Wherry, E. J., Ahmed, R. A brief history of CD8<sup>+</sup> T cells. *European Journal of Immunology*. 2007; 37:S103–S110.
- Wherry, E. J. T cell exhaustion. *Nature Immunology*. 2011; 12:492–499.
- Williams, M. A., Bevan, M. J. Effector and memory CTL differentiation. *Annual Review of Immunology*. 2007; 25:171–192.
- Zhang, N., Bevan, M. J. CD8<sup>+</sup> T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity*. 2011; 35:161–168.

### **Funções dos Linfócitos T Citotóxicos**

- Bossi, G., Griffiths, G. M. CTL secretory lysosomes: biogenesis and secretion of a harmful organelle. *Seminars in Immunology*. 2005; 17:87–94.
- Lieberman, J. The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nature Reviews Immunology*. 2003; 3:361–370.
- Wong, P., Pamer, E. G. CD8 T cell responses to infectious pathogens. *Annual Review of Immunology*. 2003; 21:29–70.

## CAPÍTULO 12

# Ativação da Célula B e Produção de Anticorpos

### VISÃO GERAL DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL

#### RECONHECIMENTO DO ANTÍGENO E ATIVAÇÃO DA CÉLULA B INDUZIDA PELO ANTÍGENO

Captura do Antígeno e Apresentação para a Célula B

Ativação da Célula B por Antígenos e Outros Sinais

Respostas Funcionais das Células B a Antígenos

#### RESPOSTAS DE ANTICORPOS DEPENDENTES DE CÉLULAS T-AUXILIARES A ANTÍGENOS PROTEICOS

Sequência de Eventos Durante a Resposta de Anticorpo Dependente de Célula T

Ativação Inicial e Migração de Células B e T Auxiliares

Apresentação de Antígeno pelas Células B e o Efeito Carreador de Haptenos

Papel do CD40L: Interação do CD40 na Ativação da Célula B Dependente de T

Ativação de Células B Extrafoliares

Reação do Centro Germinativo

Indução de Células T Auxiliares Foliculares

Troca de Isótipo (Classe) da Cadeia Pesada

Maturação de afinidade: Mutações Somáticas dos Genes Ig e Seleção de Células B de Alta Afinidade

Diferenciação da Célula B em Plasmócitos Secretores de Anticorpos

Geração de Células B de Memória

Papel dos Reguladores Transcrpcionais na Determinação do Destino das Células B Ativadas

#### RESPOSTAS DE ANTICORPOS A ANTÍGENOS T-INDEPENDENTES

Subpopulações de Células B que Respondem aos Antígenos T-independentes

Mecanismos de Respostas de Anticorpos T independentes



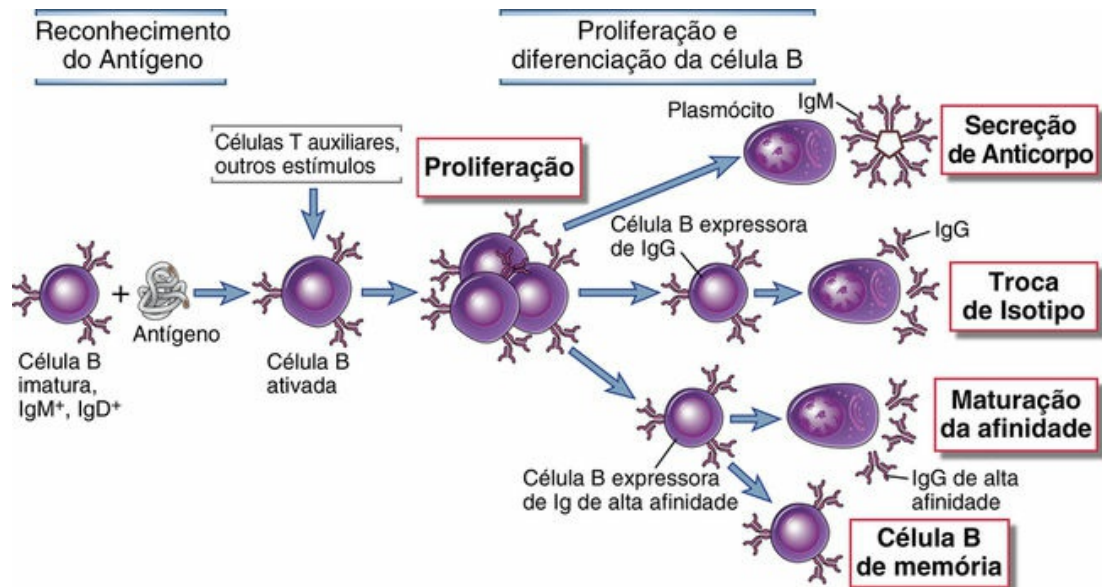
A imunidade humoral é mediada por anticorpos secretados, produzidos por células da linhagem de linfócitos B. Este capítulo descreve os eventos celulares e moleculares da resposta imune humoral, particularmente os estímulos que induzem a proliferação e a diferenciação de células B; e como esses estímulos influenciam o tipo de anticorpo produzido. Os mecanismos pelos quais os anticorpos eliminam microrganismos são descritos no [Capítulo 13](#).

## Visão geral da resposta imune humoral

Os primeiros estudos da imunidade adaptativa foram dedicados a análises de anticorpos séricos produzidos em resposta aos microrganismos, toxinas e modelos antigênicos. Grande parte de nossa atual compreensão da resposta imune adaptativa e das interações celulares que ocorrem durante essas respostas evoluíram a partir de estudos sobre a produção de anticorpos. Começamos com um resumo de algumas das principais características da ativação das células B e da produção de anticorpos.

- **A ativação de células B resulta em sua proliferação, o que leva à expansão clonal, seguida por diferenciação, culminando na geração de plasmócitos secretores de anticorpos e de células B de memória** ([Fig. 12-1](#)). Como foi discutido no [Capítulo 8](#), os linfócitos B maduros responsivos ao antígeno se desenvolvem a partir de células precursoras da medula óssea antes da estimulação antigênica e povoam os órgãos linfoides periféricos, que são os locais onde os linfócitos interagem com antígenos estranhos. As respostas imunes humorais são iniciadas pelo reconhecimento de antígenos por linfócitos B específicos. O antígeno liga-se às imunoglobulinas M (IgM) e IgD de membrana nas células B virgens maduras e as ativa. A ativação leva à proliferação de células específicas para o antígeno e à sua diferenciação, gerando plasmócitos secretores de anticorpos e células B de memória. Uma única célula B pode, dentro de uma semana, dar origem a um máximo de 5.000 células secretoras de anticorpos, as quais produzem em conjunto mais do que  $10^{12}$  moléculas de anticorpo por dia. Esta gigantesca expansão é necessária para manter o mesmo ritmo dos microrganismos que se dividem rapidamente. Algumas células B ativadas começam a produzir outros tipos de anticorpos além da IgM e IgD; este processo é chamado de **troca de isotipo (classe) de cadeia pesada**. Conforme uma resposta imune humoral se desenvolve, células B ativadas produtoras de

anticorpos que se ligam a antígenos com afinidade crescente passam a dominar progressivamente a resposta; este processo é chamado de **maturação da afinidade**.



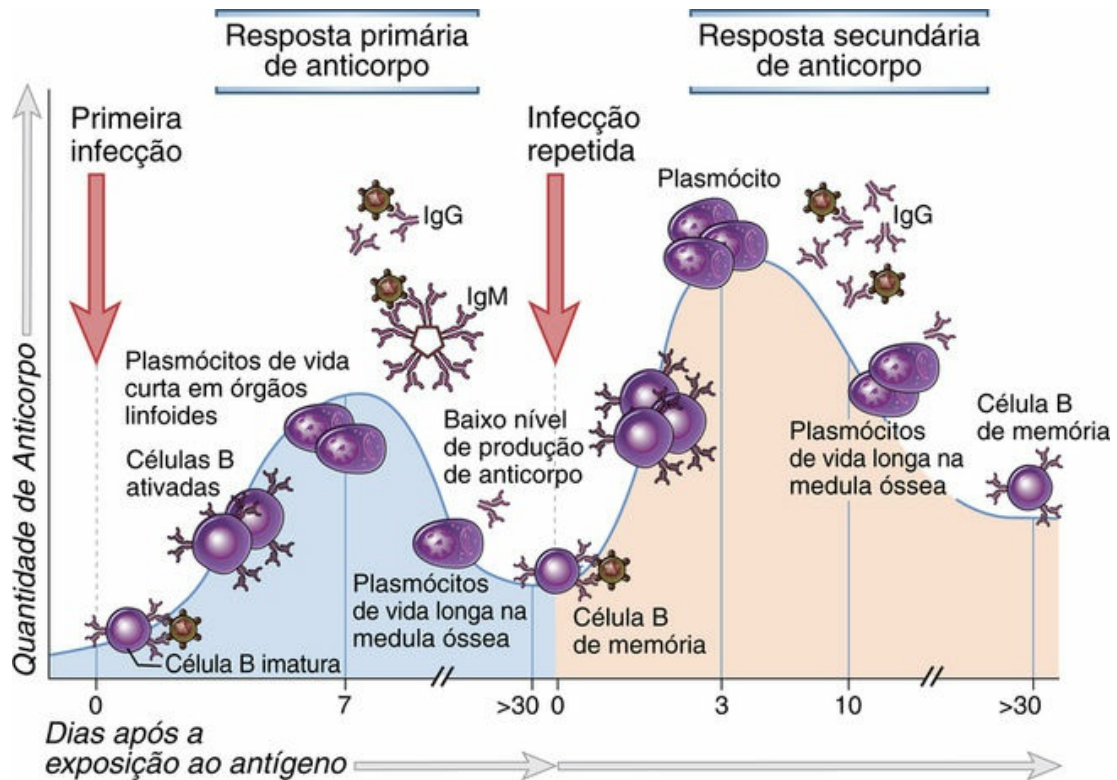
**FIGURA 12-1** Fases da resposta imune humoral.

A ativação das células B é iniciada pelo reconhecimento específico de antígenos por meio dos receptores Ig de superfície das células. O antígeno e outros estímulos, incluindo as células T auxiliares, estimulam a proliferação e a diferenciação de clones específicos de células B. A progênie do clone pode se diferenciar em plasmócitos que produzem IgM ou outros isotipos de Ig (p. ex., IgG), pode sofrer maturação da afinidade ou pode persistir como células de memória.

- **O tipo e a quantidade de anticorpos produzidos variam de acordo com o tipo de antígeno que induz a resposta imune, o envolvimento de células T, exposição prévia ao antígeno e o local anatômico no qual ocorre a ativação.** A influência desses fatores sobre a resposta imune humoral será discutida em detalhes mais adiante neste capítulo.
- **As respostas de anticorpos a antígenos proteicos requerem que o antígeno seja internalizado por células B específicas, processados e seus peptídeos apresentados aos linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup>, que por sua vez ativam as células B.** Por esta razão, as proteínas são classificadas como antígenos T-dependentes. O termo *linfócito T auxiliar* surgiu a partir da constatação de que as células T estimulam, ou auxiliam, os linfócitos B a produzir anticorpos. Um tipo especializado de célula T auxiliar, denominada **célula T auxiliar folicular**, facilita a

formação de centros germinativos, os quais são estruturas geradas em órgãos linfoides, onde ocorrem vários eventos relacionados às respostas imunitárias humorais T-dependentes.

- **As respostas de anticorpos para antígenos multivalentes não proteicos com determinantes repetitivos, tais como polissacarídeos, alguns lipídios e ácidos nucleicos, não requerem a participação de linfócitos T auxiliares antígeno-específicos.** Antígenos multivalentes (assim chamados porque cada molécula de antígeno contém vários epítomos idênticos) são, portanto, denominados **antígenos T independentes**. Essas respostas são induzidas por um acoplamento ao receptor da célula B (BCR) e podem ser incrementadas pelos sinais de outros receptores sobre as células B.
- **As células B ativadas se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos.** Em respostas T dependentes, os plasmócitos ou seus precursores migram dos centros germinativos em órgãos linfoides periféricos, onde são produzidos, para a medula óssea, onde podem viver por muitos anos. Esses plasmócitos de vida longa secretam continuamente anticorpos que proporcionam proteção imediata sempre que um microrganismo que pode ser reconhecido por esses anticorpos infecta o indivíduo.
- **Algumas linhagens de célula B ativadas de forma T dependente podem se diferenciar em células de memória.** Estas células B de memória sobrevivem em um estado de repouso, sem secretar anticorpos, por muitos anos; mas elas montam respostas rápidas em encontros posteriores com o antígeno.
- **A troca de isotipo e a maturação da afinidade são caracteristicamente observadas em respostas imunes humorais T dependentes a antígenos proteicos.** Esses dois processos resultam da estimulação de células B por células T auxiliares. Os sinais das células T que direcionam a troca de isotipo e a maturação da afinidade, e seus mecanismos moleculares e significado funcional, serão discutidos mais adiante neste capítulo.
- **As respostas humorais primárias e secundárias contra antígenos proteicos diferem qualitativamente e quantitativamente (Fig. 12-2).** As respostas primárias resultam da ativação de células B imaturas nunca estimuladas previamente, ao passo que as respostas secundárias ocorrem após a estimulação dos clones expandidos de células B de memória. Portanto, a resposta secundária se desenvolve mais rapidamente do que a resposta primária e as quantidades de anticorpos produzidos são maiores na resposta secundária. A troca de isotipo de cadeia pesada e a maturação da afinidade também aumentam com a exposição repetida a antígenos proteicos.

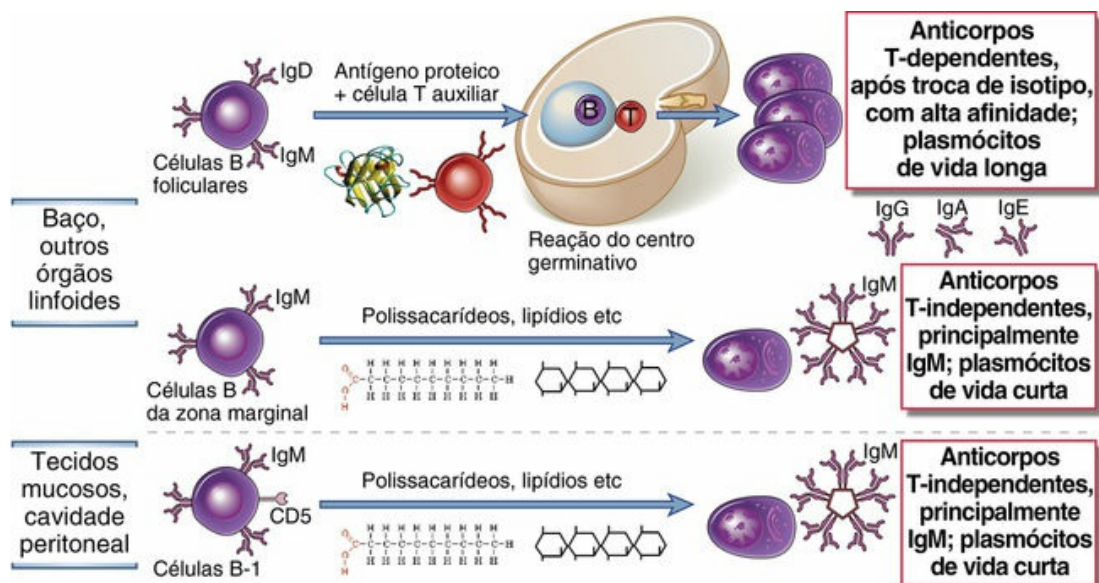


Característica	Resposta primária	Resposta secundária
Pico de resposta	Menor	Maior
Isotipo	Geralmente IgM > IgG	Aumento relativo em IgG e, em determinadas situações, em IgA ou IgE
Afinidade do anticorpo	Afinidade média mais baixa, mais variável	Afinidade média mais alta (maturação da afinidade)
Induzido por	Todos os imunógenos	Principalmente antígenos proteicos

**FIGURA 12-2** Respostas imunes humorais primária e secundária.

Em uma resposta imune primária, as células B imaturas são estimuladas pelo antígeno, tornam-se ativadas e se diferenciam em células secretoras de anticorpos que produzem anticorpos específicos para o antígeno que desencadeou seu desenvolvimento. Uma resposta imune secundária é induzida quando o mesmo antígeno estimula as células B de memória, levando à produção de maiores quantidades de anticorpo específico em comparação à produção observada na resposta primária. Observe que as características da resposta secundária de anticorpos resumidas na tabela são típicas das respostas de anticorpos T-dependentes a antígenos proteicos.

- **Subpopulações distintas de células B respondem preferencialmente a diferentes tipos de antígenos** (Fig. 12-3). Células B foliculares em órgãos linfoides periféricos respondem principalmente produzindo anticorpos contra antígenos proteicos que requerem a colaboração com as células T auxiliares. Já as células B da zona marginal no baço e em outros tecidos linfoides reconhecem antígenos multivalentes, tais como polissacarídeos disseminados pela circulação sanguínea e montam respostas de anticorpos principalmente T-independentes. As células B-1 presentes em tecidos de mucosa e no peritônio também medeiam respostas em grande parte independentes de T.



**FIGURA 12-3** Subpopulações distintas de células B medeiam diferentes tipos de respostas de anticorpos. As células B foliculares respondem a antígenos proteicos e, portanto, iniciam respostas humorais T-dependentes. As respostas T-independentes a antígenos multivalentes são mediadas principalmente pelas células B da zona marginal no baço e por células B-1 na mucosa. Essas distinções funcionais entre as subpopulações não são absolutas.

Com base no exposto até aqui, passamos a uma discussão sobre a ativação de células B, começando com a interação do antígeno com essas células. Iremos, em seguida, descrever o papel das células T auxiliares na resposta das células B a antígenos proteicos e os mecanismos de troca de isotipo e maturação da afinidade. Concluímos com uma discussão sobre as respostas de anticorpos T-independentes.



## Reconhecimento do antígeno e ativação da célula B induzida pelo antígeno

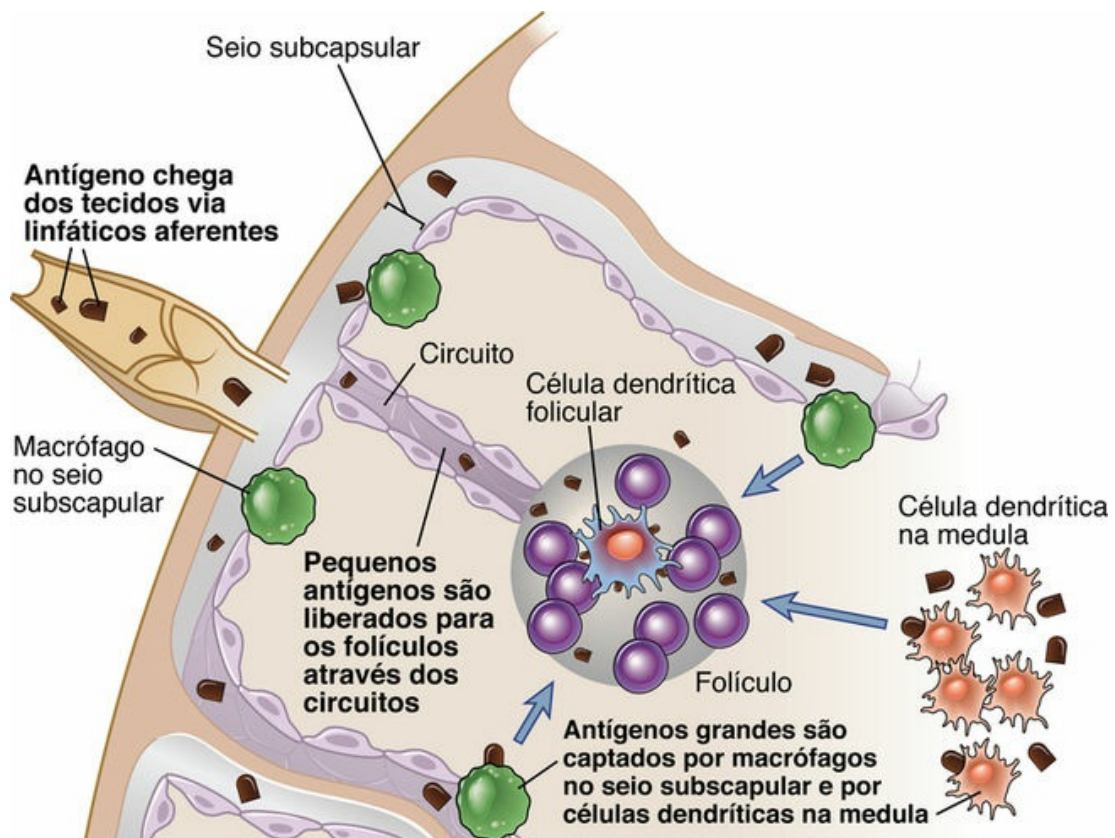
Para iniciar as respostas de anticorpos, os antígenos precisam ser capturados e transportados para as áreas onde ficam as células B nos órgãos linfoides. Os antígenos, então, iniciam o processo de ativação da célula B, geralmente trabalhando em conjunto com outros sinais que são gerados durante as respostas imunes inatas desencadeadas por microrganismos durante as infecções ou por adjuvantes em vacinas. A seguir, descreveremos estes eventos iniciais na ativação da célula B.

### Captura do Antígeno e Apresentação para a Célula B

A maior parte dos linfócitos B virgens maduros são células B foliculares (às vezes também chamadas de células B recirculantes) que recirculam continuamente no sangue e migram de um órgão linfóide secundário para o seguinte em busca de antígeno. As células B foliculares entram nos tecidos linfóides secundários (baço, linfonodos, tecidos linfóides de mucosa) através de vasos sanguíneos localizados nas zonas das células T e, em seguida, migram para os folículos, as zonas de célula B desses tecidos. O movimento para os folículos linfóides é guiado pela quimiocina CXCL13, secretada por células dendríticas foliculares, o principal tipo celular do estroma folicular, bem como por outras células estromais. CXCL13 liga-se ao receptor de quimiocina CXCR5 na superfície das células B imaturas recirculantes e atraem essas células para os folículos. Como discutiremos posteriormente, o mesmo par de receptores e quimiocinas também é importante durante a resposta imune, uma vez que pode atrair uma subpopulação de células T ativadas para o folículo.

***O antígeno pode ser apresentado para as células B imaturas nos órgãos linfóides de diferentes formas e por várias rotas.*** Os antígenos que entram atravessando uma barreira epitelial e aqueles que se encontram na circulação são coletados e levados para os folículos por diversos mecanismos (Fig. 12-4).





**FIGURA 12-4** Vias de liberação do antígeno para as células B foliculares.

Pequenos antígenos são apresentados às células B nos folículos por meio dos vasos linfáticos aferentes e via circuitos, ao passo que antígenos maiores são apresentados por macrófagos do seio subcapsular ou por células dendríticas na medula.

- A maior parte dos antígenos provenientes de locais em tecido são transportados para os linfonodos por vasos linfáticos aferentes que drenam para o seio subcapsular dos linfonodos. Os antígenos solúveis, geralmente com menos de 70 kD, podem alcançar a zona de células B através de circuitos que se estendem entre o seio subcapsular e o folículo e interagem diretamente com as células B específicas.
- Os macrófagos do seio subcapsular capturam grandes microrganismos e complexos antígeno-anticorpo e os apresentam nos folículos, que ficam abaixo do seio.
- Muitos antígenos relativamente grandes que entram no linfonodo através dos vasos linfáticos aferentes não são capturados pelos macrófagos do seio subcapsular e são grandes demais para entrar nos circuitos. Estes antígenos podem ser capturados na região medular por células dendríticas residentes e transportados para os folículos, onde podem ativar as células B.

- Antígenos de imunocomplexos podem se ligar a receptores do complemento (particularmente, ao receptor do complemento do tipo 2 ou CR2) em células B da zona marginal, e estas células, então, podem transferir os antígenos contendo imunocomplexos para as células B foliculares.
- Os imunocomplexos também podem se ligar ao receptor do complemento CR2 na superfície das células dendríticas foliculares e os antígenos presentes nesses complexos são então apresentados às células B antígeno-específicas.
- Patógenos transportados pelo sangue podem ser capturados por células dendríticas plasmocitoides presentes na circulação sanguínea e transportados para o baço, onde podem ser apresentados a células B da zona marginal.
- Antígenos de polissacarídeos podem ser capturados por macrófagos da zona marginal dos folículos linfóides esplênicos e apresentados ou transferidos para as células B desta área.

Em todos esses casos, **o antígeno que é apresentado às células B está, em geral, em sua conformação nativa, intacta, e não é processado por células apresentadoras de antígenos.** Isto, naturalmente, é uma das diferenças importantes entre as formas de reconhecimento de antígenos por linfócitos B e T (Cap. 6).

## Ativação da Célula B por Antígenos e Outros Sinais

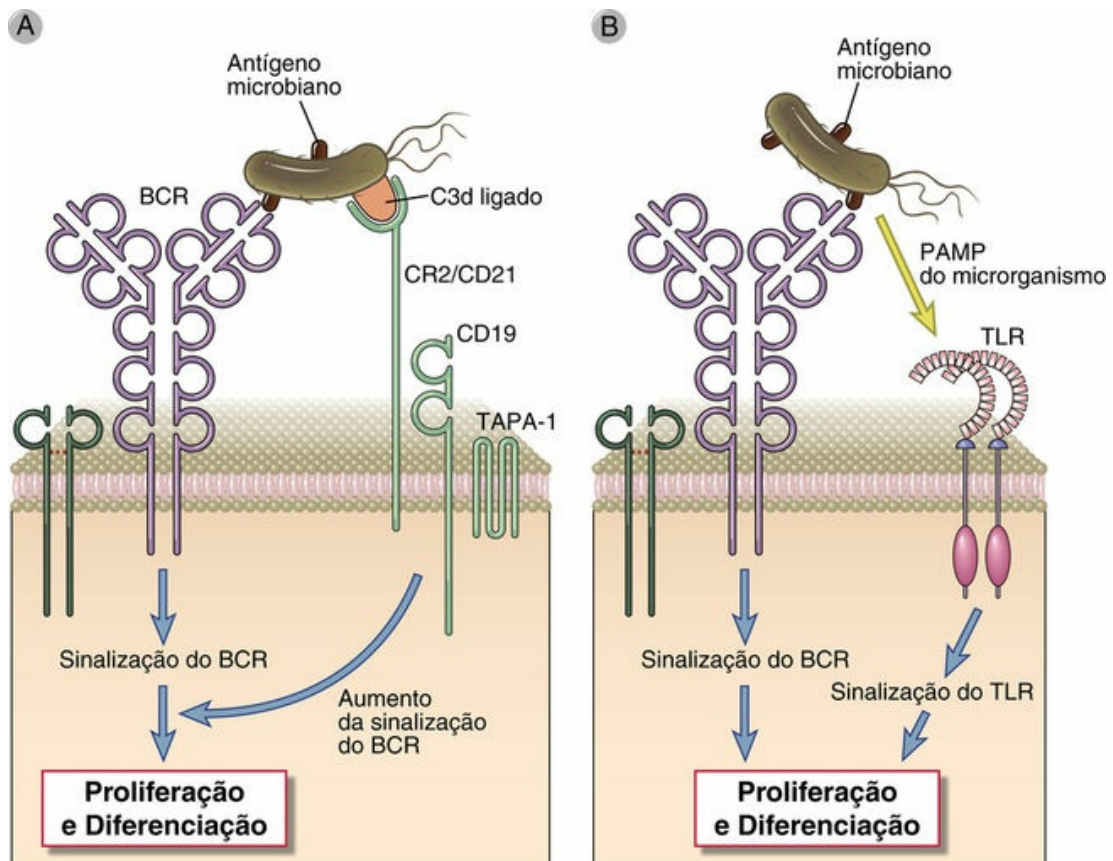
**O antígeno e as citocinas desempenham um papel importante na sobrevivência das células B imaturas.** As células B foliculares imaturas sobrevivem por períodos limitados até encontrarem antígeno (Cap. 2). A sobrevivência das células B foliculares depende dos sinais do BCR, bem como dos estímulos recebidos de uma citocina da superfamília do fator de necrose tumoral (TNF) chamada BAFF (do inglês, *Célula B-activating factor of the TNF family*, também conhecida como BLyS, de *B lymphocyte stimulator*), que fornece sinais de maturação e de sobrevivência através do receptor de BAFF. BAFF e um ligante relacionado, APRIL, podem ativar dois outros receptores, TACI e BCMA, que participam em estágios mais avançados da ativação e da diferenciação de células B (e será discutido adiante). Estas citocinas são produzidas principalmente por células mielóides em folículos linfóides e na medula óssea.

**A ativação dos linfócitos B antígeno-específicos é iniciada pela ligação do antígeno às moléculas de Ig de membrana, que, em conjunto com as proteínas associadas Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ , constituem o complexo receptor de antígeno de células B maduras.** O receptor de antígeno do linfócito B, descrito no Capítulo 7, exerce duas funções essenciais na ativação da célula B. Primeiro, a ligação do antígeno ao receptor libera sinais bioquímicos às células B, que iniciam o processo de ativação (Cap. 7). Segundo, o receptor internaliza o antígeno ligado em vesículas endossomais e, se o antígeno for uma proteína, ele é processado em peptídeos que podem ser apresentados na superfície da célula B para o reconhecimento por células

T auxiliares. Esta função de apresentação de antígenos das células B será considerada mais adiante no contexto da ativação T dependente da célula B.

Embora o reconhecimento do antígeno possa iniciar respostas de células B, por si só, geralmente esse evento isolado é inadequado para estimular de forma significativa a proliferação e a diferenciação das células B. Para que uma resposta completa seja induzida, outros estímulos são requeridos a fim de cooperar com o acoplamento do BCR, incluindo as proteínas do complemento, receptores de reconhecimento de padrões e, no caso de antígenos proteicos, as células T auxiliares (discutido mais adiante).

***A ativação da célula B é facilitada pelo correceptor CR2/CD21 em células B, que reconhece fragmentos de complemento covalentemente ligados ao antígeno ou que fazem parte dos imunocomplexos contendo o antígeno*** (Fig. 12-5., A). A ativação do complemento é tipicamente observada com microrganismos que ativam este sistema pela via alternativa e pela via das lectinas na ausência de anticorpos; e pela via clássica na presença de anticorpos (Caps. 4 e 13). Em todas estas situações, ocorre geração de fragmentos do complemento capazes de se ligar aos microrganismos. Um desses fragmentos, chamado C3d, é reconhecido pelo receptor do complemento CR2 (também chamado CD21), o que aumenta a força de sinalização do BCR e, portanto, funciona como um correceptor para a células B (Cap. 7). Alguns polissacarídeos não microbianos também ativam o complemento pela via alternativa ou das lectinas e esta é uma razão por que tais antígenos são capazes de induzir respostas de anticorpos sem a ajuda das células T.



**FIGURA 12-5** Papel dos receptores CR2 e do tipo Toll na ativação da célula B.

Nas respostas imunes a microrganismos, a ativação das células B através do BCR pode ser aumentada pelo antígeno recoberto por proteínas do complemento, que podem se ligar tanto ao BCR quanto ao receptor do complemento 2 (CR2) (A), e também por ativação simultânea dos receptores do tipo Toll (TLRs) nas células B por moléculas derivadas dos microrganismos (padrões moleculares associados a patógenos [PAMPs]) (B).

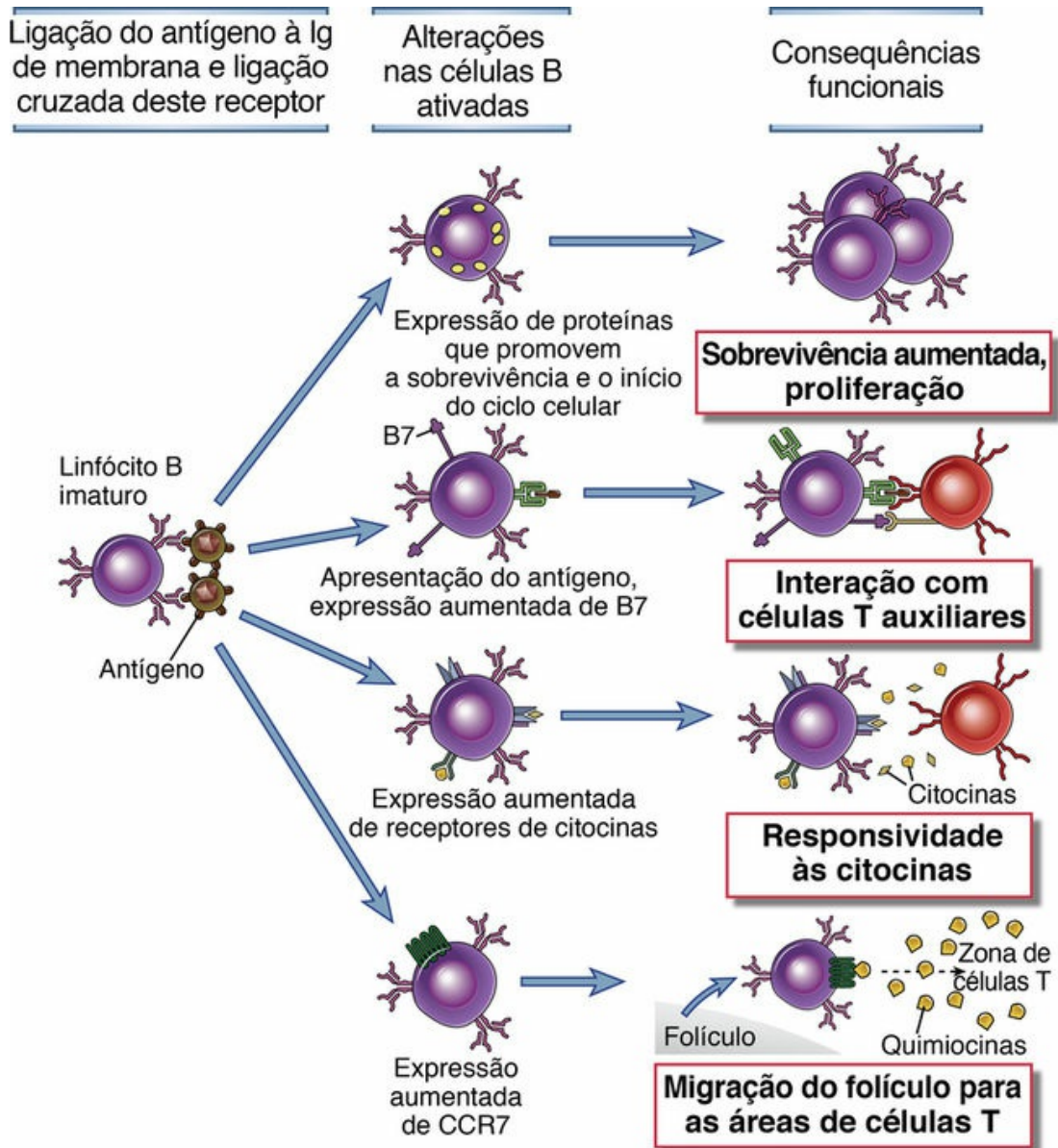
**Os produtos microbianos se acoplam aos receptores do tipo Toll nas células B, o que também aumenta a ativação dessa célula** (Fig. 12-5, B). As células B humanas expressam diversos TLRs, incluindo TLR5, que reconhece a flagelina bacteriana; TLR7 endossomal, que reconhece RNA de cadeia simples; e TLR9, que é específico para DNA não metilado rico em CpG em endosomas (Cap. 4). As células B murinas (mas não as humanas) também expressam TLR4, capaz de reconhecer LPS, em sua superfície. Estes receptores de reconhecimento de padrão fornecem sinais que aumentam ou cooperam com os do receptor de células B durante a ativação celular. Além disso, a ativação de células mieloides através de receptores de reconhecimento de padrões pode promover a ativação das células B indiretamente de duas maneiras. As células dendríticas ativadas por meio de TLRs

contribuem significativamente para a ativação da célula T auxiliar que, por sua vez, estimula as células B em resposta a antígenos proteicos. As células mieloides ativadas por TLRs podem secretar APRIL e BAFF, citocinas que podem induzir respostas T-independentes de células B.

## Respostas Funcionais das Células B a Antígenos

**Eventos celulares distintos são induzidos pela ligação cruzada do BCR mediada pelo antígeno, diferentes tipos de antígeno: os antígenos multivalentes iniciam a proliferação e a diferenciação da célula B e os antígenos proteicos preparam as células B para interações subsequentes com as células T auxiliares.** A ligação cruzada do receptor de antígeno provocada por alguns antígenos pode estimular diversas alterações importantes nas células B (Fig. 12-6). Em resposta a antígenos multivalentes, as células que se encontravam em estado de repouso entram no estágio G1 do ciclo celular e isso é acompanhado por aumento no tamanho celular, no RNA citoplasmático e na biossíntese de organelas, tais como os ribossomos. Algumas células B se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos de vida curta. A sobrevivência das células B estimuladas aumenta devido à produção de proteínas antiapoptóticas, particularmente Bcl-2 (Fig. 15-8). A ativação das células B pelo antígeno resulta em aumento da expressão de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) e de coestimuladoras B7, motivo pelo qual as células B estimuladas pelo antígeno são ativadoras mais eficientes dos linfócitos T auxiliares do que as células B imaturas. A expressão de receptores para várias citocinas derivadas de células T também fica aumentada, o que permite que os linfócitos B estimulados pelo antígenos respondam às citocinas secretadas pelas células T auxiliares. A expressão de receptores de quimiocinas pode ser alterada, resultando no tráfico de células B para fora dos folículos.





**FIGURA 12-6** Respostas funcionais induzidas pela ligação cruzada mediada pelo antígeno ao complexo BCR. A ligação cruzada induzida pelo antígeno ao receptor antígeno da célula B induz diversas respostas celulares, incluindo: a produção de proteínas que promovem a sobrevivência e a proliferação, expressão de moléculas coestimuladoras e de receptores de citocinas que promovem interações com responsividade a células T auxiliares, além da migração das células ao encontro das células T como resultado da expressão de CCR7.

A importância da sinalização pelo complexo BCR para as subsequentes respostas celulares varia conforme a natureza do antígeno. A maior parte dos antígenos T-independentes tais como polissacarídeos, contém múltiplos epítopos idênticos em



cada molécula ou dispostos sobre a superfície de uma célula. Esses antígenos multivalentes podem promover, efetivamente, a ligação cruzada de muitos receptores antigênicos da célula B e iniciar respostas ainda que não sejam reconhecidos pelos linfócitos T auxiliares. Em contrapartida, muitos antígenos proteicos globulares de ocorrência natural possuem apenas uma cópia de cada epítipo por molécula. Dessa forma, esses antígenos proteicos não podem se ligar cruzadamente e ao mesmo tempo em múltiplas moléculas de Ig e sua capacidade de ativar o BCR fica limitada e, por esta razão, eles geralmente não induzem sinais que podem levar à proliferação e à diferenciação da célula B. Eles são, no entanto, suficientes para influenciar a sobrevivência, induzir alterações na expressão dos receptores de quimiocina e promover a endocitose do antígeno. Alguns antígenos proteicos podem ser exibidos como matrizes multivalentes nas superfícies microbianas ou de células, ou podem se comportar como antígenos multivalentes porque se apresentam em agregados.

Os antígenos proteicos também são internalizados pelo BCR, processados e apresentados como peptídios ligados a moléculas de MHC a células T auxiliares, que, por sua vez, são potentes estimuladoras da proliferação e diferenciação dos linfócitos B. Na verdade, em respostas dependentes de T, uma importante função da Ig de membrana é não provocar a proliferação e a diferenciação, mas sim, facilitar a ligação e a internalização do antígeno para apresentação subsequente a células T auxiliares.

Após o reconhecimento específico do antígeno pelas células B, as etapas subsequentes das respostas imunes humorais são muito diferentes, dependendo se são T dependentes ou T-independentes. A seguir, descreveremos a ativação de células B por antígenos proteicos e por células T auxiliares.

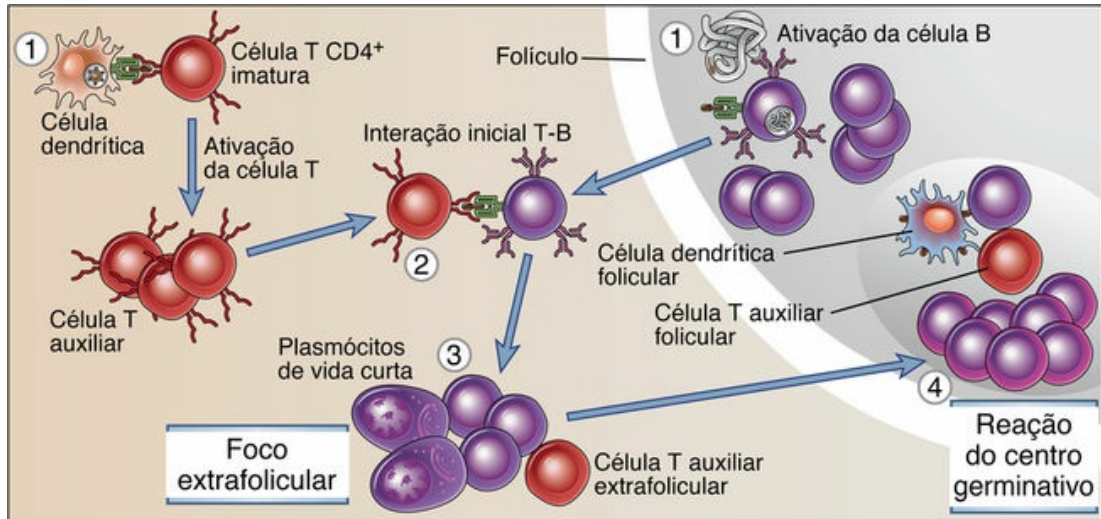
## **Respostas de anticorpos dependentes de células T- auxiliares a antígenos proteicos**

A função de auxiliar de linfócitos T foi descoberta por experimentos realizados na década de 1960, que mostraram que as respostas de anticorpos necessitavam de uma cooperação de duas populações celulares diferentes, as quais foram posteriormente denominadas células B e T. Estes estudos experimentais clássicos constituíram uma prova formal inicial da importância das interações entre duas populações diferentes de células do sistema imunológico. Muitos anos foram ainda necessários para estabelecer que a maioria das células T auxiliares são linfócitos  $CD4^+CD8^-$  que reconhecem peptídios antigênicos apresentados por moléculas de MHC de classe II.

Uma das importantes realizações da imunologia foi a elucidação dos mecanismos de interações entre as células T e B e as ações das células T auxiliares na resposta de anticorpos.

## Sequência de Eventos Durante a Resposta de Anticorpo Dependente de Célula T

***Antígenos proteicos são reconhecidos por linfócitos B e T específicos nos órgãos linfóides periféricos e as populações de células ativadas se reúnem nesses órgãos para iniciar as respostas imunes humorais (Fig. 12-7).*** A interação entre as células T auxiliares e os linfócitos B é iniciada pelo reconhecimento do mesmo antígeno proteico pelos dois tipos celulares e segue uma sequência precisa de eventos. As células T CD4<sup>+</sup> imaturas são ativadas pelo antígeno (sob a forma de peptídeos processados) nas zonas das células T por meio da apresentação por células dendríticas e, então, diferenciam-se em células T auxiliares. As células B imaturas são ativadas nos folículos pelo mesmo antígeno (em sua conformação nativa) que foi transportado para lá. As células T auxiliares e as células B ativadas migram em direção uma à outra e interagem nas bordas dos folículos, onde a resposta inicial de anticorpo se desenvolve. Algumas das células migram de volta para os folículos para formar os centros germinativos, nos quais uma resposta de anticorpos mais especializada é montada. Adiante, descreveremos cada uma dessas etapas em detalhes.



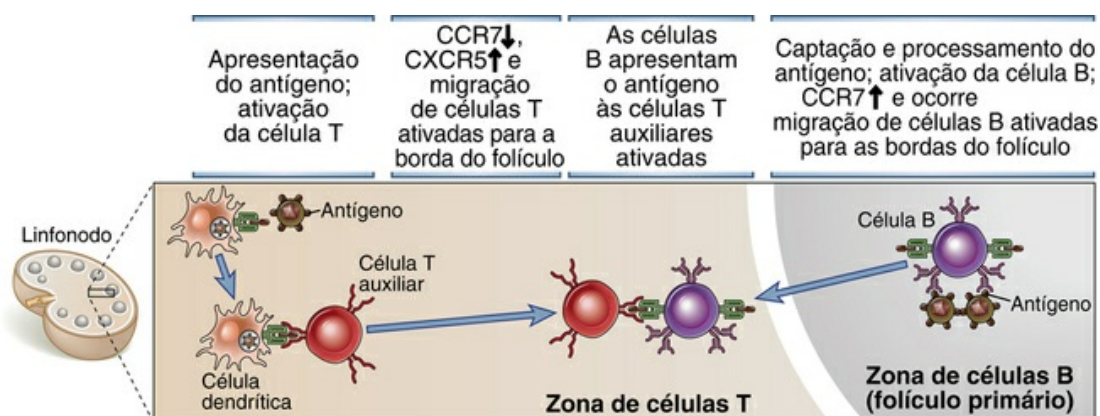
**FIGURA 12-7** Sequência de eventos nas respostas imunes humorais a antígenos proteicos T-dependentes.

(1) As respostas imunes são iniciadas pelo reconhecimento dos antígenos pelas células B e pelas células T CD4<sup>+</sup>. (2) Os linfócitos ativados migram um em direção ao outro e interagem, resultando na proliferação e diferenciação da célula B. (3) A reestimulação das células B pelas células T auxiliares em locais extrafoliculares leva à troca de isotipo precoce e geração de plasmócitos de vida curta, ao passo que a ativação das células T por células B resulta na indução de células T auxiliares foliculares. (4) Os eventos posteriores ocorrem nos centros germinativos e incluem a mutação somática e a seleção de células de alta-afinidade (maturação da afinidade), troca de isotipo adicional, geração de células B de memória e a geração de plasmócitos de vida longa.

## Ativação Inicial e Migração de Células B e T Auxiliares

**A ativação de células B e T específicas para o mesmo antígeno é essencial para a interação funcional entre essas duas células e as aproxima para aumentar a probabilidade de encontro entre elas (Fig. 12-8).** A frequência de células B e T imaturas específicas para um dado epítipo de um antígeno muito baixa, algo como 1 em 10<sup>5</sup> a 1 em 10<sup>6</sup> linfócitos; e as células B e T específicas precisam se encontrar e interagir fisicamente para gerar uma forte resposta de anticorpos. Isto é alcançado, em parte, por um movimento regulado das células após o reconhecimento antigênico. As células T auxiliares regulam negativamente o receptor de quimioquina CCR7 e aumentam a expressão de CXCR5 e, como resultado, deixam a zona da célula T e migram para o folículo. Como foi mencionado

anteriormente, CXCL13, o ligante para CXCR5, é secretado pelas células dendríticas foliculares e por outras células do estroma folicular e é essa quimiocina que atrai as células T  $CD4^+$  ativadas para o folículo. Além disso, como foi discutido anteriormente, as células B respondem a esses antígenos reduzindo a expressão do receptor de quimiocina CXCR5 de suas superfícies celulares e aumentam a expressão de CCR7. Como resultado, as células B ativadas migram para a zona da célula T por ação de um gradiente de CCL19 e de CCL21, os ligantes para CCR7. As células B ativadas por antígenos proteicos também podem expressar CD69, que bloqueia a expressão de superfície de receptores para esfingosina 1-fosfato, causando retenção de células B ativadas nos linfonodos (Cap. 3). O resultado final dessas alterações é a atração mútua dos linfócitos T e B ativados pelo antígenos.



**FIGURA 12-8** Migração de células B e de células T auxiliares e interação T-B.

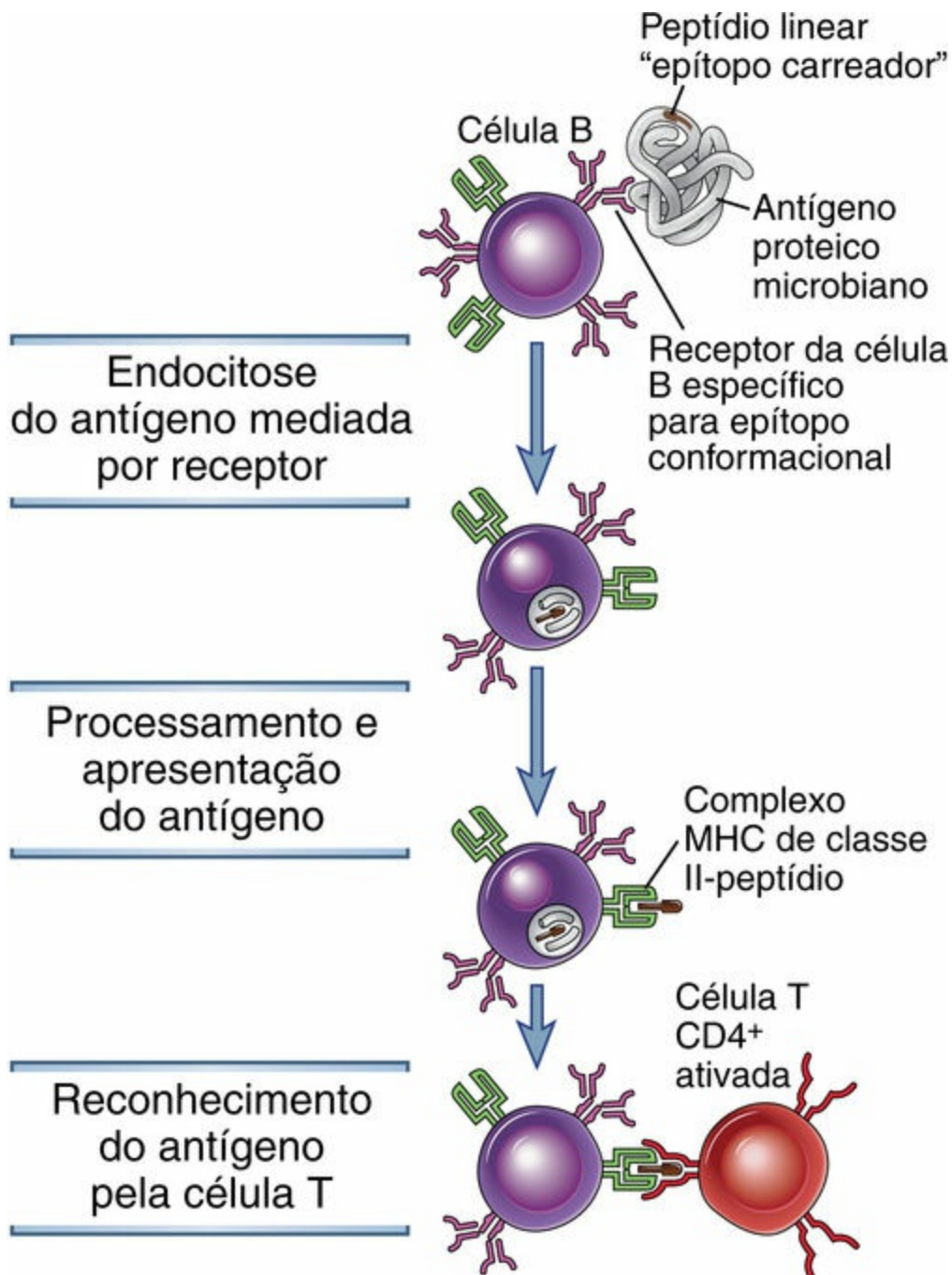
As células T auxiliares e as células B ativadas pelo antígeno movem-se uma em direção à outra em resposta aos sinais de quimiocinas e fazem contato adjacente às bordas dos folículos primários.

Os antígenos proteicos são endocitados pela célula B e apresentados de uma forma que possam ser reconhecidos pelas células T auxiliares e isto representa o passo seguinte no processo de ativação T-dependente da célula B.

## Apresentação de Antígeno pelas Células B e o Efeito Carreador de Haptenos

**Antígenos proteicos que são reconhecidos por receptores antigênicos específicos da célula B são endocitados e processados para gerar peptídeos que se ligam a moléculas de MHC de classe II e são apresentados às células T  $CD4^+$  (Fig. 12-9).** Esta via de apresentação de antígenos pelo MHC de classe II foi

descrita em detalhes no [Capítulo 6](#). Os peptídeos apresentados pela célula B a uma célula T auxiliar são os mesmos peptídeos que ativaram inicialmente o precursor virgem da células  $CD4^+$  quando foram apresentados pelas células dendríticas na zona de célula T. Como o BCR reconhece um epítipo da proteína na sua forma nativa com elevada afinidade, as células B específicas se ligam e apresentam o antígeno muito mais eficientemente (em concentrações muito baixas) do que as demais células B não específicas para o antígeno. Este é motivo pelo qual as células B específicas para um antígeno respondem preferencialmente a esse antígeno, em comparação com as outras células. Assim, um antígeno proteico que provoca uma resposta T-dependente da célula B utiliza pelo menos dois epítipos específicos para a ativação das células B: um epítipo na superfície da proteína nativa é reconhecido com alta especificidade por uma célula B; e um epítipo de peptídeo linear interno é posteriormente liberado desta proteína, ligando-se a moléculas de MHC de classe II, e é reconhecido por células T auxiliares. Os anticorpos secretados ao final são, geralmente, específicos para os determinantes conformacionais do antígeno nativo porque a Ig de membrana em células B é capaz de se ligar a epítipos conformacionais das proteínas e a mesma Ig é secretada por plasmócitos derivados das células B. Esta característica do reconhecimento antigênico da célula B determina a especificidade fina da resposta de anticorpos e é independente do fato de que as células T auxiliares reconhecem apenas epítipos lineares de peptídeos processados. Na verdade, um único linfócito B específico para um epítipo nativo pode se ligar a uma proteína, endocitá-la e apresentar diversos peptídeos diferentes complexados com moléculas de MHC de classe II a diferentes células T auxiliares, mas a resposta de anticorpos resultante permanece específica para a proteína nativa.



**FIGURA 12-9** Apresentação do antígeno pelas células B para as células T auxiliares.

Os antígenos proteicos reconhecidos pela Ig de membrana são endocitados e processados e os fragmentos de peptídios são apresentados em associação a moléculas de MHC de classe II. As células T auxiliares reconhecem os complexos MHC-peptídeo na superfície das células B e, então, estimulam as respostas da célula B. Nas respostas aos conjugados hapteno-carreador, o hapteno (o epítipo da célula B) é reconhecido por uma célula B específica, o conjugado é



endocitado, a proteína carreadora é processada na célula B e os peptídeos do carreador (os epítomos da célula T) são apresentados para a célula T auxiliar.

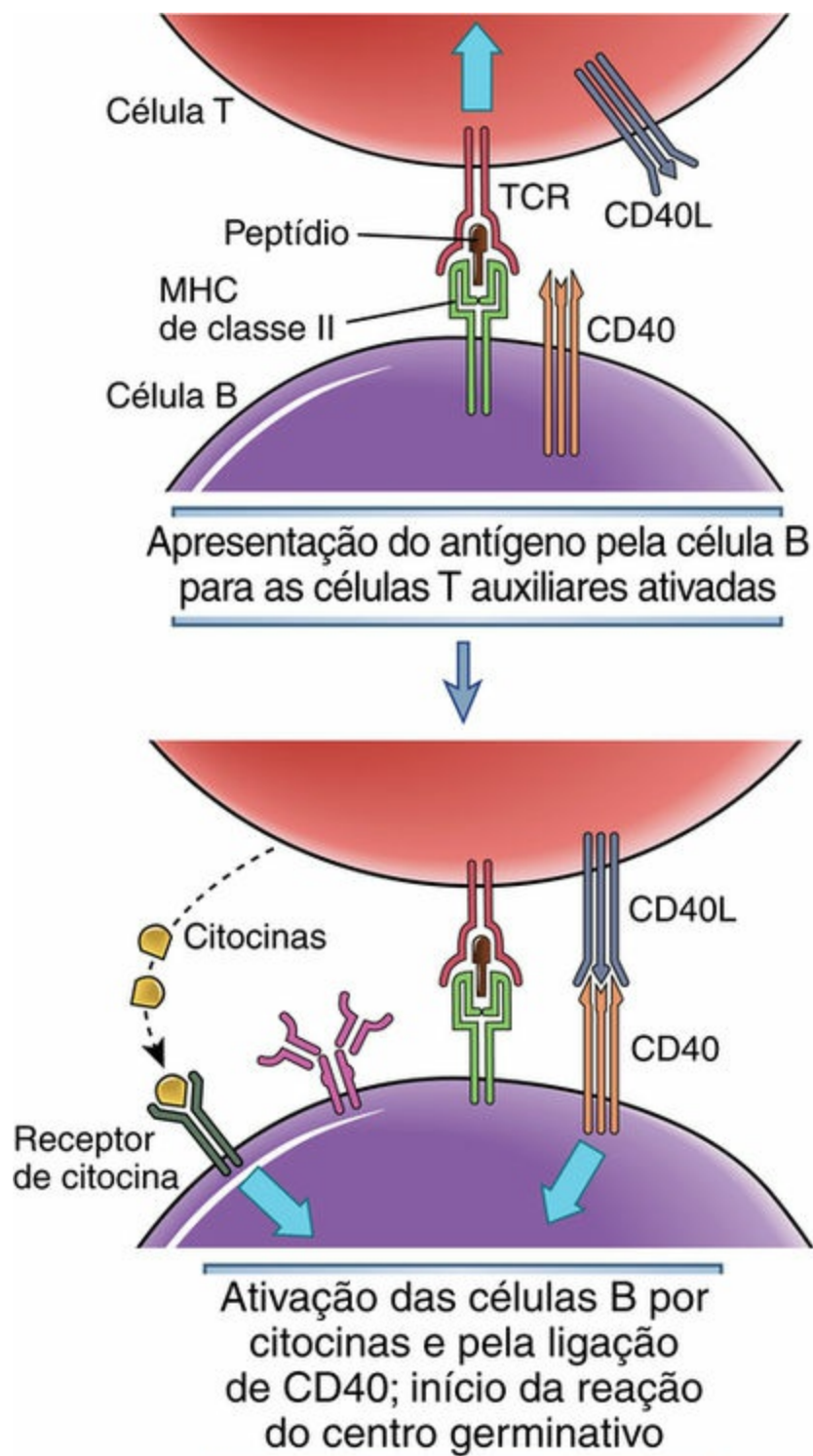
Os princípios delineados aqui para a colaboração entre as células T e B ajudam a explicar um fenômeno conhecido como o **efeito hapteno-carreador**. As análises das respostas de anticorpos a conjugados de hapteno-carreador forneceram algumas das primeiras demonstrações de como a apresentação de antígenos pelos linfócitos B contribui para o desenvolvimento das respostas imunes humorais. Haptenos, como dinitrofenol, são pequenas substâncias químicas que podem ser ligadas por anticorpos específicos, mas não são imunogênicas por si mesmas. Se, no entanto, os haptenos forem acoplados a proteínas, que servem como carreadores, os conjugados são capazes de induzir respostas de anticorpos contra os haptenos. Existem três características importantes de respostas de anticorpos anti-haptenos a conjugados destes com proteínas. Primeira, essas respostas requerem a existência de células B específicas para o hapteno e, simultaneamente, células T auxiliares específicas para a proteína (carreador). Segunda, para estimular uma resposta, as porções do hapteno e do carreador precisam estar fisicamente ligadas e não podem ser administradas separadamente. Terceira, a interação é restrita ao MHC de classe II, ou seja, as células T auxiliares cooperam apenas com os linfócitos B que expressam moléculas de MHC classe II, que são idênticas àquelas envolvidas na ativação inicial de células T imaturas por células dendríticas. Todas estas características das respostas de anticorpos a conjugados hapteno-proteína podem ser explicadas pelas funções de apresentação de antígeno dos linfócitos B. Células B específicas para o hapteno ligam-se ao antígeno através do determinante do hapteno, endocitam o conjugado hapteno-carreador e apresentam peptídeos derivados da proteína carreadora a linfócitos auxiliares T específicos para essa proteína (Fig. 12-9). Assim, os dois linfócitos cooperam reconhecendo diferentes epítomos do mesmo complexo antigênico. O hapteno é responsável pela internalização eficiente da proteína carreadora para dentro da célula B, o que explica por que o hapteno e o carreador precisam estar fisicamente ligados. A exigência de apresentação de antígenos associados a moléculas de MHC para a ativação de células T representa a restrição ao MHC das interações de células T e B.

As características das respostas humorais elucidadas pelos conjugados de hapteno-carreador se aplicam a todos os antígenos proteicos nos quais um determinante intrínseco, geralmente um determinante conformacional nativo, é reconhecido por células B (e, por conseguinte, é análogo ao hapteno) e outro determinante, na forma de um peptídeo linear associado ao MHC de classe II, é reconhecido pelas células T auxiliares (e é análogo ao carreador que é a fonte do peptídeo). O efeito de hapteno-carreador é a base para o desenvolvimento de vacinas conjugadas, que contêm os epítomos de carboidratos reconhecidos por células B

ligados a proteínas reconhecidas pelas células T, o que será discutido mais adiante neste capítulo.

## **Papel do CD40L: Interação do CD40 na Ativação da Célula B Dependente de T**

***Na ativação, as células T auxiliares expressam o ligante de CD40 (CD40L), o qual se acopla ao seu receptor, CD40, em células B estimuladas pelo antígeno e induz a proliferação e a diferenciação da célula B, inicialmente em focos extrafoliculares e, depois, nos centros germinativos (Fig. 12-10).*** Lembre-se que o CD40 é um membro da superfamília de receptores TNF (Cap. 10). Seu ligante, CD40L (CD154), é uma proteína de membrana trimérica que é homóloga ao TNF. CD40 é expresso constitutivamente na superfície de células B e CD40L é expresso na superfície de células T auxiliares após a ativação pelo antígeno e moléculas estimuladoras. Quando essas células T auxiliares ativadas interagem fisicamente com as células B apresentadoras de antígeno, o CD40L reconhece o CD40 sobre a superfície da célula B.



**FIGURA 12-10** Mecanismos de ativação da célula B mediados pela célula T auxiliar.

As células T auxiliares que são ativadas pelo reconhecimento de antígenos apresentados pelas células B expressam CD40L, o qual se liga ao CD40 presente na superfície das células B e estimula a proliferação e a diferenciação da célula B. Citocinas produzidas pelas células T auxiliares

também contribuem para as respostas da célula B.

A ligação ao CD40L produz a alteração conformacional dos trimeros pré-formados de CD40 e isso induz a associação de proteínas citossólicas denominadas TRAFs (do inglês, *TNF receptor-associated factors*, fatores associados ao receptor de TNF) com o domínio citoplasmático do CD40. Os TRAFs recrutados para o CD40 iniciam uma cascata enzimática que leva à ativação e à translocação nuclear de fatores de transcrição, incluindo o NF- $\kappa$ B e o AP-1, que estimulam juntos a proliferação da célula B e o aumento da síntese e secreção de Ig. Vias de sinalização similares são ativadas por receptores de TNF (Cap. 7). A indução de fatores de transcrição pelo CD40 também é crucial para reações subsequentes dos centros germinativos, como veremos adiante. A ativação de células dendríticas e de macrófagos mediada por células T também envolve a interação de CD40L em células T auxiliares ativadas com CD40 nas células dendríticas e macrófagos (Caps. 6 e 10).

Mutações no gene do CD40 L resultam em uma doença chamada **síndrome da hiper-IgM ligada ao X**, caracterizada por defeitos na produção de anticorpos, troca de isotipo, maturação da afinidade e na geração de células B de memória em resposta a antígenos proteicos, além de uma imunidade mediada por células deficientes (Cap. 21). Anormalidades similares são observadas em camundongos geneticamente deficientes para os genes *CD40* ou *CD40L*. Curiosamente, um DNA-vírus chamado vírus de Epstein-Barr (EBV) infecta células B humanas e induz sua proliferação. Isto pode levar à imortalização das células e ao desenvolvimento de linfomas. A cauda citoplasmática de uma proteína de transformação do EBV, denominada LMP1 (do inglês, *latent membrane protein 1*, proteína latente de membrana 1) se associa às mesmas moléculas de TRAF como faz o domínio citoplasmático de CD40 e, aparentemente, aciona a proliferação da célula B. Assim, a LMP1 do EBV é funcionalmente homóloga a uma molécula de sinalização fisiológica da célula B e o EBV aparentemente cooptou uma via normal de ativação do linfócito B para o seu objetivo próprio, que consiste em promover a sobrevivência e a proliferação das células que o vírus infectou.

Além da ativação de células B pelo CD40L em células T auxiliares, estas células também secretam citocinas que contribuem para respostas da célula B. Os papéis mais bem definidos das citocinas derivadas de células T nas respostas imunes humorais são aqueles relacionados à troca de isotipo, descrito adiante. Diversas citocinas também são implicadas nas etapas iniciais da proliferação e da diferenciação da célula B, mas ainda não está claro se são realmente essenciais para essas respostas.

Após a interação inicial das células B com as células T auxiliares na interface entre o folículo e a zona de célula T, a ativação subsequente das células B pelas células T auxiliares pode ocorrer em dois outros locais, sendo um externo aos folículos, em um foco extrafolicular, e o outro nos centros germinativos dos folículos. A natureza da

resposta da célula B é diferente nesses locais (Tabela 12-1).

**Tabela 12-1**

**Respostas da Célula B Extrafolicular e no Centro Germinativo**

Característica	Extrafolicular	Folicular/Centro Germinativo
Localização	Cordões medulares dos linfonodos e nas junções entre a zona de célula T e a polpa vermelha do baço	Foliculos secundários
Sinal de CD40	Requerido	Requerido
Célula T especializada que auxilia	Células T auxiliares extrafoliculares	Células T <sub>FH</sub> nos centros germinativos
Expressão de AID	Sim	Sim
Troca de classe	Sim, limitada	Sim, extensiva
Hipermutação somática	Índice baixo	Índice alto
Afinidade do anticorpo	Baixa	Alta
Células B diferenciadas terminalmente	Plasmócitos de vida curta (vida média ~3 dias)	Plasmócitos de vida longa, que migram pra a medula óssea ou MALT e células de memória
Fatores de transcrição da célula B	Blimp-1	Bcl-6

AID, Citidina-deaminase induzida por ativação (do inglês, *activation-induced cytidine deaminase*); Bcl-6, Linfoma de célula B-6 (do inglês, *B cell lymphoma-6*); Blimp-1, proteína de maturação induzida por linfócito B (do inglês, *B lymphocyte-induced maturation protein 1*); MALT, tecido linfóide associado a mucosa (do inglês, *mucosa-associated lymphoid tissue*); T<sub>FH</sub>, célula T auxiliar folicular (do inglês, *follicular helper T cell*).

Adaptado de Vinuesa CG, Sanz I, Cook MC: Dysregulation of germinal centres in autoimmune disease, *Nature Reviews Immunology* 9:845-857, 2009.

## Ativação de Células B Extrafoliculares

**A ativação da célula B no foco extrafolicular fornece uma resposta precoce de anticorpos a antígenos proteicos e ajusta-se à formação da resposta do centro germinativo, que é desenvolvida mais lentamente, mas também é mais eficiente.** A ativação T dependente de células B nos focos extrafoliculares produz anticorpos de baixa afinidade que podem circular e limitar a propagação de uma infecção. A resposta extrafolicular também auxilia na geração de células T auxiliares foliculares (células T<sub>FH</sub>) que migram para o folículo e são necessárias para a formação do centro germinativo. Algumas células B ativadas pelo antígeno no foco

extrafolicular também retornam ao folículo, participam na formação do centro germinativo e sofrem alterações que resultam em uma resposta imune humoral mais potente e de longa duração. Cada um desses focos pode produzir de 100 a 200 plasmócitos secretores de anticorpos. No baço, focos extrafoliculares se desenvolvem nas porções mais externas da bainha linfóide periarteriolar rica em células T (PALS, do inglês, *periarteriolar lymphoid sheath*) ou entre a zona de célula T e a polpa vermelha; e esses conjuntos de células também são chamados de focos de PALS. Focos similares, também T dependentes, são encontrados nos cordões medulares dos linfonodos.

As células B que são ativadas por células T auxiliares através do CD40L nos focos extrafoliculares possuem capacidade limitada de troca de isotipo. As células secretoras de anticorpos que são geradas nesses focos, incluindo plasmoblastos circulantes e plasmócitos teciduais, são do tipo de vida curta em sua maioria e estas células não adquirem a capacidade de migrar para locais distantes, como a medula óssea. A pequena quantidade de anticorpos produzidos nesses focos pode contribuir para a formação de imunocomplexos (que contêm o antígeno, o anticorpo e, às vezes, o complemento) que ficam aprisionados pelas células dendríticas foliculares nos folículos linfóides. As células dendríticas foliculares liberam, então, quimiocinas, talvez em resposta aos imunocomplexos, que atraem poucas células B ativadas (talvez apenas uma ou duas) do foco extrafolicular para o folículo para iniciar a reação centro germinativo.

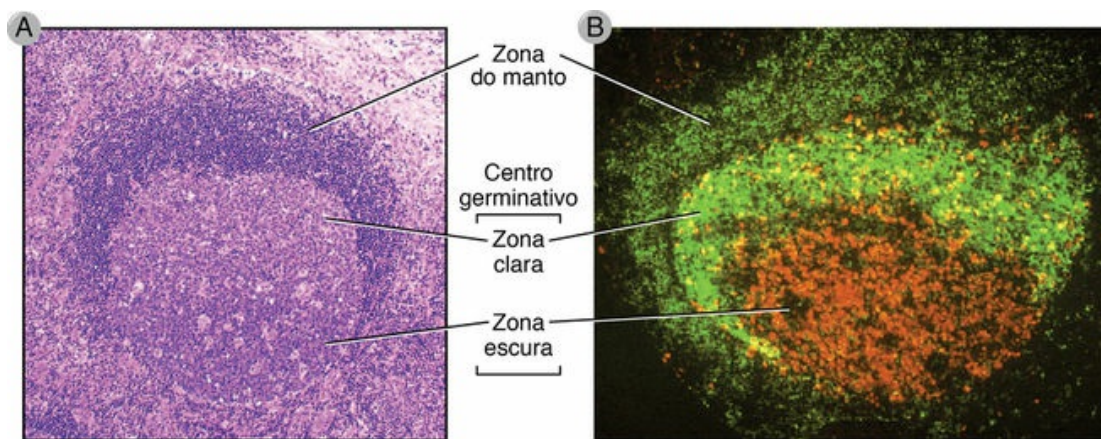
## Reação do Centro Germinativo

**Os eventos característicos de respostas humorais dependentes das células T auxiliares, incluindo maturação da afinidade, troca de isotipo e geração de plasmócitos e células B de memória de vida longa, ocorrem principalmente em estruturas organizadas denominadas centros germinativos, que são criados dentro de folículos linfóides durante as respostas imunes T dependente.** Reação do centro germinativo é o nome do conjunto de eventos que ocorre nesses locais, incluindo o próprio desenvolvimento dos centros germinativos, o complexo processo de diversificação genética das células B ativadas e a sobrevivência das mais adaptadas.

Os centros germinativos se desenvolvem cerca de 4 a 7 dias após o início de uma resposta T-dependente de células B. Neste momento, algumas das células B que são ativadas em focos extrafoliculares migram de volta para o folículo e começam a proliferar rapidamente, formando uma região distinta do folículo (Fig. 12-11). Os morfologistas denominaram esta região como *centro germinativo* por causa da crença de que novas células eram geradas lá, muito antes de se compreender seu significado funcional. Cada centro germinativo completamente formado contém células derivadas de um único clone, ou de poucos, de células B específicas para o



antígeno. Dentro do centro germinativo existe uma zona escura densamente povoada com as células B que se proliferam rapidamente. Estima-se que o tempo de duplicação dessas células B em proliferação, também denominadas centroblastos, no centro germinativo seja algo entre 6 a 12 horas; assim, em 5 dias, um único linfócito pode dar origem a uma progênie de cerca de 5.000 células. A progênie das células B em proliferação no centro germinativo é constituída de células menores, às vezes chamadas de centrócitos, que sofrem processos de diferenciação e seleção na zona clara, como será descrito mais adiante. As células B nos centros germinativos expressam um repressor transcricional conhecido como Bcl-6 (do inglês, *B cell lymphoma gene 6*, gene do linfoma de células B 6), cujo papel é descrito mais adiante quando discutirmos a regulação transcricional do destino da célula B.



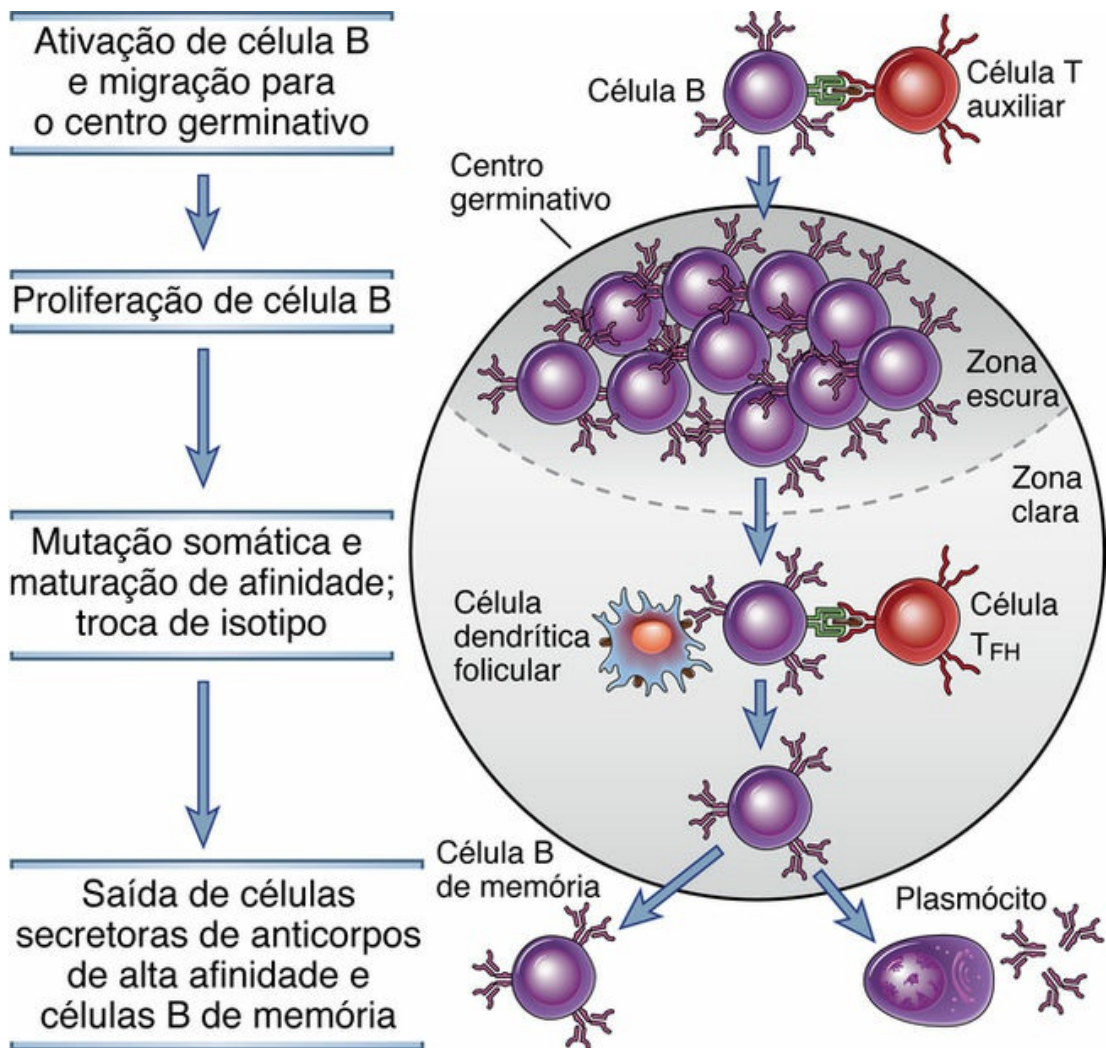
**FIGURA 12-11** Centros germinativos em órgãos linfoides secundários.

**A**, O centro germinativo se encontra no interior do foliculo e inclui uma zona basal escura e uma zona clara adjacente. **B**, A zona clara contém células dendríticas foliculares, coradas com anticorpo anti-CD23 (verde) e a zona escura contém células B em proliferação, coradas com um anticorpo anti-Ki67 (vermelho), que detecta células que estão ciclando. (**A**, Cortesia de Dr. James Gulizia, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts. **B**, Modificado de Liu YJ, Johnson GD, Gordon J, MacLennan IC: Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses, *Immunology Today* 13:17-21. Copyright © 1992 com permissão da Elsevier.)

A arquitetura dos foliculos linfoides e a reação do centro germinativo no interior dos foliculos depende da presença de **células dendríticas foliculares** (FDCs). As FDCs são encontradas apenas em foliculos linfoides e expressam receptores do

complemento (CR1, CR2 e CR3) e receptores de Fc. Estas moléculas estão envolvidas na apresentação de antígenos para a seleção de células B do centro germinativo, como será descrito mais adiante. As FDCs não expressam moléculas de MHC de classe II e não são derivadas de células progenitoras na medula óssea. Assim, apesar do seu nome, elas são distintas das células dendríticas que expressam MHC de classe II e que capturam os antígenos nos tecidos e os transporta para os órgãos linfoides, onde apresentam os péptidos aos linfócitos T. Os longos processos citoplasmáticos das FDCs formam uma malha em torno da qual são formados os centros germinativos.

A reação do centro germinativo consiste de etapas sequenciais (Fig. 12-12). As células B em proliferação acumulam-se na zona escura do centro germinativo, região onde não há FDCs ou células T. A pequena progênie de células B que não estão em divisão migram para a zona clara adjacente, onde entram em contato próximo com os processos das abundantes FDCs e também fazem estreito contato com células T<sub>FH</sub>. É neste ponto que ocorrem os eventos subsequentes de seleção. A borda de células B imaturas no folículo, que circundam o centro germinativo, é chamada de zona do manto.



**FIGURA 12-12** Reação do centro germinativo em um linfonodo.

As células B ativadas migram para o foliculo e proliferam, formando a zona escura do centro germinativo. Estas células B sofrem troca extensiva do isotipo e hipermutação somática dos genes V de Ig e migram para a zona clara, onde encontram as células dendríticas foliculares que apresentam o antígeno e as células T<sub>FH</sub>. As células B com receptores de Ig de mais altas afinidade são selecionadas, sobrevivem e se diferenciam em células secretoras de anticorpos e em células B de memória. As células secretoras de anticorpos residem na medula óssea como plasmócitos de vida longa e assim a deixa; e as células B de memória entram no conjunto de linfócitos recirculantes.

A formação de centros germinativos é dependente de CD40L em células T<sub>FH</sub> que interagem com o CD40 nas células B. Essas interações são essenciais para a

proliferação das células B, que é necessária para a expansão dessas células nos centros germinativos e também para a troca de isotipo e maturação da afinidade. A formação de centros germinativos é deficiente em humanos e em camundongos com defeitos genéticos no desenvolvimento ou ativação de células T, ou com mutações de CD40 ou de seu ligante discutidas anteriormente.

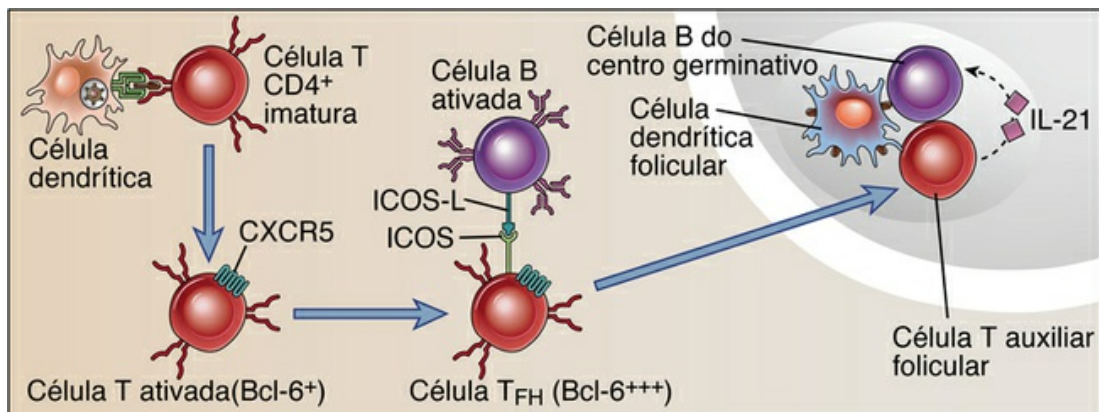
## Indução de Células T Auxiliares Foliculares

**Após 4 a 7 dias da exposição ao antígeno, as células B ativadas específicas para o antígeno induzem algumas células T previamente ativadas para que se diferenciem em células T<sub>FH</sub>, capazes de expressar altos níveis do receptor de quimiocina CXCR5, sendo direcionadas para os folículos linfóides por CXCL13, o ligante de CXCR5, onde podem exercer papéis essenciais na formação e na função do centro germinativo.** Além do CXCR5, as células T<sub>FH</sub> também expressam ICOS (coestimulador indutível), PD-1 (morte programada-1), IL-21 e o fator de transcrição Bcl-6. As células T<sub>FH</sub> apresentam um fenótipo que as torna diferentes das subpopulações T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub>, e T<sub>H17</sub> de células T efetoras, descritas no [Capítulo 10](#).

A diferenciação de células T<sub>FH</sub> a partir de células T CD4<sup>+</sup> imaturas acontece em dois passos: ativação inicial pelas células dendríticas que apresentam o antígeno e subsequente ativação por células B ([Fig. 12-13](#)). A opção entre a diferenciação para T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub> ou T<sub>H17</sub> por um lado ou para T<sub>FH</sub> por outro, depende, em parte, da força da interação inicial entre o complexo peptídeo-MHC de classe II sobre as células dendríticas e do receptor de células T em células T CD4<sup>+</sup> imaturas. Uma forte ativação do TCR por células dendríticas induz a expressão do repressor transcricional Bcl-6 e baixos níveis da cadeia  $\alpha$  do receptor de IL-2 (IL-2R) em células T CD4<sup>+</sup>. Esta expressão inicial de níveis moderados de Bcl-6 combinada com a fraca sinalização de IL-2R inibe a aquisição de um fenótipo T<sub>H1</sub>, T<sub>H2</sub> ou T<sub>H17</sub>. Algumas dessas células T ativadas começam a expressar CXCR5. A diferenciação das células T<sub>FH</sub> só se completa após a ativação das células T<sub>FH</sub> nascentes por células B ativadas. Diversas moléculas presentes nas células B e nas células T auxiliares são conhecidos por desempenhar papéis importantes na geração de células T<sub>FH</sub>. O coestimulador ICOS, que está relacionado ao CD28 e é expresso em células T<sub>FH</sub>, é essencial para a reação de centro germinativo. A interação do ligante de ICOS com ICOS em células B ativadas promove a diferenciação de células T em células T<sub>FH</sub>. As interações entre as células B ativadas e células T auxiliares são mediadas por integrinas e por membros da família de coestimuladores SLAM. A denominação para uma molécula de sinalização que se associa a essas proteínas da família SLAM em



células  $T_{FH}$  é SAP, e a sinalização de SAP estabiliza a expressão de reguladores transcricionais, particularmente Bcl-6, que são necessários para o desenvolvimento de células  $T_{FH}$ . Há uma mutação em SAP em pacientes com uma doença conhecida como síndrome linfoproliferativa ligada ao X, a qual está associada a defeitos nas respostas de anticorpos e de células T citotóxicas (Cap. 21).



**FIGURA 12-13** Eventos moleculares na geração de células T auxiliares foliculares.

A geração de célula  $T_{FH}$  requer ativação sequencial das células T, primeiro pelas células dendríticas e, então, por células B ativadas. As células  $T_{FH}$  diferenciadas migram para os centros germinativos, onde ativam as células B.

A citocina que define a diferenciação das células  $T_{FH}$  é a IL-21. Esta citocina é necessária para o desenvolvimento do centro germinativo e contribui para a geração de plasmócitos na reação do centro germinativo. A IL-21 secretada pelas células  $T_{FH}$  também estimula os eventos de seleção de células B no centro germinativo e de diferenciação de células B ativadas em plasmoblastos. Além da IL-21, as células  $T_{FH}$  secretam outras citocinas, incluindo IFN- $\gamma$  ou IL-4 e, provavelmente, baixas concentrações de IL-17; e todas estas citocinas participam do processo de troca de isotipo.

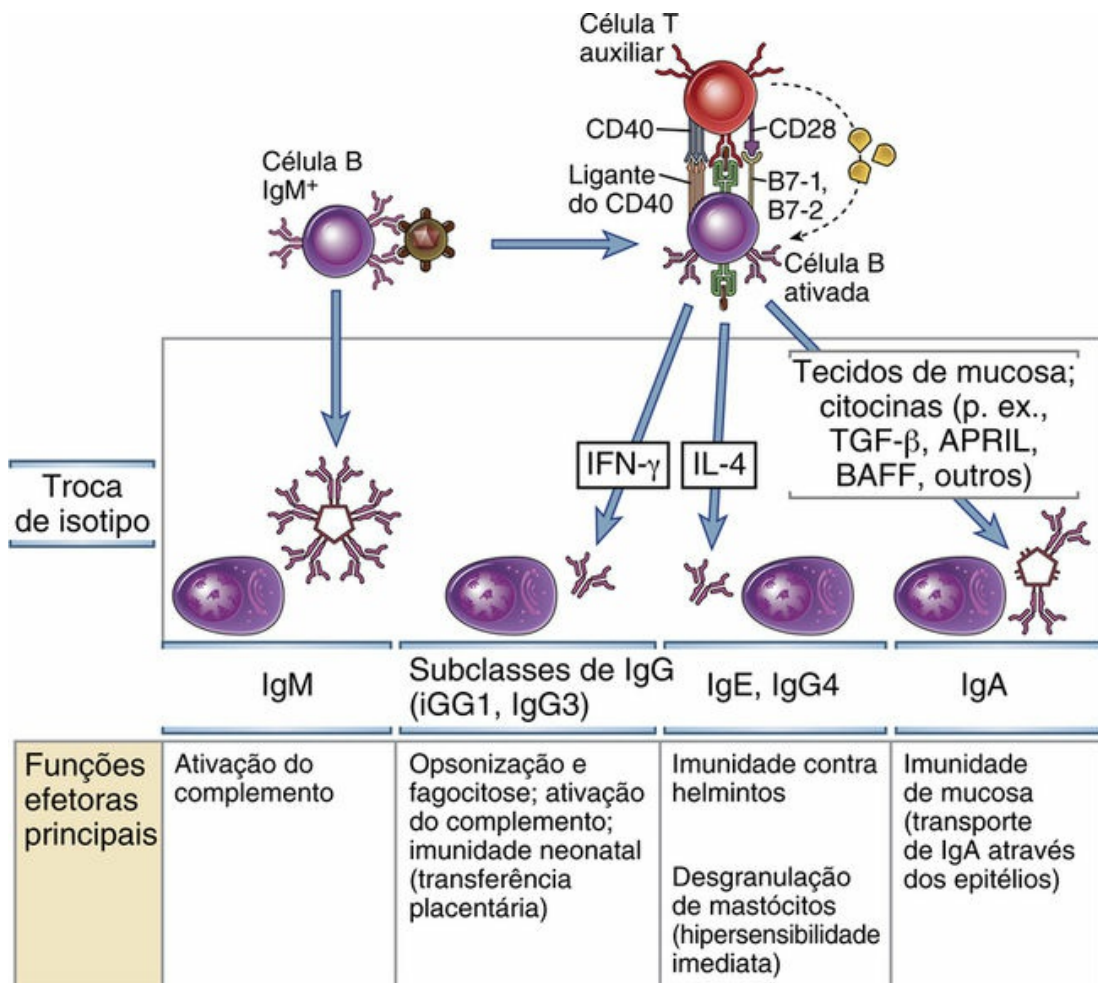
As células  $T_{FH}$  exercem diversos papéis importantes na ativação e na diferenciação de células B na reação do centro germinativo. Estas funções dependem de vários sinais, incluindo ICOSL, CD40L e IL-21, e serão discutidos em detalhe a seguir.

## Troca de Isotipo (Classe) da Cadeia Pesada

***Em respostas T-dependentes algumas células das progênies de células B ativadas que expressam IgM e IgD sofrem troca de isotipo (classe) da cadeia***

**pesada e produzem anticorpos com cadeias pesadas de diferentes classes, tais como  $\gamma$ ,  $\alpha$  e  $\mu$  (Fig. 12-14).** Algumas vezes ocorrem trocas de isotipo em células B que se encontram em focos extrafoliculares devido à ação das células T auxiliares extrafoliculares lá presentes; no entanto, isso ocorre com mais frequência em centros germinativos, sob a influência das células  $T_{FH}$ . A habilidade das células B de produzirem diferentes isotipos de anticorpos proporciona uma notável plasticidade nas respostas imunes humorais por meio da geração de anticorpos que exercem funções efetoras distintas e estão envolvidos na defesa contra os diferentes tipos de agentes infecciosos. As células B mudam os isotipos dos anticorpos que produzem, alterando as regiões constantes das cadeias pesadas, mas a especificidade dos anticorpos (determinada pelas regiões variáveis) permanece inalterada. Os mecanismos moleculares responsáveis pela mudança de regiões constantes de cadeias pesadas serão descritos a seguir.





**FIGURA 12-14** Troca de isotipo da cadeia pesada de Ig.

As células B ativadas por sinais da célula T auxiliar (CD40L, citocinas) sofrem troca para diferentes isotipos de Ig, medeiam as distintas funções efetoras. Aqui, exemplos selecionados de trocas de isotipos. O papel do IFN- $\gamma$  no direcionamento dos eventos específicos relacionados à troca de isotipo foi estabelecida apenas em roedores.

**A troca de isotipo em resposta a diferentes tipos de microrganismos é regulada por citocinas produzidas pelas células T auxiliares ativadas por esses microrganismos.** IFN- $\gamma$  induz a troca para a classe IgG em células B (mais bem documentado em camundongos) e a IL-4 induz à troca para IgE. A resposta a muitos vírus e bactérias intracelulares envolve a produção de anticorpos IgG, que bloqueia a entrada de microrganismos em células hospedeiras e também promove a fagocitose por macrófagos. Os vírus e muitas bactérias ativam as células T auxiliares, particularmente T<sub>H1</sub>, que produzem a citocina IFN- $\gamma$  e também induzem, provavelmente, células T<sub>FH</sub> a produzir grandes quantidades de IFN- $\gamma$ . A resposta humoral a muitos parasitas helmintos é direcionada principalmente por anticorpos IgE, que participam na eliminação de helmintos mediada por eosinófilos e mastócitos

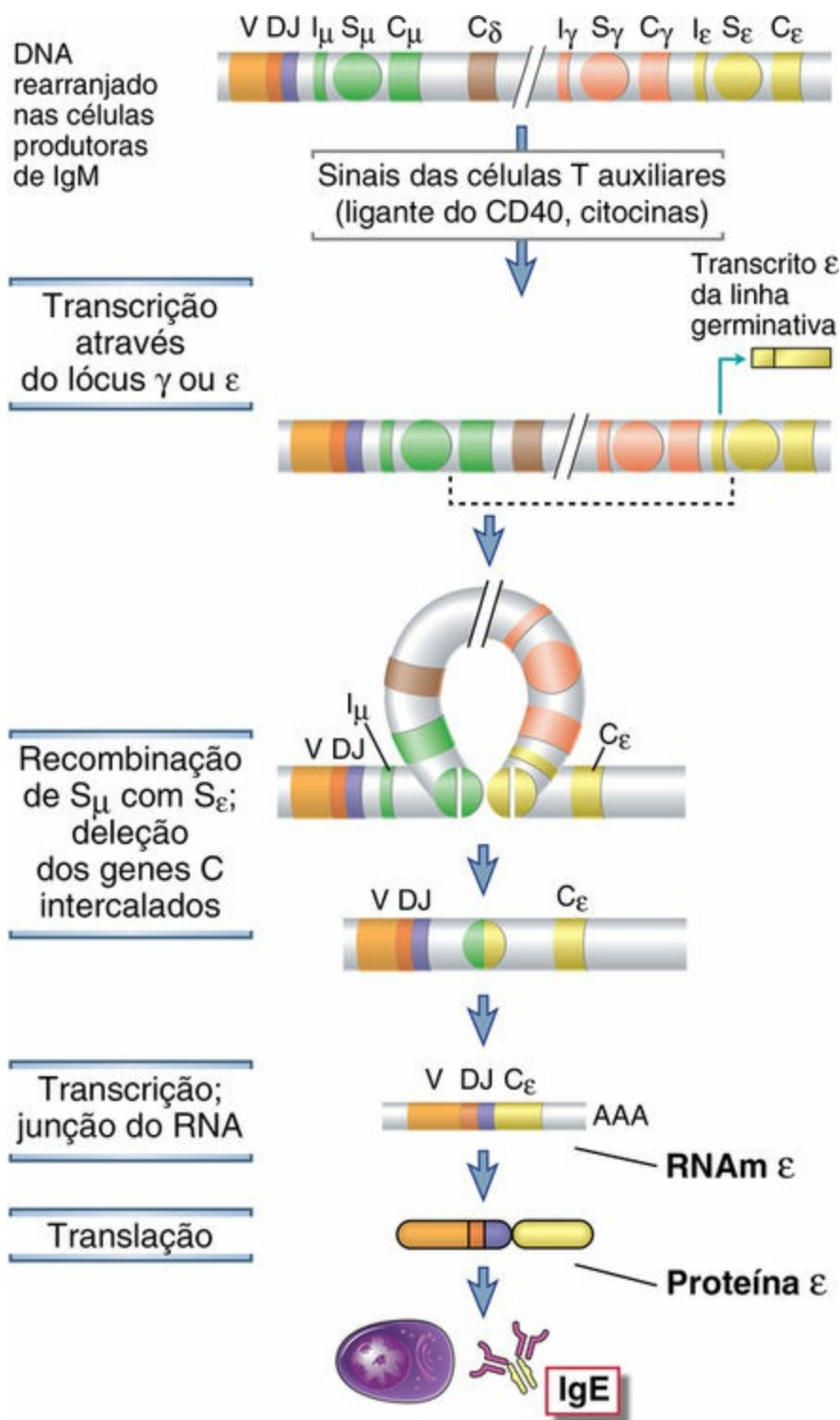
(Caps. 13 e 16); os anticorpos IgE também medeiam as reações de hipersensibilidade imediata (alergias) (Cap. 20). Os helmintos provavelmente influenciam a diferenciação de células T<sub>FH</sub> e induzem as células T auxiliares a produzir citocinas do tipo T<sub>H</sub>2 durante a reação do centro germinativo.

Além disso, as células B em diferentes locais anatômicos mudam para diferentes isotipos, em parte por causa das citocinas localmente produzidas. Especificamente, as células B em tecidos de mucosa mudam para IgA, que é a classe de anticorpos mais eficientemente transportada através de epitélios para as secreções mucosas, onde participa da defesa contra os microrganismos que tentam entrar através dos epitélios (Cap. 14). A mudança para IgA é estimulada pelo fator transformante de crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), produzido por muitos tipos celulares, incluindo células T auxiliares, na mucosa e em outros tecidos. As citocinas da família do TNF, BAFF e APRIL, também estimulam a mudança para IgA. Como essas citocinas são produzidas por células mieloides, elas podem estimular respostas de IgA na ausência da ajuda de células T. Alguns indivíduos que herdaram variantes mutantes do gene *TACI*, que codifica um receptor para essas citocinas, apresentam uma deficiência selectiva de IgA (Cap. 21).

**Os sinais do CD40 trabalham em conjunto com as citocinas para induzir a troca de isotipo. A ligação do CD40 induz a enzima deaminase induzida por ativação (AID, do inglês, Activation-induced Deaminase) que, como veremos mais adiante, é crucial tanto para troca de isotipo como da maturação de afinidade.** A exigência de sinalização do CD40 e da AID para promover a troca de isotipo em células B foi bem documentada graças à análise de camundongos e humanos com deficiências em CD40, do ligante de CD40 ou de AID. Em todos esses casos, a resposta de anticorpos a antígenos proteicos é dominada por anticorpos IgM e há troca limitada para outros isotipos.

**O mecanismo molecular da troca de isotipo é um processo chamado de recombinação de troca, no qual o DNA da cadeia pesada de Ig em células B é cortado e recombinado de modo que um éxon VDJ previamente formado, que codifica o domínio V, é posto em uma posição adjacente a uma região C subsequente e o DNA intercalado entre essas regiões é excluído (Fig. 12-15).** Esses eventos de recombinação de DNA envolvem sequências de nucleotídeos denominadas de regiões de troca, que estão localizadas nos íntrons entre os segmentos J e C, nas extremidades 5' de cada locus CH, com exceção do gene  $\delta$ . As regiões de troca possuem um comprimento de 1 a 10 kilobases, numerosas repetições em série de sequências de DNA ricas em GC e são encontradas na porção inicial de todos os genes da cadeia pesada. A porção inicial de cada região de troca é um pequeno éxon chamado de éxon I (iniciador de transcrição), precedido por uma região I, promotora. Os sinais das citocinas e do CD40 induzem a transcrição de uma determinada região I promotora lendo um éxon I, a região de troca e éxons CH adjacentes. Estes transcritos são conhecidos como transcritos da linha

germinativa. Elas não são traduzidas em proteínas, mas são necessárias para que ocorra a troca de isotipo. Os transcritos da linha germinativa são encontrados no locus  $\mu$  e no locus posterior da cadeia pesada para a qual uma célula B ativada está sendo induzida à troca. Em cada região de troca participante, os transcritos da linha germinativa facilitam a geração de quebras no DNA de cadeia dupla, como será descrito mais adiante. A quebra de DNA na região inicial de troca ( $\mu$ ) é unida às quebras na região de troca posterior selecionada. Como resultado, o éxon VDJ rearranjado mais próximo à porção inicial da região de troca  $\mu$  na célula B produtora de IgM é recombinado com o gene da cadeia pesada de Ig localizado imediatamente após a região de troca transcricionalmente ativa posterior. As citocinas determinam qual região CH irá sofrer transcrição da linha germinativa. Por exemplo, a IL-4 induz a transcrição da linha germinativa do locus  $I\mu$ - $S\mu$ - $C\mu$  (Fig. 12-15). Primeiramente, isso leva à produção de transcritos  $\mu$  da linha germinativa em uma célula B que expressa IgM e, em seguida, à recombinação da região de troca  $S\mu$  com a região de troca do  $S\mu$ . O DNA que está intercalado entre as regiões é perdido e o éxon VDJ é, então, aproximado da região  $C\mu$ . O resultado final é a produção de IgE com o mesmo domínio V da IgM original produzida por essa célula B.



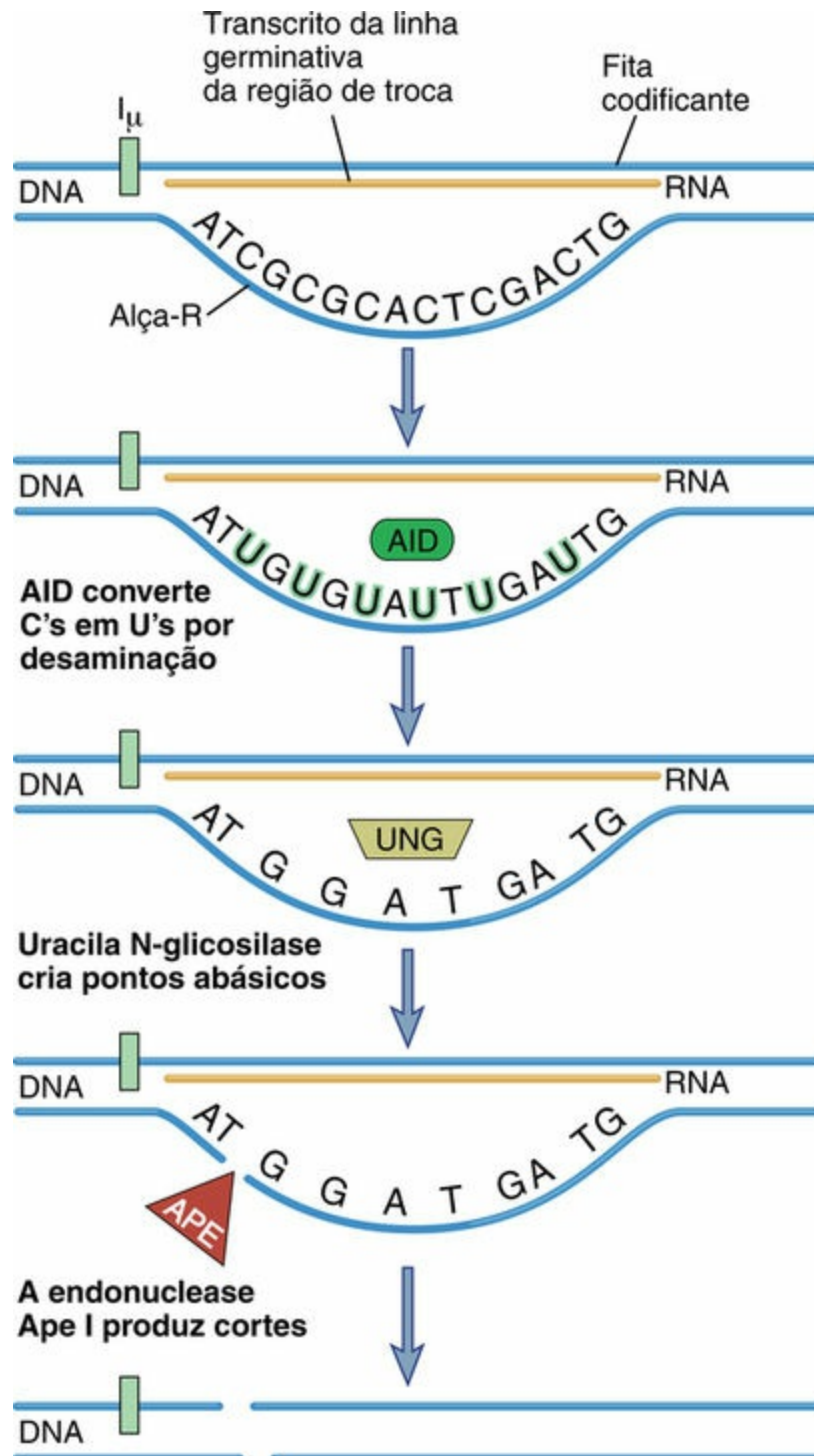
**FIGURA 12-15** Mecanismos de troca do isotipo da cadeia pesada.

Quando as células B ativadas pelo antígeno encontram os sinais da célula T auxiliar (CD40L e, neste exemplo, IL-4), as células B sofrem troca de isotipo de Ig, além da IgM (neste exemplo, IgE). Estes estímulos iniciam a transcrição da linha germinativa no locus I<sub>μ</sub>-S<sub>μ</sub>-C<sub>μ</sub>, e os genes CH proximais são

deletados, levando à recombinação do éxon VDJ o gene  $C_{\mu}$ .

As regiões que sofrem troca são indicadas pelos círculos identificados como  $S_{\mu}$ ,  $S_{\gamma}$  e  $S_{\delta}$ .  $I_{\mu}$ ,  $I_{\gamma}$  e  $I_{\delta}$  representam os locais de início para a transcrição da linha germinativa. (Notar que existem múltiplos genes  $C_{\gamma}$  localizados entre os genes  $C_{\delta}$  e  $C_{\mu}$  e genes  $C_{\alpha}$  adjacentes a  $C_{\mu}$ , mas isso não é mostrado).

A enzima chave necessária para a troca de isotipo (e maturação de afinidade, descrito mais adiante) é a **deaminase induzida por ativação (AID)**, do inglês, *activation-induced deaminase*). Como mencionamos anteriormente, a expressão de AID é ativada principalmente por sinais de CD40 de células  $T_{FH}$ . A enzima desamina citosinas em moldes de DNA de fita simples, convertendo resíduos de citosina (C) em resíduos de uracila (U) (Fig. 12-16). As regiões de troca são ricas em bases G e C e os transcritos da região de troca tendem a formar híbridos DNA-RNA estáveis envolvendo a fita codificante (superior) de DNA, deixando, assim, a parte inferior livre ou sem uma fita molde, a qual forma uma alça aberta de DNA de fita simples denominada alça-R. A alça-R é a região na qual um grande número de resíduos de C da sequência de DNA de troca é convertido em resíduos U pela AID. Uma enzima chamada uracila N-glicosilase remove os resíduos de U, deixando locais abásicos. A endonuclease ApeI, e provavelmente outras endonucleases, cliva esses pontos abásicos, gerando um corte em cada posição. Alguns cortes são gerados na fita superior também, de uma maneira dependente da enzima AID, mas ainda não se sabe como isso acontece. Os cortes nas duas fitas contribui para as quebras da fita dupla tanto na região  $S_{\mu}$  quanto na região posterior à região de troca que está envolvida em um determinado evento de troca de isotipo. As quebras de fita dupla nas duas regiões de troca são unidas (reparadas) pela utilização da maquinaria celular envolvida no reparo de rupturas da fita dupla por meio da união de terminações não homólogas. Nesse processo, o DNA entre as duas regiões de troca é eliminado e o resultado final é que a região V rearranjada original torna-se adjacente à uma nova região constante.



**Eventuais quebras da dupla fita na região de troca**

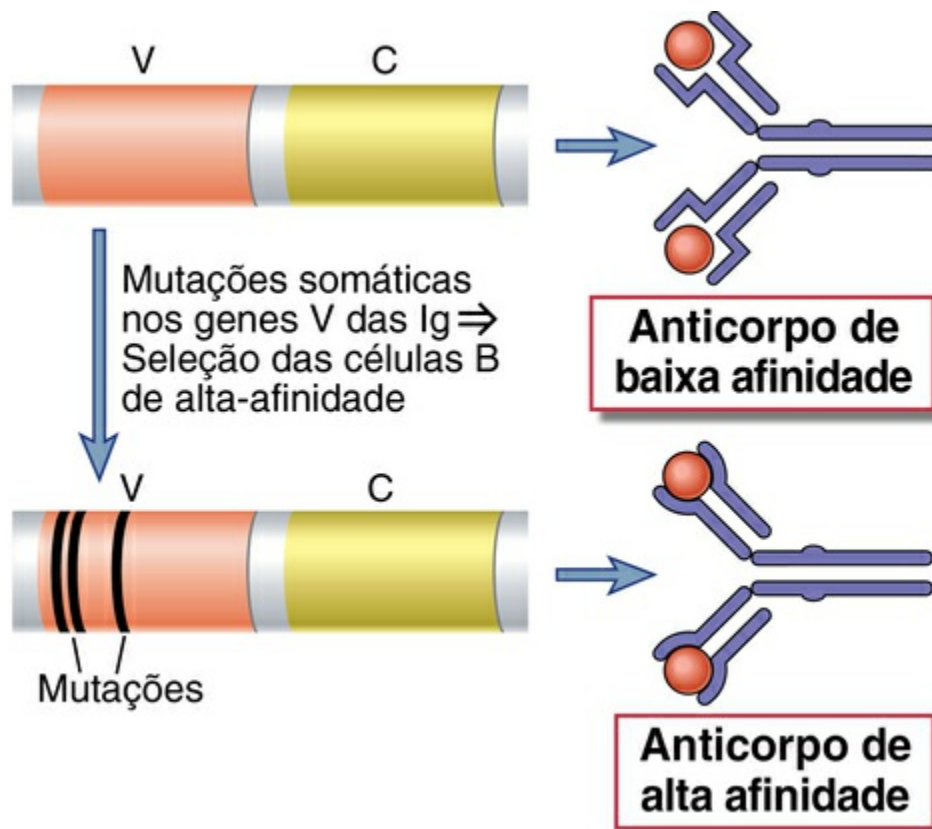
**FIGURA 12-16** Mecanismo pelo qual a enzima AID e a transcrição da linha germinativa colaboram para a geração das quebras nas regiões de troca da dupla fita de DNA. Os transcritos da linha germinativa formam híbridos de DNA-RNA na região de troca e a AID desamina os resíduos C para gerar resíduos U na fita dupla de DNA. A enzima uracil N-glicosilase (UNG) remove os resíduos U para gerar pontos



abásicos onde a endonuclease Apel cria cortes que levam à ruptura da fita dupla.

## **Maturação de afinidade: Mutação Somática dos Genes Ig e Seleção de Células B de Alta Afinidade**

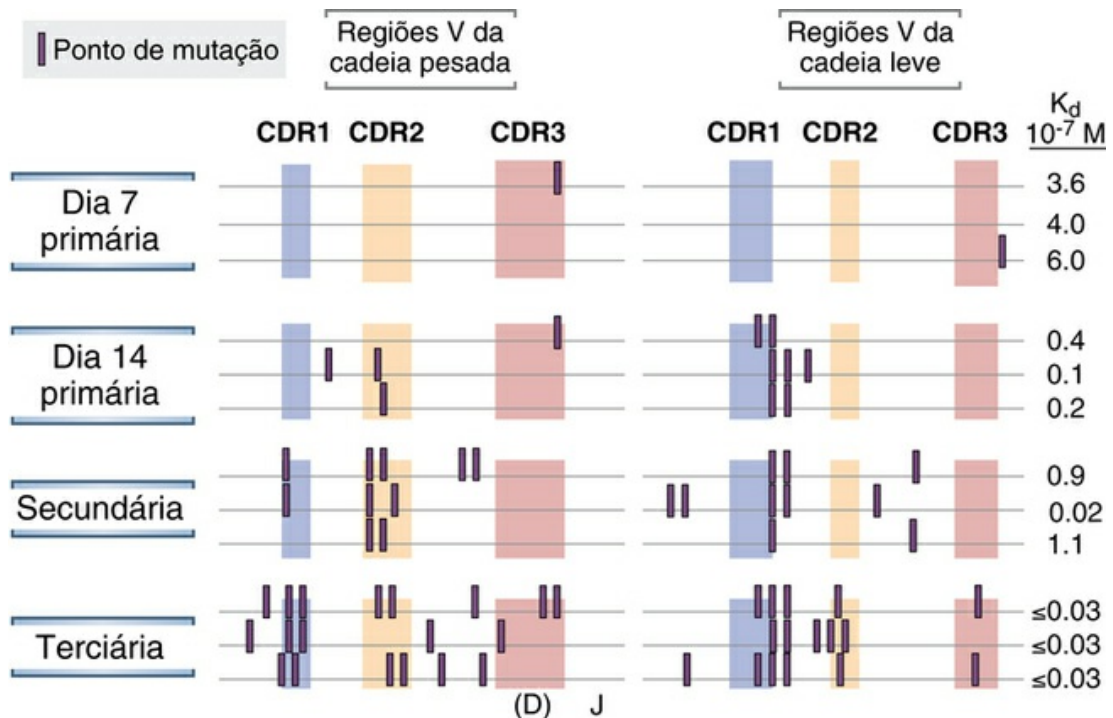
***Maturação de afinidade é o processo que conduz a um aumento da afinidade de anticorpos a um determinado antígeno, conforme progride a resposta humoral T-dependente e é o resultado da mutação somática dos genes Ig seguida pela sobrevivência seletiva das células B produtoras de anticorpos com maior afinidade.*** O processo de maturação de afinidade gera anticorpos com uma capacidade aumentada de ligação aos antígenos e, portanto, mais eficientes para neutralizar e eliminar microrganismos (Fig. 12-17). As células T auxiliares e as interações CD40:CD40L são necessárias para que se inicie a mutação somática e, como resultado, a maturação de afinidade é observada apenas em respostas de anticorpos T-dependentes a antígenos proteicos.



**FIGURA 12-17** Visão geral da maturação de afinidade. No início da resposta imune, há produção de anticorpos de baixa afinidade. Durante a reação do centro germinativo, a mutação somática dos genes V da Ig e a seleção das células B com receptores de antígeno de alta afinidade resultam na produção de anticorpos com alta afinidade para o antígeno.

***Em células B no centro germinativo em proliferação presente na zona escura, os genes V de Ig sofrem mutações pontuais em uma taxa extremamente elevada.*** Estima-se que esta taxa seja de 1 em  $10^3$  pares de bases do gene V gene por célula em divisão, sendo aproximadamente mil vezes mais alta do que a taxa espontânea da mutação em outros genes de mamíferos. Por este motivo, a mutação de genes V de Ig também é chamada de **hipermutação somática**. Os genes V das cadeias pesadas e leves expressas em cada célula B contém um total de cerca de 700 nucleotídeos; isto implica que ocorre acúmulo de mutações nas regiões V expressas em uma taxa média de quase uma por divisão celular. As mutações do gene V de Ig continuam a ocorrer na progênie das células B individuais. Como resultado, qualquer clone de células B pode acumular mais e mais mutações durante sua vida no centro germinativo. Estima-se que, como consequência de mutações somáticas, as sequências de nucleotídeos de anticorpos IgG derivado de um clone de células B podem divergir até cerca de 5% em relação à sequência original da linha germinativa. Isso geralmente se traduz em até 10

substituições de aminoácidos. Diversas características destas mutações são dignas de nota. Primeiro, as mutações estão agrupadas nas regiões V, principalmente nas regiões determinantes de complementaridade da ligação ao antígeno (Fig. 12-18). Em segundo lugar, há muito mais mutações em anticorpos IgG do que nos da classe IgM. Em terceiro lugar, a presença de mutações está relacionada ao aumento da afinidade dos anticorpos ao antígeno que induziu a resposta.



**FIGURA 12-18** Mutações somáticas nos genes *Ig V*.

Os hibridomas foram produzidos a partir de células esplênicas de camundongos imunizados 7 ou 14 dias antes com um hapteno, oxazolona, ligado a uma proteína e após imunizações secundárias e terciárias com o mesmo antígeno.

Foram gerados hibridomas produtores de anticorpos monoclonais específicos para oxazolona e as sequências de nucleotídeos dos genes V codificantes para as cadeias pesada e leve de Ig foram posteriormente determinadas. As mutações nos genes V aumentam de acordo com o tempo após a imunização e com as imunizações repetidas e essas mutações são agrupadas em regiões determinantes de complementaridade (CDRs, do inglês, *complementarity-determining regions*). A localização do CDR3 nas cadeias pesadas é aproximada. As afinidades dos anticorpos produzidos também tendem a aumentar conforme aumenta a taxa de mutações, como é indicado pelas constantes de dissociação ( $K_d$ ) mais baixas para a ligação do hapteno.

(Modificado de Berek C, Milstein C: Mutation drift and repertoire shift in maturation of the immune response, *Immunological Reviews* 96:23-41, 1987, Blackwell Publishing).

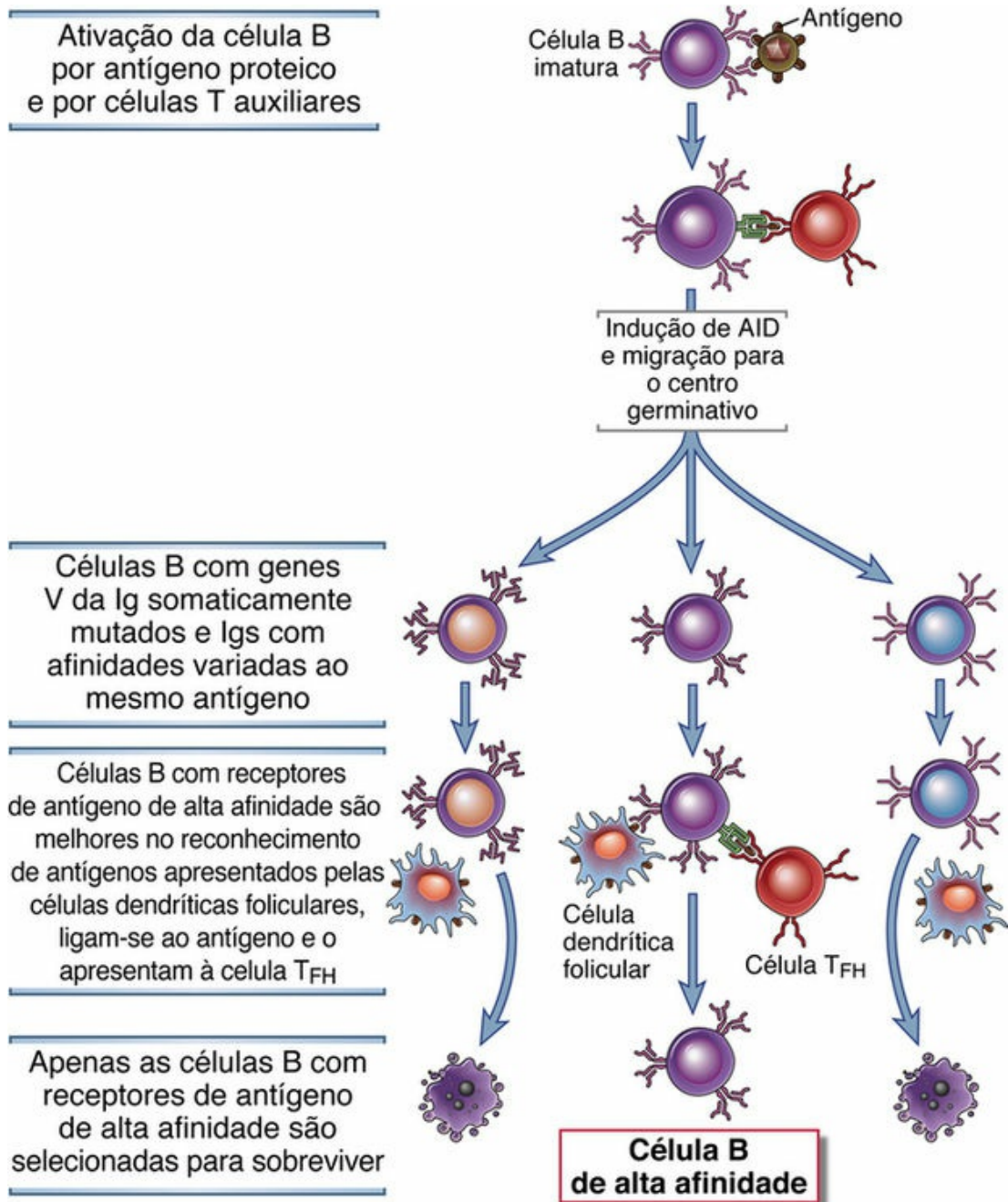
Os mecanismos subjacentes à mutação somática em genes *Ig* são parcialmente conhecidos. É claro que o rearranjo do éxon VDJ das *Ig* torna-se altamente

suscetível a mutação, sugerindo suscetibilidade aumentada desta região a fatores de ligação a DNA que identificam regiões V rearranjadas para mutação. A enzima AID, discutida anteriormente no contexto de troca de isotipo, desempenha um papel essencial na maturação de afinidade. Sua atividade de desaminar DNA converte os resíduos C em resíduos U em pontos importantes para mutação. U pode ser trocada para T quando ocorre a replicação do DNA, gerando, assim, um tipo comum de mutação de C para T; ou U pode ser excisada pela uracila N-glicosilase e o local abásico assim gerado é reparado por um processo passível de erro, gerando, por fim, substituições com qualquer um dos quatro nucleotídeos de DNA em cada ponto de desaminação de citidina induzida por AID. Estes processos de reparo propensos a erros estendem mutações de resíduos além dos resíduos C que são direcionados pela AID.

A estimulação repetida por antígenos proteicos dependentes de células T leva ao aumento do número de mutações nos genes Ig das células B específicas a esses antígenos no centro germinativo. Algumas dessas mutações são mais prováveis de se mostrarem úteis uma vez que produzirão anticorpos de alta afinidade. No entanto, muitas das mutações podem gerar uma diminuição ou até mesmo uma perda da capacidade de ligação ao antígeno. Portanto, o passo seguinte e crucial no processo da maturação de afinidade é a seleção de células B de alta afinidade mais úteis, um tipo de seleção natural darwiniana que assegura a sobrevivência das melhores células B (mais adaptadas em termos de ligação ao antígeno).

**As células B que se ligam a antígenos em centros germinativos com alta afinidade são selecionadas para sobreviver (Fig. 12-19).** A resposta inicial ao antígeno resulta na produção de anticorpos, alguns dos quais formam complexos com antígeno residual e podem ativar o complemento. As células dendríticas foliculares expressam receptores para as porções Fc de anticorpos e para produtos da ativação do complemento, incluindo C3b e C3d. Estes receptores se ligam e expõem antígenos que são complexados com anticorpos e produtos do complemento. O antígeno também pode ser apresentado na forma livre no centro germinativo. Enquanto isso, as células B do centro germinativo que sofreram mutação somática migram para a zona clara rica em FDC do centro germinativo. Essas células B morrem por apoptose, a menos que sejam resgatadas pelo reconhecimento do antígeno. As células B com receptores de alta afinidade para o antígeno são mais capazes de se ligar ao antígeno quando este está presente em baixas concentrações; e essas células B sobrevivem preferencialmente devido a diversos mecanismos. Primeiro, o reconhecimento antigênico, por si só, induz a expressão de proteínas antiapoptóticas da família Bcl-2. Segundo, as células B de alta afinidade terão preferência na endocitose e apresentação do antígeno e, assim, também terão preferência na interação com o limitado número de células T<sub>FH</sub> no centro germinativo. Estas células T auxiliares podem sinalizar através de CD40L para promover a sobrevivência das células B com as quais interagem. Terceiro, algumas células T<sub>FH</sub>

expressam o ligante de Fas, que é capaz de reconhecer o receptor de morte Fas nas células B do centro germinativo e liberar um sinal apoptótico. As células B de alta afinidade, que são melhores para reconhecer e responder ao antígeno, podem ativar inibidores endógenos de Fas quando seus BCRs reconhecem o antígeno e, assim, ficar protegidas da morte, enquanto as células B de baixa afinidade são mortas.



**FIGURA 12-19** Seleção de célula B nos centros germinativos.

A mutação somática de genes V nas células B do centro germinativo gera anticorpos com diferentes afinidades para o



antígeno. A ligação de células B ao antígeno apresentado pelas células dendríticas foliculares é necessária para impedir a morte programada das células B. As células B também apresentam antígeno para as células  $T_{FH}$  do centro germinativo, que por sua vez promovem a sobrevivência da célula B. As células B com mais alta afinidade ao antígeno possuem, portanto, uma vantagem seletiva para a sobrevivência conforme a quantidade disponível de antígeno diminui durante uma resposta imune. Isso conduz a um aumento médio na afinidade dos anticorpos ao antígeno conforme a resposta humoral progride.

Quanto mais anticorpo é produzido, mais antígeno é eliminado e, portanto, menos disponível nos centros germinativos. Dessa forma, as células B que serão capazes de se ligar especificamente a este antígeno e serão resgatadas da morte precisam expressar receptores de antígenos com afinidade cada vez mais alta ao antígeno. Como resultado, conforme a resposta de anticorpos a um determinado antígeno progride, as células B que são selecionadas para sobreviver nos centros germinativos produzem Ig de afinidade aumentada a este antígeno. Este processo de seleção resulta na maturação da afinidade da resposta dos anticorpos. Como a mutação somática também gera muitas células B que não expressam receptores de alta afinidade para o antígeno e não podem, portanto, ser selecionadas para sobreviver, os centros germinativos são locais de gigantesco índice de apoptose.

A mutação somática ocorre na zona escura basal dos centros germinativos, em células B denominadas centroblastos, as quais possuem AID nuclear, e essas células mutantes podem ciclar repetidamente entre a zona escura basal e a zona clara apical, onde se diferenciam em células morfologicamente distintas chamadas centrócitos. Por fim, os centrócitos de alta afinidade podem ser selecionados na zona clara pelo antígeno, com o auxílio de células  $T_{FH}$ , e podem sofrer troca de isotipo adicional. As células selecionadas diferenciam-se, então, em células B de memória ou em precursores de plasmócitos secretores de anticorpos de alta afinidade que deixam o centro germinativo.

As quebras de DNA associadas à hipermutação somática e à troca de isotipo definem o cenário para as translocações cromossômicas de vários oncogenes em *loci* de genes Ig, produzindo tumores de células B (linfomas). Isso explica por que muitos linfomas se desenvolvem a partir de células B do centro germinativo. Os centros germinativos também podem contribuir para a patogênese de doenças autoimunes se mutação somática direcionar um clone de células B no centro germinativo a se tornar fortemente autorreativo.

## Diferenciação da Célula B em Plasmócitos Secretores de Anticorpos

**Os plasmócitos são células B terminalmente diferenciadas, morfologicamente distintas, comprometidas com a produção abundante de anticorpo (Cap. 2).** Eles são gerados após a ativação de células B por meio de sinais do BCR, CD40, TLRs e outros receptores, incluindo os receptores de citocinas.

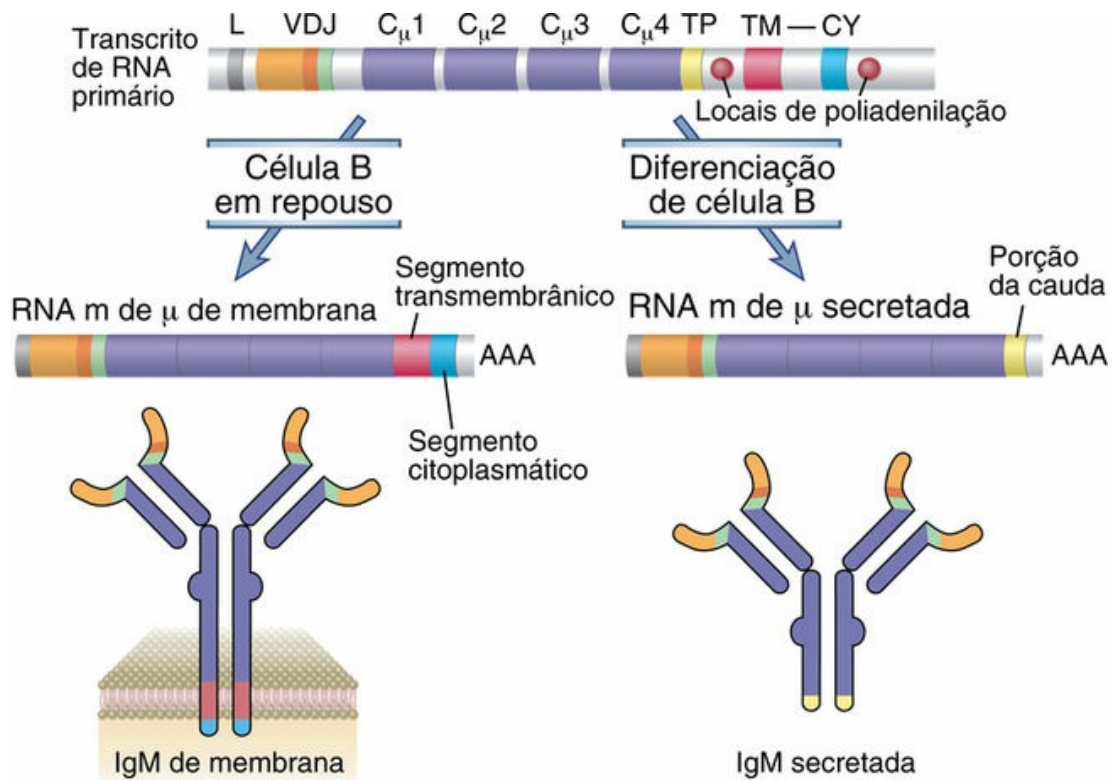
Existem dois tipos de plasmócitos.

- Os plasmócitos de vida curta são gerados durante as respostas T-independentes e no início das respostas T-dependentes em focos extrafoliculares de células B, anteriormente descritos. Estas células são geralmente encontradas em órgãos linfoides secundários e em tecidos não linfoides periféricos.
- Os plasmócitos de vida longa são gerados em respostas T-dependentes a antígenos proteicos nos centros germinativos. Os sinais do receptor de antígeno das células B e a IL-21 cooperam na geração de plasmócitos e de seus precursores, chamados **plasmoblastos**. Os plasmoblastos são encontrados principalmente na circulação, onde podem ser identificados como células secretoras de anticorpo que não expressam CD20, um marcador de células B maduras. Os plasmoblastos gerados nos centros germinativos entram na circulação e são direcionados para a medula óssea, onde se diferenciam em plasmócitos de vida longa. Estes plasmócitos são mantidos por citocinas da família BAFF que se ligam a um receptor de membrana do plasmócito chamado BCMA, o que possibilita que as células sobrevivam por longos períodos, frequentemente tanto quanto o tempo de vida do hospedeiro. Tipicamente, a medula óssea se torna o local principal de produção de anticorpos aproximadamente 2 a 3 semanas após a imunização com um antígeno T-dependente. Os plasmócitos na medula óssea, podem continuar secretando anticorpos por meses ou mesmo anos após o antígeno não estar mais presente. Esses anticorpos podem proporcionar proteção imediata se o antígeno for encontrado posteriormente. Estima-se que quase metade dos anticorpos presentes no sangue de um adulto saudável sejam produzidos pelos plasmócitos de vida longa e sejam específicos para antígenos que foram encontrados no passado. Os anticorpos secretados entram na circulação e nas secreções mucosas, mas os plasmócitos maduros não recirculam.

**A diferenciação das células B em plasmócitos secretores de anticorpos envolve grandes alterações estruturais nos componentes do retículo endoplasmático e da via secretora, além do aumento da produção de Ig e uma alteração nas cadeias pesadas de Ig da forma ligada à membrana para a forma secretada.** A célula aumenta dramaticamente de tamanho e a razão entre a área do citoplasma e o núcleo também sofre um aumento notável quando observada sob um microscópio (Fig. 2-8). O retículo endoplasmático torna-se proeminente e a

célula é transformada em uma célula secretora que possui pouca ou nenhuma semelhança com um linfócito B. Muitas dessas alterações são mais marcantes na transição do plasmoblasto para um plasmócito maduro.

A mudança na produção de Ig da forma de membrana (característica de células B) para a forma secretada (nos plasmócitos) é o resultado de modificações na extremidade carboxiterminal da cadeia pesada de Ig (Fig. 12-20). Por exemplo, na cadeia  $\mu$  de membrana, C $\mu$ 4 é seguido por um curto espaçador, 26 resíduos hidrofóbicos e uma cauda citoplasmática de três aminoácidos (lisina, valina e lisina). Na IgM secretada, por outro lado, o domínio C $\mu$ 4 é seguido por uma porção de cauda com aminoácidos polares. Esta transição de Ig de membrana para Ig secretada é provocada pelo processamento alternativo de RNA do RNA mensageiro (RNAm) da cadeia pesada. O transcrito primário de RNA em todas as células B produtoras de IgM contém o cassete VDJ rearranjado, os quatro éxons C $\mu$  codificantes para os domínios da região constante (C) e os dois éxons que codificam os domínios transmembrânicos e citoplasmático. O processamento alternativo deste transcrito, que é regulado pela clivagem de RNA e a escolha dos locais de poliadenilação, determina se os éxons para a porção citoplasmática e transmembrânica são incluídos ou não no RNAm maduro. Se estiverem incluídos, a cadeia  $\mu$  produzida contém os aminoácidos que compõem os segmentos transmembrânico e citoplasmático e, portanto, permanece ancorada na bicamada lipídica da membrana plasmática. Se, por outro lado, o segmento transmembrânico for excluído da cadeia  $\mu$ , a extremidade carboxi-terminal consistirá de aproximadamente 20 aminoácidos constituindo a porção da cauda. Como essa proteína não possui uma extensão de aminoácidos hidrofóbicos ou uma cauda citoplasmática de carga positiva, ela não pode permanecer ancorada na membrana do retículo endoplasmático, sendo, assim, secretada. Assim, cada célula B pode sintetizar as duas formas de Ig, de membrana e secretada. A maior parte do RNAm da cadeia pesada de Ig em um plasmócito é clivado imediatamente antes do local de poliadenilação, portanto, a maior parte deste RNAm pertence à forma secretada. Todos os genes CH contêm éxons de membrana semelhantes e todas as cadeias pesadas podem ser potencialmente expressas na forma ligada à membrana e na forma secretada. No entanto, a forma secretada da cadeia pesada  $\delta$  raramente é feita, de maneira que a IgD geralmente está presente apenas como uma proteína de membrana.



**FIGURA 12-20** Produção de cadeias  $\mu$  de membrana e secretadas em linfócitos B.

O processamento alternativo de um transcrito de RNA primário resulta na formação de um RNAm para a forma de membrana ou secretada da cadeia pesada  $\mu$ . A diferenciação da célula B resulta em uma fração crescente de proteína  $\mu$  produzida na forma secretada. TP, TM e CY referem-se a porção da cauda, segmento transmembrânico e segmento citoplasmático, respectivamente.  $C_{\mu}1$ ,  $C_{\mu}2$ ,  $C_{\mu}3$  e  $C_{\mu}4$  são os quatro éxons do gene  $C_{\mu}$ .

## Geração de Células B de Memória

**As células B de memória são geradas durante a reação do centro germinativo e são capazes de fazer respostas rápidas à introdução subsequente do antígeno.** Como as células de memória são geradas principalmente em centros germinativos, elas são observadas em respostas imunes T-dependentes e normalmente emergem em paralelo com células T auxiliares de memória. Algumas das células B que são ativadas nos centros germinativos adquirem a capacidade de sobreviver por longos períodos, aparentemente sem a continuidade da estimulação antigênica. Estas células B de memória expressam altos níveis da proteína antiapoptótica Bcl-2, o que contribui para o seu período de vida longa. Algumas células B de memória podem permanecer no órgão linfóide em que foram geradas,

ao passo que outras saem dos centros germinativos e recirculam entre o sangue e os órgãos linfoides. Caracteristicamente, as células de memória expressam receptores de antígenos de alta afinidade (mutantes) e moléculas de Ig de isotipos que sofreram troca mais frequentemente que os linfócitos B imaturas. A produção de grandes quantidades de anticorpos de alta afinidade pós-troca de isotipo é bastante acelerada após a exposição secundária aos antígenos e isso pode ser atribuído à ativação de células de memória em centros germinativos. Muitas das características das respostas secundárias de anticorpos a antígenos proteicos e suas diferenças em relação às respostas primárias (Fig. 12-2), refletem as diferenças entre as respostas das células de memória e B imaturas, respectivamente.

Vacinas eficazes contra microrganismos e toxinas microbianas devem induzir tanto maturação de afinidade quanto formação de células B de memória e estes eventos só ocorrerão se as vacinas forem capazes de ativar as células T auxiliares. Este conceito vem sendo aplicado no desenvolvimento de vacinas para algumas infecções bacterianas nas quais o antígeno de interesse é um polissacarídeo capsular, incapaz de estimular as células T. Nesses casos, o polissacarídeo é ligado covalentemente a uma proteína estranha para formar o equivalente a um conjugado hapteno-carreador, capaz de ativar as células T auxiliares. Tais vacinas, que são chamadas de **vacinas conjugadas**, induzem anticorpos de alta afinidade e células de memória mais prontamente do que as vacinas de polissacarídeos sem proteínas ligadas. As vacinas conjugadas revelaram-se particularmente eficazes na indução de imunidade protetora em lactentes e crianças pequenas, que são menos capazes de montar respostas T-independentes fortes contra os polissacarídeos em comparação com adultos.

## Papel dos Reguladores Transcricionais na Determinação do Destino das Células B Ativadas

**O resultado da diferenciação de células B é regulado pela indução e ativação de diferentes fatores de transcrição.** Pelo que foi discutido até agora, fica claro que as células B ativadas podem seguir vários destinos. Elas podem se desenvolver como plasmócitos de vida curta ou longa, capazes de secretar grandes quantidades de anticorpos; ou como células de memória de vida longa, que não secretam anticorpos, mas sobrevivem por períodos prolongados e respondem rapidamente ao desafio antigênico. No [Capítulo 10](#), discutimos o conceito de que o destino das células T é determinado, em grande parte, pela expressão de diversos ativadores e repressores de transcrição. O mesmo princípio pode ser aplicado em relação ao que ocorre com as células B ativadas. Os principais fatores de transcrição envolvidos na determinação do destino das células B do centro germinativo são os seguintes:

- **Bcl-6.** Nas células B do centro germinativo, os sinais liberados pelo CD40 e pelo receptor de IL-21 induzem a expressão de Bcl-6, que funciona como um repressor transcricional para manter a reação de centro germinativo, particularmente a

proliferação massiva das células B neste local. Bcl-6 reprime a expressão de inibidores da quinase dependente de ciclina e, assim, coopera com ativadores transcricionais, tais como c-Myb, para orquestrar a entrada das células B do centro germinativo em fase de ciclo celular rápido. Bcl-6 também reprime p53, um fator de transcrição que medeia a parada do ciclo celular e morte celular por apoptose após lesão do DNA. Como resultado, os centroblastos podem tolerar os danos no DNA que acompanham a hipermutação somática e a troca de isotipo e não entram em apoptose. Bcl-6 antagoniza outro repressor transcricional chamado Blimp-1, o qual é requerido para o desenvolvimento de plasmócitos (ver a seguir) e, então, evita que as células no centro germinativo se diferenciem em plasmócitos durante a proliferação maciça que é característica da reação do centro germinativo.

- **Blimp-1 e IRF4.** Blimp-1, um repressor de transcrição, e IRF4, um ativador de transcrição, são induzidos em algumas das células B ativadas e compromete o destino de diferenciação da célula para plasmócito. Além de suprimir Bcl-6, para manter a reação da célula B no centro germinativo, Blimp-1 suprime um segundo fator de transcrição, Pax5, que é necessário para a manutenção de células B maduras. Assim, Blimp-1 é permissivo para o desenvolvimento de plasmócitos. IRF4 contribui para a expressão de XBP-1, um fator de transcrição que desempenha um papel essencial na resposta de proteína desdobrada. XBP-1 protege o desenvolvimento de plasmócitos das consequências prejudiciais decorrentes do não dobramento adequado de proteínas (que ocorre como um efeito colateral do grande aumento na síntese de proteínas) e contribui para a maturação de plasmócitos e para o aumento da síntese de Ig observado nessas células.
- Os fatores de transcrição que delineiam o desenvolvimento da célula B de memória ainda não foram identificados. Parece que alguns clones da progênie de uma célula B estimulada pelo antígeno expressam baixos níveis de IRF4, tornando-se células de memória funcionalmente quiescentes, com capacidade de autorrenovação e vida longa. Enquanto altos níveis de IRF4 levam à diferenciação de plasmócitos, níveis mais baixos de IRF4 são insuficientes para direcionar a diferenciação de uma célula B ativada em plasmócitos e, portanto, podem permitir a geração de células B de memória.

## Respostas de anticorpos a antígenos T-Independentes

**Muitos antígenos não proteicos, tais como polissacarídeos e lipídios, estimulam a produção de anticorpos na ausência de células T auxiliares e esses antígenos e as respostas que eles provocam são denominados timo-independente ou T-independente (TI).** Estas respostas de anticorpos diferem em vários aspectos das respostas T-dependentes a antígenos proteicos ([Tabela 12-2](#)). Os anticorpos que são produzidos na ausência da célula T auxiliar são, geralmente, de



baixa afinidade e consistem principalmente de IgM, com troca de isotipo limitada a alguns subtipos de IgG e também a IgA.

**Tabela 12-2**

### Propriedades dos Antígenos Timo-Dependentes e Timo-Independentes

	Antígeno Timo-Dependente	Antígeno Timo-Independente
Natureza química	Proteínas	Antígenos poliméricos, especialmente polissacarídeos; também glicolipídios e ácidos nucleicos
Características da Resposta de Anticorpos		
Troca de isotipo	Sim; IgG, IgE e IgA	Pouca ou nenhuma; talvez alguma troca para IgG e IgA
Maturação de Afinidade	Sim	Não
Resposta secundária (células B de memória)	Sim	Observada apenas com alguns antígenos (p. ex., polissacarídeos)

## Subpopulações de Células B que Respondem aos Antígenos T-independentes

**A zona marginal e as subpopulações B-1 de células B são especialmente importantes para as respostas de anticorpos aos antígenos TI.** Enquanto as respostas aos antígenos proteicos T-dependentes são, em grande parte, mediadas pelas células B foliculares, outras subpopulações de células B podem ser os respondedores primários aos antígenos TI (Fig. 12-3). As células B da zona marginal são uma população distinta de células B que respondem principalmente a polissacarídeos. Após a ativação, essas células se diferenciam em plasmócitos de vida curta que produzem principalmente IgM. As células B-1 representam uma outra linhagem de células B, que respondem prontamente a antígenos TI, principalmente no peritônio e em mucosas.

As respostas de anticorpos T-independentes podem ser iniciadas no baço, medula óssea, cavidade peritoneal e mucosas. Os macrófagos localizados nas zonas marginais vizinhas aos folículos linfoides no baço são particularmente eficientes na captura de polissacarídeos quando esses antígenos são injetados por via intravenosa. Antígenos TI podem persistir por períodos prolongados na superfície de macrófagos da zona marginal, onde eles são reconhecidos por células B específicas.

## Mecanismos de Respostas de Anticorpos T-independentes

**Antígenos T independentes são capazes de estimular a proliferação e a diferenciação de células B na ausência de células T auxiliares.** Os antígenos TI mais importantes são polissacarídeos, glicolipídios e ácidos nucleicos, todos capazes de induzir a produção de anticorpos específicos em animais deficientes de células T. Esses antígenos não podem ser processados e apresentados em associação a

moléculas de MHC e, portanto, não podem ser reconhecidos pelas células T auxiliares CD4<sup>+</sup>. A maior parte dos antígenos TI são multivalentes, sendo compostos por epítomos antigênicos idênticos em repetição. Tais antígenos multivalentes podem induzir ligação cruzada máxima do complexo BCR em células B específicas, levando à ativação sem a necessidade de uma célula T auxiliar cognata. Além disso, muitos polissacarídeos ativam o sistema complemento pela via alternativa, gerando C3d, que se liga ao antígeno e é reconhecido por CR2, aumentando assim a ativação de células B (Fig. 12-5). As proteínas da membrana, quando se encontram em uma alta densidade sobre uma superfície microbiana podem ser funcionalmente multivalentes e podem funcionar tanto de uma maneira T-independente como T-dependente. Como foi mencionado anteriormente, as respostas TI também podem ser facilitadas por sinais adicionais derivados de produtos microbianos que ativam TLRs em células B.

Embora as respostas TI tipicamente mostrem pouca troca de isotipo, alguns antígenos não proteicos T independentes induzem outros isotipos de Ig além da IgM. Em humanos, a classe dominante de anticorpos induzida pelo polissacarídeo capsular do pneumococo é a IgG2. Em camundongos geneticamente modificados para não possuir CD40, IgE e diversas subclasses de IgG são dificilmente detectáveis no soro, mas a concentração de IgG3 (que se assemelha à IgG2 humana) e de IgA apresenta uma redução de cerca da metade de seus níveis normais. As citocinas produzidas por células diferentes de células T podem estimular a troca de isotipo em respostas TI. Como foi descrito anteriormente, na ausência de células T, BAFF e APRIL produzidas por células de origem mieloide, como células dendríticas e macrófagos, a síntese de AID pode ser induzida em células B ativadas por antígeno através de um receptor da família dos receptores BAFF, denominado TACI. Isto pode ser ainda mais facilitado pela ativação de TLRs sobre essas células B. Além disso, citocinas como TGF-β que ajudam a mediar a troca para IgA são secretadas por muitas células não linfoides em mucosas e podem contribuir para a geração de anticorpos IgA contra antígenos não proteicos (Cap. 14).

## Proteção Mediada por Anticorpos T-independentes

O significado prático de antígenos TI é que muitos polissacarídeos da parede celular bacteriana pertencem a esta categoria e a imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra infecções por essas bactérias encapsuladas. Por esta razão, os indivíduos com deficiências congênitas ou adquiridas de imunidade humoral são especialmente suscetíveis a infecções potencialmente fatais com bactérias encapsuladas, como pneumococo, meningococo e *Haemophilus*.

Antígenos TI também contribuem para a geração de **anticorpos naturais**, que se encontram presentes na circulação de indivíduos normais e são aparentemente produzidos sem exposição ostensiva a patógenos. A maior parte dos anticorpos

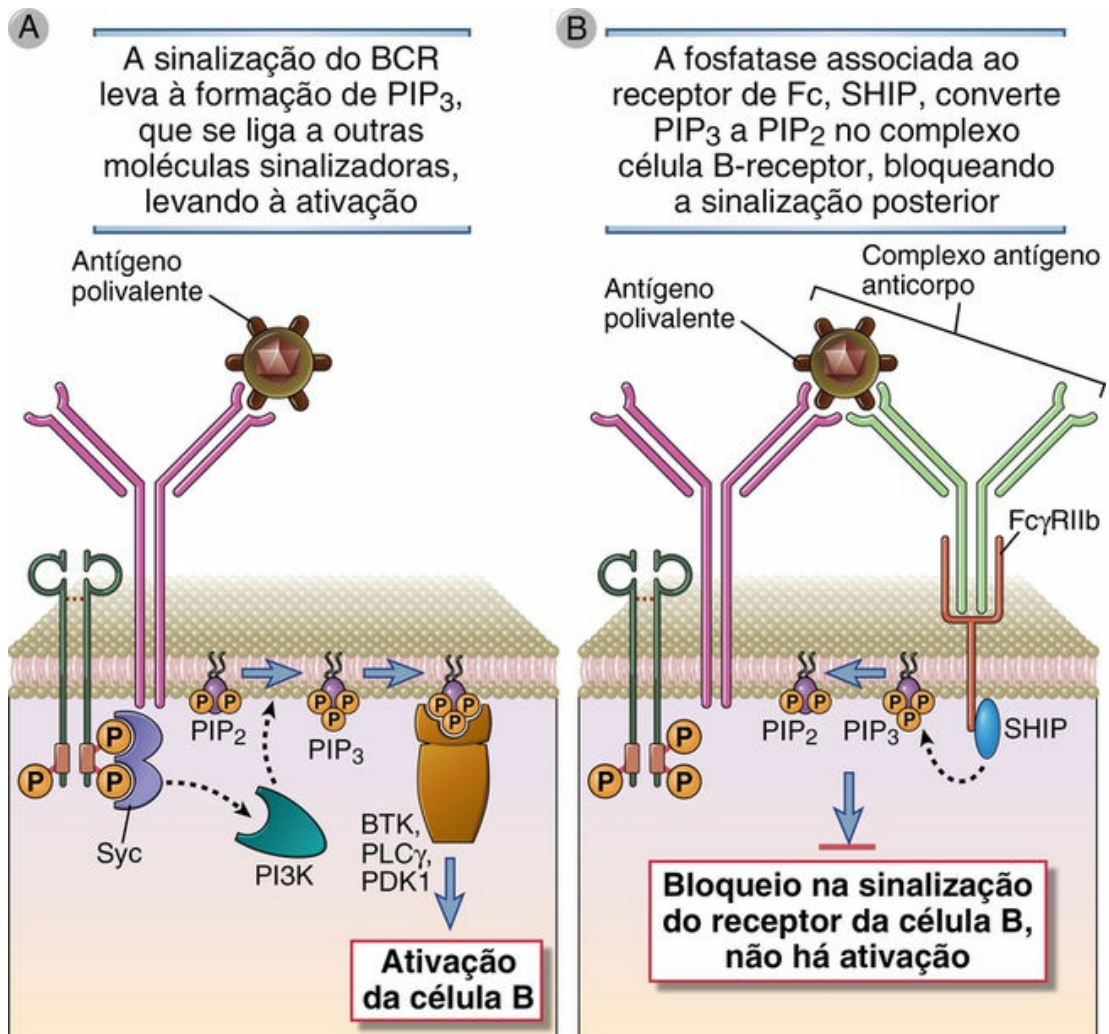
naturais são anticorpos anticarboidratos de baixa afinidade e acredita-se que sejam produzidos por células B-1 peritoneais estimulados por bactérias que colonizam o trato gastrintestinal e pelas células B da zona marginal no baço. Uma proporção extraordinariamente grande dos anticorpos naturais em humanos e em camundongos é específica para lipídios oxidados, incluindo grupos de extremidade de fosfolipídios, tais como lisofosfatidilcolina e fosforilcolina, que são encontrados em membranas de bactérias e sobre a superfície de células em apoptose, mas não são expostos na superfície das células hospedeiras normais. Algumas evidências experimentais indicam que os anticorpos naturais específicos para esses fosfolipídios proporcionam proteção contra infecções bacterianas e facilitam a fagocitose de células apoptóticas. Os anticorpos dos grupos sanguíneos ABO, outro exemplo de anticorpos naturais, reconhecem certos glicolipídios (antígenos de grupo sanguíneo) expressos na superfície de diversos tipos de células, incluindo as células do sangue. Os antígenos e anticorpos de grupo sanguíneo são importantes para transfusões de sangue e transplante, mas não para a defesa do hospedeiro e são discutidos no [Capítulo 17](#).

Apesar da sua incapacidade para ativar especificamente células T auxiliares, muitas das vacinas de polissacarídeos, como a vacina contra pneumococo, induzem uma imunidade protetora de duração bastante longa. Também podem ocorrer respostas secundárias rápidas e em grande escala, típico de memória (mas sem muita troca de isotipo ou maturação da afinidade) por exposição secundária a estes antígenos de carboidratos.

## Retroalimentação de anticorpos: regulação da resposta imune humoral por receptores Fc

**Os anticorpos secretados inibem a continuidade da ativação de células B através da formação de complexos antígeno-anticorpo que simultaneamente se ligam a receptores de antígeno e receptores Fcγ inibitórios em células B específicas ao antígeno (Fig. 12-21).** Esta é a explicação para um fenômeno chamado **retroalimentação de anticorpo**, que se refere à regulação negativa da produção de anticorpos pelos próprios anticorpos IgG secretados. Os anticorpos IgG inibem a ativação de células B por meio da formação de complexos com o antígeno e esses complexos se ligam a um receptor de células B para as porções Fc de IgG, chamado de receptor II Fcγ (FcγRIIB ou CD32). (Discutiremos receptores de Fc no [Capítulo 13](#)) A cauda citoplasmática do FcγRIIB contém um motivo de inibição de imunorreceptor baseado em tirosina (ITIM) ([Cap. 7](#)). Quando o receptor Fcγ de células B é acoplado, o ITIM na cauda citoplasmática do receptor é fosforilado nos resíduos tirosina e forma um local de ancoramento para a fosfatase-5 inositol SHIP (fosfatase inositol com domínio SH2, do inglês, *SH2 domain-containing inositol phosphatase*). O SHIP recrutado hidrolisa um fosfato no lipídio de sinalização

intermediária fosfatidilinositol trifosfato (PIP<sub>3</sub>) e o inativa. Por este mecanismo, a ligação do FcγRII finaliza a resposta de células B a antígenos. Os complexos antígeno-anticorpo interagem simultaneamente com o receptor de antígeno (através do antígeno) e com FcγRIIB (através o anticorpo) e isso traz as fosfatases inibitórias para perto dos receptores de antígeno, cuja sinalização é bloqueada.



**FIGURA 12-21** Regulação da ativação da célula B pelo FcγRIIB.

**A**, os complexos antígeno-anticorpo podem se ligar simultaneamente à Ig de membrana (através do antígeno) e ao receptor FcγRIIB através da porção Fc do anticorpo. **B**, Conseqüentemente, esta ligação simultânea de receptores faz com que as fosfatases associadas à cauda citoplasmática do FcγRIIB inibam a sinalização pelo complexo BCR e bloqueiam a ativação da célula B.

A retroalimentação de anticorpo mediada pelo receptor de Fc é um mecanismo

fisiológico de controle das respostas imunes humorais porque é desencadeada pelo anticorpo secretado e também bloqueia a produção de anticorpos. Mencionamos anteriormente neste capítulo que os anticorpos também podem amplificar sua própria produção por meio da ativação do complemento e consequente geração de C3d. Não está claro em que circunstâncias os anticorpos secretados proporcionam a amplificação mediada pelo complemento ou a inibição mediada pelo receptor de Fc. Um cenário provável é que no início das respostas imunes humorais, os anticorpos IgM (que ativam complemento, mas não se ligam ao receptor Fcγ) estão envolvidos nessa amplificação, ao passo que a produção crescente de IgG leva à inibição por um mecanismo de retroalimentação.

A importância da inibição mediada por FcγRIIB é demonstrada pela produção de anticorpos descontrolada observada em camundongos nos quais o gene que codifica este receptor foi nocauteado. Um polimorfismo no gene *FcγRIIB* vem sendo associado à suscetibilidade ao desenvolvimento da doença autoimune conhecida como lúpus eritematoso sistêmico em humanos.

As células B expressam outro receptor inibitório chamado CD22, que é uma lectina de ligação de ácido siálico; seu ligante natural não é conhecido, nem se sabe exatamente como o CD22 está envolvido durante as respostas fisiológicas de células B. No entanto, camundongos deficientes para CD22 exibem uma ativação de células B bastante aumentada. A cauda citoplasmática dessa molécula contém resíduos de tirosina ITIM, os quais, quando fosforilados pela quinase Lyn da família Src, ligam-se ao domínio SH2 da tirosina-fosfatase SHP-1. SHP-1 remove fosfatos dos resíduos de tirosina de várias enzimas e proteínas adaptadoras envolvidas na sinalização do BCR e, assim, impede a ativação da célula B. Uma linhagem de camundongo conhecida como *moth-eaten*, que desenvolve autoimunidade grave com ativação descontrolada de células B e produção de autoanticorpos, apresenta uma mutação de ocorrência natural em SHP-1. A deleção condicional de SHP-1, bem como a perda por engenharia genética de Lyn nas células B, leva a uma quebra de tolerância periférica das células B e ao desenvolvimento de autoimunidade.

## Resumo

Nas respostas imunes humorais, os linfócitos B são ativados pelo antígeno e secretam anticorpos que atuam na eliminação do antígeno. Tanto antígenos proteicos quanto não proteicos podem estimular as respostas de anticorpos. As respostas da célula B aos antígenos proteicos requerem a contribuição das células T auxiliares CD4<sup>+</sup> específicas para o antígeno.

As respostas de célula B dependentes da célula T auxiliar a antígenos proteicos requerem a ativação inicial das células T imaturas nas zonas de célula T e de células B nos folículos linfoides dos órgãos linfoides. Os linfócitos ativados migram um em direção ao outro e interagem nas margens dos folículos, onde a célula B

apresenta o antígeno para as células T auxiliares.

As células T auxiliares ativadas expressam CD40L, que se liga a CD40 nas células B; e as células T secretam citocinas que se ligam a seus receptores sobre as células B. A combinação dos sinais de CD40 e das citocinas estimulam a proliferação e a diferenciação da célula B.

A estimulação das células B ativadas nos locais extrafoliculares pelas células T auxiliares leva à formação de focos extrafoliculares onde ocorre alguma troca de isotipo e geração de plasmócitos de vida curta.

Algumas células T ativadas se diferenciam em células T<sub>FH</sub> especializadas que expressam altos níveis de ICOS e de CXCR5 e secretam IL-21. As células T<sub>FH</sub> e as células B ativadas migram para o folículo e as células T<sub>FH</sub> ativam essas células B específicas para iniciar a formação dos centros germinativos. Os eventos tardios nas respostas de anticorpos T-dependentes ocorrem dentro dos centros germinativos e incluem a extensiva troca de isotipo, a mutação somática, a maturação de afinidade, a geração de células B de memória e a indução de plasmócitos de vida longa.

Os sinais derivados das células T auxiliares, incluindo CD40L e citocinas, induzem a troca de isotipo nas células B por meio do processo de recombinação gênica, levando à produção de diversos isotipos de Ig. A troca de isotipo requer a indução de AID, uma deaminase de citidina que converte a citosina em uracila na fita simples de DNA e as diferentes citocinas possibilitam que a AID acesse os *loci* distintos da cadeia pesada logo em seguida.

A maturação de afinidade ocorre nos centros germinativos e leva a um aumento da afinidade dos anticorpos durante o curso de uma resposta humoral T-dependente. A maturação de afinidade é um resultado da mutação somática dos genes das cadeias leve e pesada de Ig induzida por AID, seguida pela sobrevivência seletiva de células B que produzem anticorpos de alta afinidade e se ligam ao antígeno exposto pelas FDCs nos centros germinativos. As células T<sub>FH</sub> também participam na seleção de células B de alta afinidade.

Algumas das progênies de células B dos centros germinativos se diferenciam em plasmócitos secretores de anticorpos que, por sua vez, migram para a medula óssea. Outras progênies tornam-se células B de memória e vivem por longos períodos, recirculam entre os linfonodos e o baço e respondem rapidamente a exposições subseqüentes ao antígeno diferenciando-se em secretores de anticorpos de alta afinidade. A expressão de diversos fatores de transcrição controla a diferenciação das células B ativadas em plasmócitos ou em células de memória.

Os antígenos T-independentes (TI) geralmente são antígenos não proteicos que induzem respostas imunes humorais sem o envolvimento de células T auxiliares. Muitos antígenos TI, incluindo polissacarídeos, glicolipídios de membrana e ácidos nucleicos, são multivalentes, podem fazer ligação cruzada em múltiplas moléculas



Ig de membrana em uma célula B e ativar o complemento, ativando, assim, as células B sem o auxílio da célula T. A ativação de TLR nas células B por produtos microbianos facilita a ativação T-independente da célula B. Os antígenos TI estimulam as respostas de anticorpos nas quais ocorre troca de classe de cadeia pesada limitada, assim como limitada maturação de afinidade ou geração de célula B de memória, porque essas características dependem largamente das células T auxiliares, que não são ativadas por antígenos não proteicos. No entanto, pode ocorrer a indução de alguma troca de isotipo T-independente por meio da estimulação de TLR por microrganismos, o que pode levar à produção de citocinas da família do TNF, capazes de ativar as células B para induzir AID.

A retroalimentação de anticorpos é um mecanismo pelo qual as respostas imunes humorais são negativamente reguladas quando houve produção suficiente de anticorpo e ocorre a formação de complexos antígeno-anticorpo. As Ig de membrana das células B e o receptor de porções Fc de IgG sobre as mesmas células B, denominado FcγRIIB, são agrupados por complexos antígeno-anticorpo. Isso ativa uma cascata de sinalização inibitória através da cauda citoplasmática do FcγRIIB que finaliza a ativação da célula B.

## Leituras selecionadas

### Subpopulações e Ativação da Célula B

Cerutti, A., Cols, M., Puga, I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:118–132.

Gonzalez, S. F., Degn, S. E., Pitcher, L. A., Woodruff, M., Heesters, B. A., Carroll, M. C. Trafficking of B cell antigen in lymph nodes. *Annual Review of Immunology*. 2011; 29:215–233.

Goodnow, C. C., Vinuesa, C. G., Randall, K. L., Mackay, F., Brink, R. Control systems and decision making for antibody production. *Nature Immunology*. 2010; 11:681–688.

Martin, F., Chan, A. C. B cell immunobiology in disease: evolving concept from the clinic. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:467–496.

Mauri, C., Bosma, A. Immune regulatory function of B cells. *Annual Review of immunology*. 2012; 30:221–241.

Rickert, R. C. New insights into pre-BCR and BCR signalling with relevance to B cell malignancies. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:578–591.

Yuseff, M. I., Pierobon, P., Reversat, A., Lennon-Dumenil, A. M. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:475–486.

## **Células T Auxiliares Foliculares e a Reação do Centro Germinativo**

- Crotty, S. Follicular helper CD4 T cells. *Annual Review of Immunology*. 2011; 29:621–663.
- Crotty, S., Johnston, R. J., Schoenberger, S. P. Effectors and memories: Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte differentiation. *Nature Immunology*. 2010; 11:114–120.
- McHeyzer-Williams, M., Okitsu, S., Wang, N., McHeyzer-Williams, L. Molecular programming of B cell memory. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:24–34.
- Tangye, S. G., Ma, C. S., Brink, R., Deenick, E. K. The good, the bad and the ugly - TFH cells in human health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:412–426.
- Victora, G. D., Nussenzweig, M. C. Germinal centers. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:429–457.
- Vinuesa, C. G., Sanz, I., Cook, M. C. Dysregulation of germinal centres in autoimmune disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:845–857.

## **AID, Troca de Classe e Mutação Somática**

- Cerutti, A. The regulation of IgA class switching. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:421–434.
- Delker, R. K., Fugmann, S., Papavasiliou, F. N. A coming-of-age story: activation-induced cytidine deaminase turns 10. *Nature Immunology*. 2009; 10:1147–1153.
- Kato, L., Stanlie, A., Begum, N. A., Kobayashi, M., Aida, M., Honjo, T. An evolutionary view of the mechanism for immune and genome diversity. *Journal of Immunology*. 2012; 188:3559–3566.
- Liu, M., Schatz, D. G. Balancing AID and DNA repair during somatic hypermutation. *Trends in Immunology*. 2009; 30:173–181.
- Neuberger, M. S. Antibody diversification by somatic mutation: from Burnet onwards. *Immunology and Cell Biology*. 2008; 86:124–132.
- Peled, J. U., Kuang, F. L., Iglesias-Ussel, M. D., Roa, S., Kalis, S. L., Goodman, M. F., Scharff, M. D. The biochemistry of somatic hypermutation. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:481–511.
- Stavnezer, J., Guikema, J. E., Schrader, C. E. Mechanism and regulation of class switch recombination. *Annual Review of Immunology*. 2008; 26:261–292.

## CAPÍTULO 13

# Mecanismos Efetores da Imunidade Humoral

### VISÃO GERAL DA IMUNIDADE HUMORAL

### NEUTRALIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS E TOXINAS MICROBIANAS

### OPSONIZAÇÃO E FAGOCITOSE MEDIADAS POR ANTICORPOS

Receptores de Fc em Leucócitos

Citotoxicidade Mediada por Células Dependente de Anticorpo

Eliminação de Helmintos Mediada por Anticorpo

### SISTEMA COMPLEMENTO

Vias de Ativação do Complemento

Receptores para Proteínas do Complemento

Regulação da Ativação do Complemento

Funções do Complemento

Deficiências do Complemento

Efeitos Patológicos do Sistema Complemento

Evasão do Complemento por Microrganismos

### IMUNIDADE NEONATAL

### RESUMO

A imunidade humoral é mediada por anticorpos secretados, e sua função fisiológica é a defesa contra microrganismos extracelulares e toxinas microbianas. Esse tipo de imunidade contrasta com a imunidade mediada por células, o outro braço efetor do sistema imune adaptativo, que é mediada por linfócitos T e cuja função é a eliminação de microrganismos que infectam as células hospedeiras e nelas vivem (Caps. 10 e 11). A imunidade humoral é a forma de imunidade que pode ser transferida de indivíduos imunizados para não imunizados por meio do soro. Os tipos de microrganismos que são combatidos pela imunidade humoral são bactérias extracelulares, fungos e até microrganismos intracelulares como vírus, que são alvos de anticorpos antes de infectarem as células ou quando são liberados a partir de células infectadas. Defeitos na produção de anticorpos resultam em suscetibilidade

aumentada a infecções por muitos agentes, incluindo bactérias, fungos e vírus. As vacinas atualmente em uso induzem proteção primariamente pela estimulação da produção de anticorpos (Tabela 13-1). Apesar de seus papéis protetores essenciais, os anticorpos podem ser perigosos e medeiam a lesão tecidual em indivíduos alérgicos e em determinadas doenças autoimunes. Neste capítulo, discutiremos os mecanismos efetores que são utilizados pelos anticorpos para eliminar antígenos. A estrutura dos anticorpos está descrita no Capítulo 5 e o processo de produção de anticorpos no Capítulo 12.

**Tabela 13-1**

**Imunidade Humoral Induzida por Vacinas**

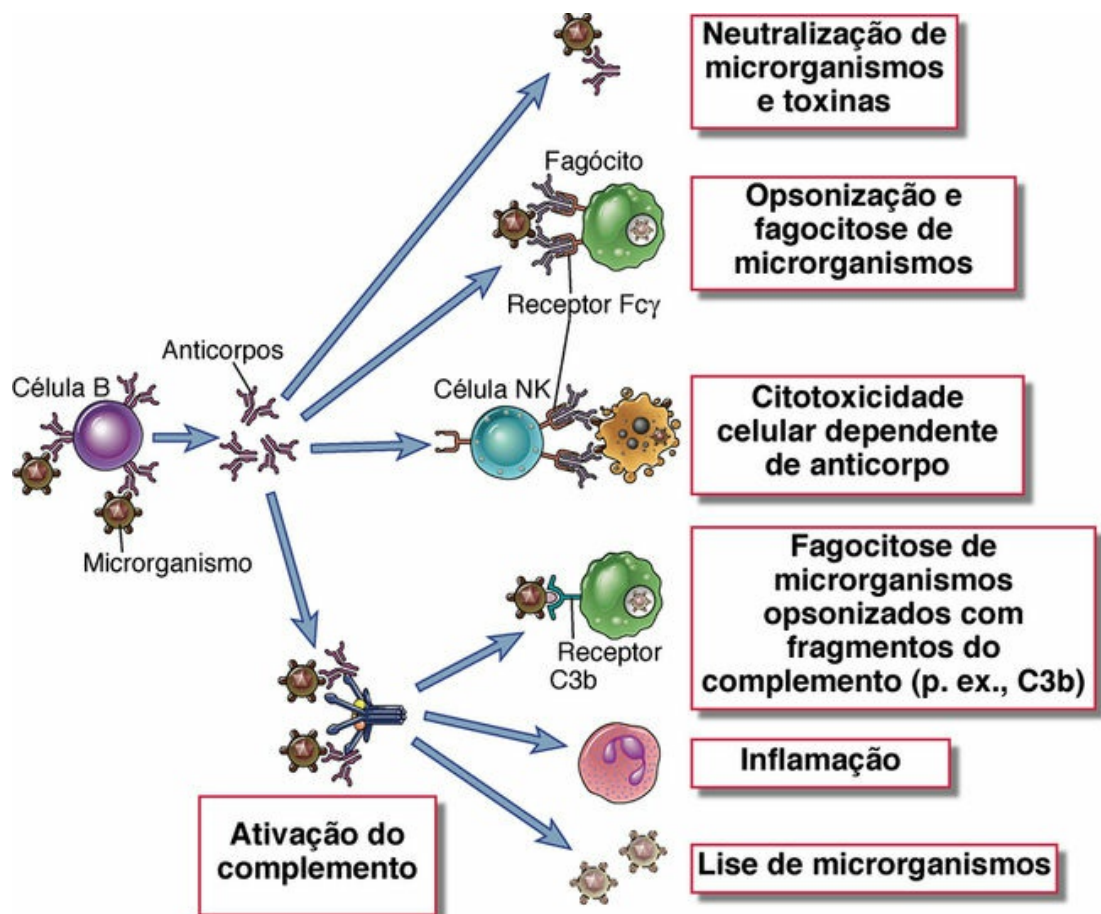
Doença Infeciosa	Vacina *	Mecanismo de Imunidade Protetora
Pólio	Oral de vírus da pólio atenuado	Neutralização do vírus por anticorpo IgA de mucosa
Tétano, difteria	Toxoides	Neutralização da toxina por anticorpo IgG sistêmico
Hepatite A ou B	Proteínas recombinantes do envelope viral	Neutralização do vírus por anticorpo IgA de mucosa ou IgG sistêmico
Pneumonia por pneumococo, <i>Haemophilus</i>	Vacinas conjugadas compostas de polissacarídeo da cápsula bacteriana acoplado a uma proteína carreadora	Opsonização e fagocitose mediadas por anticorpos IgM e IgG, diretamente ou após ativação do complemento

\* São listados exemplos selecionados de vacinas que funcionam por estimulação da imunidade humoral protetora.

**Visão geral da imunidade humoral**

Antes de discutirmos os principais mecanismos pelos quais os anticorpos proporcionam proteção contra microrganismos, resumiremos algumas das características mais importantes da defesa do hospedeiro mediada por anticorpos.

- **As principais funções dos anticorpos são neutralizar e eliminar microrganismos infecciosos e as toxinas microbianas** (Fig. 13-1). Como veremos adiante, a eliminação de antígenos mediada por anticorpos envolve diversos mecanismos efetores e requer a participação de vários componentes celulares e humorais do sistema imune, incluindo fagócitos e proteínas do sistema complemento.



**FIGURA 13-1** Funções efetoras dos anticorpos.

Anticorpos contra microrganismos (e suas toxinas, não mostrado) neutralizam esses agentes, opsonizam os mesmos para fagocitose, promovem sua sensibilização para o processo de citotoxicidade celular dependente de anticorpo e ativam o sistema complemento. Essas diversas funções efetoras podem ser mediadas por diferentes isotipos de anticorpos.

- **Os anticorpos são produzidos por plasmócitos nos órgãos linfoides secundários e na medula óssea e realizam suas funções efetoras em locais distantes de onde são produzidos.** Os anticorpos produzidos nos linfonodos, no baço e na medula óssea podem entrar na circulação sanguínea e, então, circular por todo o corpo. Os anticorpos produzidos nos tecidos linfoides associados às mucosas são transportados através das barreiras epiteliais para o lúmen de órgãos mucosos, como o intestino e as vias respiratórias, onde esses anticorpos secretados bloqueiam a entrada de microrganismos ingeridos ou inalados (Cap. 14). Os anticorpos também são ativamente transportados através da placenta para a circulação do feto em desenvolvimento. Ocasionalmente, os anticorpos podem ser produzidos em tecidos periféricos não linfoides, em locais de infecção ou de inflamação crônica. Na imunidade mediada por células, os linfócitos

T ativados são capazes de migrar para locais periféricos de infecção e inflamação, mas não são transportados para as secreções mucosas ou através da placenta.

- **Os anticorpos que medeiam a imunidade protetora podem ser derivados de plasmócitos produtores de anticorpos de vida longa ou curta.** A primeira exposição ao antígeno, seja por infecção ou vacinação, leva à ativação de linfócitos B virgens e sua diferenciação em plasmócitos secretores de anticorpos e células de memória (Cap. 12). A exposição subsequente ao mesmo antígeno leva à ativação de células B de memória e a uma resposta de anticorpos mais intensa e rápida. Os plasmócitos gerados em uma resposta imune ou aqueles provenientes de células B da zona marginal ou de células B-1 em respostas imunes T-independentes tendem a ser plasmócitos de vida curta. Em contrapartida, plasmócitos secretores de anticorpos de alta afinidade, que sofreram mudança de classe e são produzidos em centros germinativos durante respostas T-dependentes a antígenos proteicos, migram para a medula óssea e lá persistem produzindo anticorpos continuamente por anos após a eliminação do antígeno. Muitas das imunoglobulinas G (IgG) encontradas no soro de indivíduos normais derivam desses plasmócitos de vida longa que foram induzidos por respostas de células B virgens e de memória a vários antígenos durante toda a vida do indivíduo. Se um indivíduo normoimune for exposto a um microrganismo com o qual já tivera contato prévio, o nível de anticorpos circulantes produzido pelos plasmócitos de vida longa garante proteção imediata contra a infecção. Ao mesmo tempo, as células B de memória geram grandes quantidades de anticorpos, proporcionando uma segunda e mais eficaz onda de proteção.
- **Muitas das funções efetoras dos anticorpos são mediadas pelas regiões constantes da cadeia pesada das moléculas de Ig, e os diferentes isotipos de cadeia pesada possuem distintas funções efetoras (Tabela 13-2).** Por exemplo, algumas subclasses de IgG (IgG1 e IgG3) ligam-se aos receptores Fc de fagócitos e promovem a fagocitose de partículas recobertas por anticorpo; IgM e algumas subclasses de IgG (IgG1, IgG2 e IgG3, mas não IgG4) ativam o sistema complemento; e IgE liga-se aos receptores Fc de mastócitos e desencadeia sua ativação. Cada um desses mecanismos efetores será discutido posteriormente neste capítulo. O sistema imune humoral é especializado de tal maneira que diferentes exposições de microrganismos ou antígenos estimulam a mudança de isotipo na célula B para um tipo que seja mais eficiente no combate a esses agentes. O principal estímulo para a troca de isotipo durante o processo de ativação da célula B são as citocinas e o ligante do CD40 expresso pelas células T auxiliares foliculares (Cap. 12). A neutralização é a única função de anticorpos que é mediada inteiramente pela ligação do antígeno e não requer participação das regiões constantes da Ig.



**Tabela 13-2**

**Funções dos Isotipos de Anticorpos**

Isotipo de Anticorpos	Funções Efetoras Específicas do Isotipo
IgG	Opsonização de antígenos para fagocitose por macrófagos e neutrófilos Ativação da via clássica do complemento Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos mediada por célula <i>natural killer</i> Imunidade neonatal: transferência de anticorpos maternos através da placenta e do intestino Inibição da ativação da célula B por retroalimentação
IgM	Ativação da via clássica do complemento Receptor de antígeno de linfócitos B virgens*
IgA	Imunidade de mucosa: secreção de IgA para o lúmen dos tratos gastrointestinal e respiratório
IgE	Desgranulação de mastócitos (reações de hipersensibilidade imediata)
IgD	Receptor de antígeno de linfócitos B virgens*

\*Essas funções são mediadas por anticorpos ligados à membrana e não secretados.

- **Apesar de muitas das funções efetoras dos anticorpos serem mediadas pelas regiões constantes da cadeia pesada da Ig, todas elas são desencadeadas pela ligação do antígeno às regiões variáveis.** A ligação do anticorpo a um antígeno multivalente, como um polissacarídeo ou um epítipo repetido sobre uma superfície microbiana, aproxima as regiões do Fc, e esse agrupamento de moléculas de anticorpo leva à ativação do complemento e possibilita que os anticorpos se liguem a receptores de Fc em fagócitos e os ative. A necessidade de ligação ao antígeno assegura que os anticorpos atuem diversos mecanismos efetores somente quando é preciso, ou seja, quando os anticorpos encontram e se ligam especificamente aos antígenos, não quando os anticorpos estão apenas circulando em sua forma livre de antígeno.

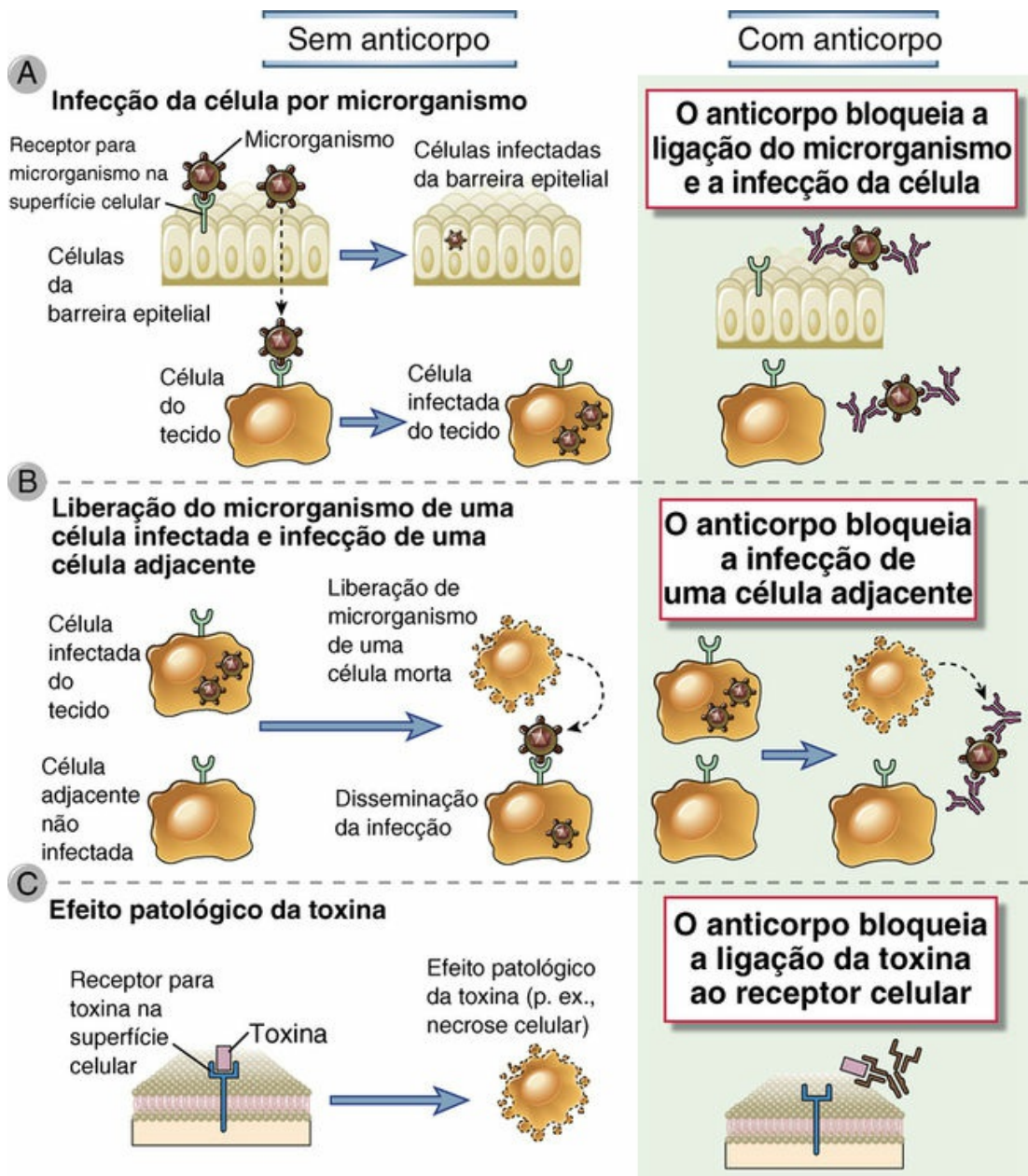
Com essa introdução à imunidade humoral, iniciaremos a discussão das diversas funções dos anticorpos na defesa do hospedeiro.

## **Neutralização de microrganismos e toxinas microbianas**

**Os anticorpos contra microrganismos e toxinas microbianas bloqueiam a ligação desses agentes e suas toxinas aos receptores celulares (Fig. 13-2).**

Dessa maneira, os anticorpos inibem, ou neutralizam, a infectividade de microrganismos, bem como os potenciais efeitos lesivos das toxinas microbianas. Muitos microrganismos penetram nas células hospedeiras por meio da ligação de determinadas moléculas da superfície microbiana a proteínas ou lipídios de membrana presentes na superfície das células hospedeiras. Por exemplo, os vírus influenza usam a hemaglutinina de seu envelope para infectar as células epiteliais respiratórias e as bactérias Gram-negativas utilizam suas pilosidades para aderir e infectar uma variedade de células hospedeiras. Os anticorpos que se ligam a essas estruturas microbianas interferem na capacidade desses agentes de interagir com os

receptores celulares por meio do bloqueio estereoquímico e podem, assim, evitar a infecção. Em alguns casos, os anticorpos podem se ligar ao microrganismo e induzir alterações conformacionais em moléculas de superfície que impedem a interação do agente com receptores celulares; tais interações são exemplos dos efeitos alostéricos dos anticorpos. Muitas toxinas microbianas também medeiam seus efeitos patológicos pela ligação a receptores celulares específicos. Por exemplo, a toxina tetânica liga-se a receptores na placa terminal motora das junções neuromusculares e inibe a transmissão neuromuscular, levando à paralisia, e a toxina diftérica liga-se aos receptores celulares e entra em várias células, onde inibe a síntese proteica. Anticorpos contra tais toxinas dificultam estereoquimicamente as interações de toxinas com as células hospedeiras e, então, impedem que as toxinas produzam lesão e doença.



**FIGURA 13-2** Neutralização de microrganismos e toxinas por anticorpos.

**A,** Os anticorpos impedem a ligação de microrganismos a células e, assim, bloqueiam a capacidade desses agentes de infectarem as células hospedeiras. **B,** Os anticorpos inibem a disseminação dos microrganismos de uma célula infectada para uma célula adjacente não infectada. **C,** Os anticorpos bloqueiam a ligação de toxinas a células e, assim, inibem os efeitos patológicos das toxinas.

A neutralização de microrganismos e toxinas mediada por anticorpos requer apenas a participação das regiões de ligação ao antígeno. Portanto, tal neutralização pode ser mediada por anticorpos de qualquer isotipo presente na circulação e nas

secreções mucosas, bem como ser experimentalmente mediada por fragmentos Fab ou F(ab')<sub>2</sub> de anticorpos específicos, os quais não possuem regiões Fc das cadeias pesadas. A maior parte dos anticorpos neutralizantes no sangue consiste em isotipo IgG; nos órgãos mucosos, o isotipo prevalente é IgA. Os anticorpos neutralizantes mais eficazes são aqueles com afinidades altas para seus antígenos. Os anticorpos de alta afinidade são produzidos pelo processo de maturação de afinidade (Cap. 12). Muitas vacinas profiláticas funcionam pela estimulação da produção de anticorpos neutralizantes de alta afinidade (Tabela 13-1). Um mecanismo que os microrganismos desenvolveram para se evadir da imunidade do hospedeiro é a mutação de genes codificantes de antígenos de superfície que são alvo dos anticorpos neutralizantes (Cap. 16).

## Opsonização e fagocitose mediadas por anticorpos

***Os anticorpos do isotipo IgG cobrem (opsonizam) os microrganismos e promovem sua fagocitose pela ligação de receptores de Fc nos fagócitos.*** Os fagócitos mononucleares e os neutrófilos ingerem os microrganismos como um prelúdio para a morte e degradação intracelular. Esses fagócitos expressam uma variedade de receptores de superfície que se ligam diretamente aos microrganismos e os internalizam, mesmo sem a presença de anticorpos, proporcionando um mecanismo de imunidade inata (Cap. 4). A eficiência desse processo pode ser acentuadamente aumentada se o fagócito puder se ligar à partícula com afinidade alta. Os fagócitos mononucleares e os neutrófilos expressam receptores para as porções Fc dos anticorpos IgG que se ligam especificamente a partículas recobertas por anticorpos. Os microrganismos também podem ser cobertos por um subproduto da ativação do complemento denominado C3b e são fagocitados pela ligação a um receptor de leucócito para C3b (descrito mais adiante neste capítulo). O processo de cobertura de partículas para promover a fagocitose é denominado **opsonização**, e substâncias que fazem essa função, incluindo anticorpos e proteínas do complemento, são chamadas de **opsoninas**.

## Receptores de Fc em Leucócitos

***Os leucócitos expressam receptores de Fc que se ligam às regiões constantes de anticorpos e, assim, promovem a fagocitose de partículas cobertas de Ig e liberam sinais que regulam as atividades dos leucócitos; outros receptores de Fc medeiam o transporte de anticorpos para diversos locais.*** Os receptores de Fc para diferentes isotipos de cadeia pesada são expressos em muitas populações leucocitárias e apresentam diversas funções na imunidade. Dentre esses receptores de Fc, aqueles que são mais importantes para a fagocitose de partículas opsonizadas são os receptores para as cadeias pesadas de

anticorpos IgG, chamados receptores Fc $\gamma$ , que serão os receptores primariamente considerados neste capítulo. No **Capítulo 20**, discutiremos os receptores de Fc que se ligam a IgE. No **Capítulo 5**, descreveremos o receptor de Fc neonatal (FcRn), que é expresso na placenta e no endotélio vascular, bem como em outros tipos celulares. No **Capítulo 14**, abordaremos o receptor de poli-Ig, que está envolvido na transcitose de IgA e IgM.

Os receptores Fc $\gamma$  foram classificados em três grupos, I, II e III, com base em suas afinidades para as cadeias pesadas de diferentes subclasses de IgG. Diferentes receptores de Fc também são expressos em distintos tipos celulares (**Tabela 13-3**). Em geral, os imunocomplexos contendo IgG1 e IgG3 se ligam eficientemente a receptores de Fc, ativando-os, e os imunocomplexos contendo IgG2 não se ligam bem. IgG4 possui uma afinidade muito baixa para ativar os receptores Fc, e a função biológica desse anticorpo não é muito bem compreendida. A ligação à maior parte dos receptores Fc resulta em ativação celular, exceto o Fc $\gamma$ RIIB, que é um receptor inibitório. Todos os receptores Fc $\gamma$  contêm uma cadeia de ligação ao ligante, denominada cadeia  $\alpha$ , que reconhece as cadeias pesadas da IgG. As diferenças observadas em relação à especificidade ou afinidade de cada Fc $\gamma$ R para os diversos isotipos de IgG baseiam-se nas distinções na estrutura dessas cadeias  $\alpha$ . Todos os receptores Fc são ativados de forma ideal por anticorpos ligados aos seus antígenos e não por estas moléculas livres, circulantes. Em todos os FcRs, exceto o Fc $\gamma$ RII, a cadeia  $\alpha$  está associada a uma ou mais cadeias polipeptídicas adicionais envolvidas na transdução de sinal (**Fig. 13-3**). As funções de sinalização do Fc $\gamma$ RII são mediadas pela cauda citoplasmática desse receptor de cadeia única.

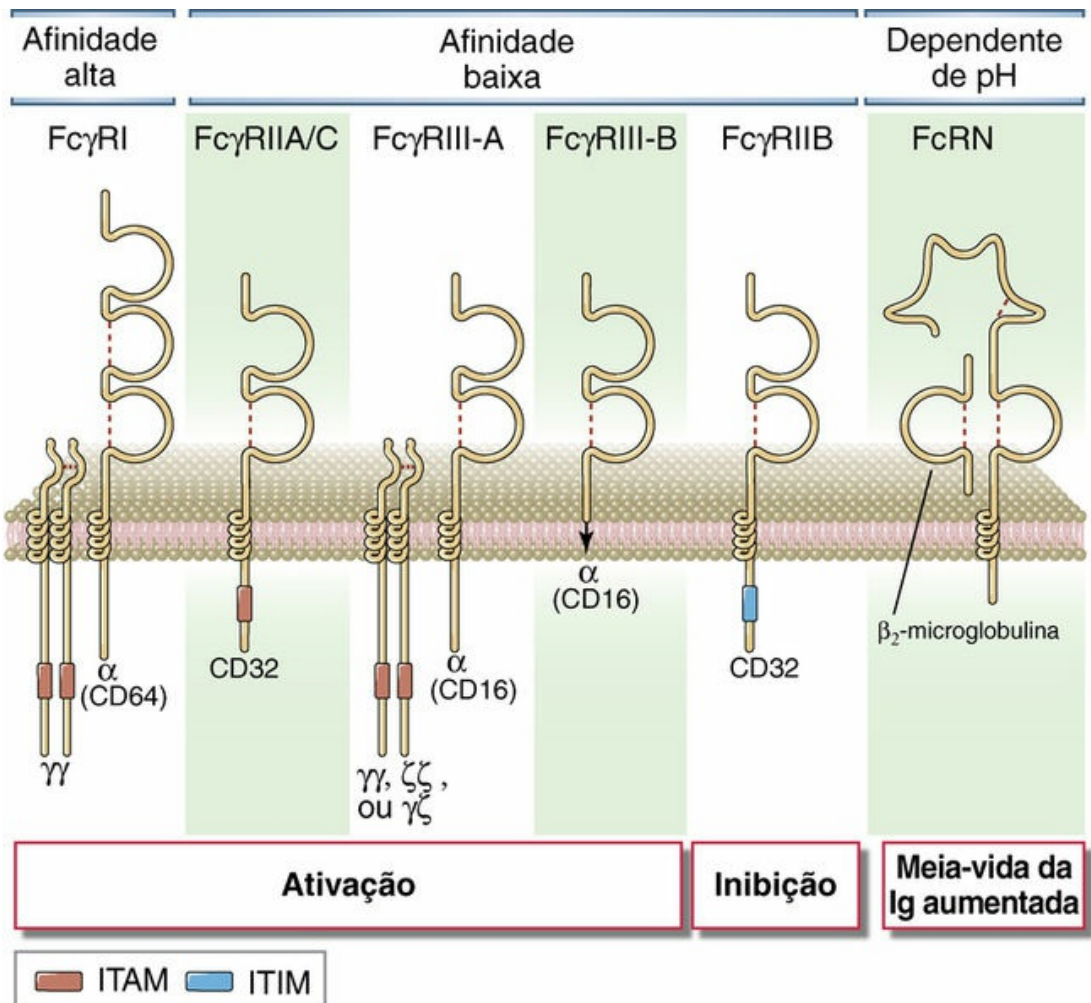
**Tabela 13-3**

**Receptores Fc**

FcR	Afinidade para Imunoglobulinas	Distribuição Celular	Função
Fc $\gamma$ RI (CD64)	Alta ( $K_d < 10^{-9}$ M); liga-se a IgG1 e IgG3, pode se ligar a IgG monomérica	Macrófagos, neutrófilos; também eosinófilos	Fagocitose; ativação de fagócitos
Fc $\gamma$ RIIA (CD32)	Baixa ( $K_d > 10^{-7}$ M)	Macrófagos, neutrófilos; eosinófilos, plaquetas	Fagocitose; ativação celular
Fc $\gamma$ RIIB (CD32)	Baixa ( $K_d > 10^{-7}$ M)	Linfócitos B, macrófagos, células dendríticas, outras células	Inibição da retroalimentação de diversas a respostas celulares
Fc $\gamma$ RIIC (CD32)	Baixa ( $K_d > 10^{-7}$ M)	Macrófagos, neutrófilos, células NK	Fagocitose, ativação celular
Fc $\gamma$ RIIA (CD16)	Baixa ( $K_d > 10^{-8}$ M)	Células NK	Citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo
Fc $\gamma$ RIIB (CD16)	Baixa ( $K_d > 10^{-8}$ M); proteína ligada a GPI	Neutrófilos	Fagocitose (ineficiente)
Fc RI	Alta ( $K_d > 10^{-10}$ M); liga-se a IgE monomérica	Mastócitos, basófilos, eosinófilos	Ativação celular (desgranulação)
Fc RII (CD23)	Baixa ( $K_d > 10^{-7}$ M)	Linfócitos B, eosinófilos, células de Langerhans	Desconhecido
Fc $\alpha$ R (CD89)	Baixa ( $K_d > 10^{-8}$ M)	Neutrófilos, eosinófilos, monócitos	Ativação celular?

*GPI*, glicofosfatidilinositol; *NK*, *natural killer*.





**FIGURA 13-3** Composição de subunidades dos receptores Fcγ.

Modelos esquemáticos dos diferentes receptores de Fc humanos ilustram as cadeias α de ligação ao Fc e as subunidades de sinalização. O FcγRIII-B é uma proteína de membrana ancorada em glicofosfatidilinositol, sem funções de sinalização conhecidas. O FcγRIIA e IIC são receptores de ativação estruturalmente semelhantes e de baixa afinidade com ligeira diferença em relação aos padrões de expressão. Note-se que, embora o FcγRIIA/C e o FcγRIIB sejam ambos designados como CD32, trata-se de proteínas diferentes com funções distintas (ver texto). O FcR neonatal (FcRn) assemelha-se estruturalmente a moléculas de MHC de classe I, mas não possui uma fenda de ligação ao peptídeo.

Os três grupos principais de receptores Fc IgG-específicos apresentam múltiplas isoformas que podem ser diferentes entre si na estrutura e na função (Tabela 13-3); eles são descritos a seguir. O FcRn tem função ímpar e foi discutido no Capítulo 5.

- **FcγRI** (CD64) é o principal receptor Fcγ em fagócitos. É expresso em macrófagos e



neutrófilos e liga-se a IgG1 e IgG3 com alta afinidade ( $K_d$  de  $10^{-8}$  a  $10^{-9}$  M). Em camundongos, o Fc $\gamma$ RI liga-se preferencialmente a anticorpos IgG2a e IgG2b/2c. A grande região aminoterminal extracelular da cadeia  $\alpha$  que se liga ao Fc dobra-se em três domínios Ig-símile em *tandem*. A cadeia  $\alpha$  do Fc $\gamma$ RI é associada a um homodímero, ligado por dissulfureto, de uma proteína de sinalização chamada de cadeia  $\gamma$  do FcR. Esta cadeia  $\gamma$  também é encontrada nos complexos de sinalização associados a Fc $\gamma$ RIII, Fc $\alpha$ R e Fc $\epsilon$ RI. A cadeia  $\gamma$  possui apenas uma porção extracelular aminoterminal curta, mas uma grande porção citoplasmática carboxiterminal, que é estruturalmente homóloga à cadeia  $\zeta$  do complexo receptor de células T (TCR). Como a cadeia  $\zeta$  do TCR, a cadeia  $\gamma$  do FcR contém um motivo de ativação imunorreceptor com base em tirosina (ITAM), que faz o pareamento do agrupamento de receptores para ativar as proteinoquinases de tirosina. O Fc $\gamma$ RI, da mesma forma que o receptor de alta afinidade para IgE (Cap. 20), está constantemente saturado com seus ligantes de Ig. A ativação de receptores Fc requer que os receptores estejam agrupados no plano da membrana, e o agrupamento e sua consequente ativação pelo Fc $\gamma$ RI são mediados pela ligação cruzada de moléculas de IgG ligadas ao receptor a antígenos multivalentes.

A transcrição do gene Fc $\gamma$ RI e sua expressão nos macrófagos são estimuladas pelo interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Os isotipos de anticorpo que se ligam de melhor maneira a receptores Fc $\gamma$  (como IgG2a em camundongos) também são produzidos, em parte, como um resultado da troca de isotipo de células B mediada por IFN- $\gamma$ . Além disso, o IFN- $\gamma$  estimula diretamente a atividade microbida de fagócitos (Cap. 11).

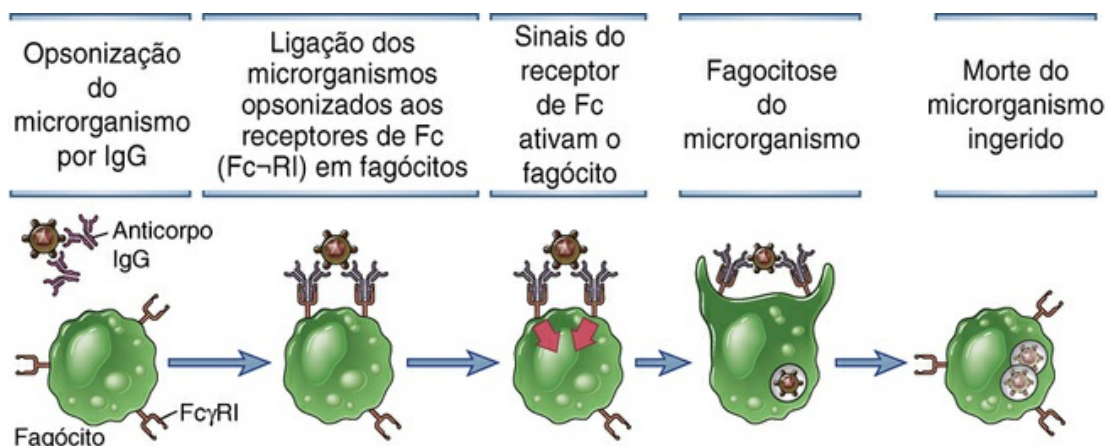
- **Fc $\gamma$ RII** (CD32) liga-se a subtipos de IgG humana (IgG1 e IgG3) com uma afinidade baixa ( $K_d$   $10^{-6}$  M). Em humanos, a duplicação de genes e a diversificação resultaram na geração de três formas, chamadas Fc $\gamma$ RII A, B e C. Estas isoformas possuem domínios extracelulares e especificidades de ligantes semelhantes, mas diferem na estrutura da cauda citoplasmática, na distribuição celular e nas funções. O Fc $\gamma$ RIIA é expresso pelos neutrófilos e fagócitos mononucleares e participa da fagocitose de partículas opsonizadas, ao passo que o Fc $\gamma$ RIIC é expresso em fagócitos mononucleares, neutrófilos e células NK. As caudas citoplasmáticas do Fc $\gamma$ RIIA e do Fc $\gamma$ RIIC contêm ITAMs e podem emitir um sinal de ativação de fagócitos quando há agrupamento de partículas ou células revestidas por IgG1 ou por IgG3. O Fc $\gamma$ RIIB é um receptor inibitório expresso em células mieloides e em células B, sendo o único receptor de Fe em células B. Sua função será descrita mais adiante.
- **Fc $\gamma$ RIII** (CD16) também é um receptor de baixa afinidade para IgG. A porção de extracelular de ligação ao ligante do Fc $\gamma$ RIII é semelhante à do Fc $\gamma$ RII em estrutura, afinidade e especificidade para IgG. Esse receptor existe em duas formas, codificadas por genes separados. A isoforma Fc $\gamma$ RIIIA é uma proteína transmembrânica expressa principalmente em células NK. A isoforma Fc $\gamma$ RIIIA

associa-se a homodímeros da cadeia  $\gamma$  do FcR, homodímeros da cadeia  $\zeta$  do TCR ou heterodímeros compostos da cadeia  $\gamma$  do FcR e da cadeia  $\zeta$ . Essa associação é necessária para a expressão na superfície celular e para a função desses FcRs, porque os sinais de ativação intracelular são liberados através das ITAMs dessas cadeias de sinalização. A isoforma Fc $\gamma$ RIIIb é uma proteína ligada a glicofosfatidilinositol (GPI) expressa em neutrófilos; ela não medeia a fagocitose ou dispara a ativação de neutrófilos, e sua função é mal compreendida.

Além desses receptores Fc $\gamma$ , existem receptores para as cadeias pesada de IgE e IgA (Tabela 13-3). Descreveremos o Fc $\epsilon$ RI no Capítulo 20, no contexto da ativação de mastócitos. A função de Fc $\alpha$ R não está bem estabelecida.

## Papel dos Receptores Fc $\gamma$ na Fagocitose e Ativação de Fagócitos

**A ligação dos receptores de Fc em fagócitos a partículas multivalentes revestidas de anticorpo leva à internalização dessas partículas e à ativação de fagócitos** (Fig. 13-4). Os subtipos de IgG que se ligam melhor a esses receptores (IgG1 e IgG3) são as opsoninas mais eficientes para promover fagocitose. Como foi discutido anteriormente, o Fc $\gamma$ RI (CD64) é o receptor de Fc $\gamma$  de alta afinidade em células fagocitárias, sendo o receptor mais importante para a fagocitose de partículas opsonizadas.



**FIGURA 13-4** Opsonização e fagocitose de microrganismos mediadas por anticorpo.

Anticorpos de determinadas subclasses de IgG ligam-se a microrganismos e são, então, reconhecidos por receptores de Fc em fagócitos. Os sinais dos receptores de Fc promovem a fagocitose dos microrganismos opsonizados e ativam os fagócitos para destruir esses microrganismos. Os mecanismos microbicidas dos fagócitos estão descritos nos Capítulos 4 (Fig. 4-13) e 10 (Fig. 10-7).

As partículas opsonizadas são internalizadas em vesículas conhecidas como fagossomos, os quais se fundem com os lisossomos, e as partículas fagocitadas são destruídas nestes fagolisossomos. A ativação requer a ligação cruzada dos FcRs por várias moléculas de Ig adjacentes (p. ex., em microrganismos revestidos com anticorpo ou em imunocomplexos). A ligação cruzada das cadeias  $\alpha$  de ligação ao ligante de um FcR resulta em eventos de transdução de sinal que são semelhantes aos que ocorrem após a ligação cruzada do receptor de antígeno em linfócitos (Cap. 7). Esses eventos incluem a fosforilação das ITAMs mediada por quinases Src de tirosina nas cadeias de sinalização dos FcR; o recrutamento de quinases da família Syk aos ITAMs mediado pelo domínio SH2; a ativação da quinase fosfatidilinositol-3; o recrutamento de moléculas adaptadoras, incluindo SLP-76 e BLNK; e o recrutamento de enzimas como fosfolipase C $\gamma$  e quinases da família Tec. Esses eventos levam à geração de inositol trifosfato e diacilglicerol e à mobilização sustentada de cálcio.

Essas vias de sinalização induzem diversas respostas nos leucócitos, incluindo a transcrição de genes que codificam citocinas, mediadores inflamatórios e enzimas microbicidas, além da mobilização do citoesqueleto levando aos processos de fagocitose, exocitose de grânulos e migração celular. As principais substâncias microbicidas produzidas nos fagócitos ativados são as espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e enzimas hidrolíticas. Estas são as mesmas substâncias produzidas pelos fagócitos ativados na resposta imune inata, discutida no Capítulo 4. As mesmas substâncias microbicidas podem danificar os tecidos; esse mecanismo de lesão tecidual mediada por anticorpos é importante em doenças de hipersensibilidade (Cap. 19). Os camundongos geneticamente deficientes para a cadeia  $\alpha$  de ligação ao ligante de Fc $\gamma$ RI ou para a cadeia  $\gamma$  do FcR transdutora de sinal apresentam defeitos na defesa contra microrganismos mediada por anticorpos e não desenvolvem algumas formas de lesão tecidual mediada por anticorpo IgG, demonstrando, assim, o papel essencial de receptores Fc nesses processos.

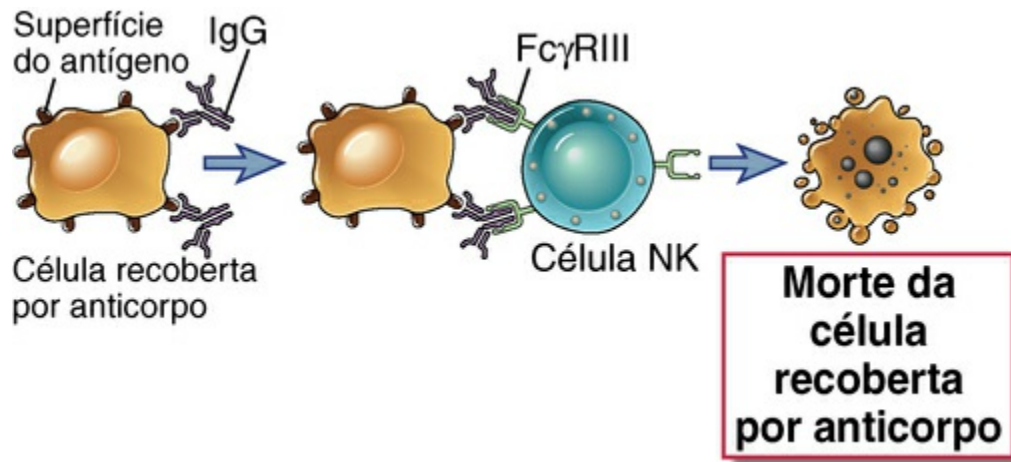
### **Sinalização Inibitória pelo Receptor Fc $\gamma$ RIIB**

O receptor Fc $\gamma$ RIIB é um receptor inibitório de Fc que já descrevemos anteriormente no contexto da sinalização inibitória em células B e do fenômeno da retroalimentação de anticorpo (Cap. 12). O Fc $\gamma$ RIIB também é expresso em células dendríticas, neutrófilos, macrófagos e mastócitos e pode exercer um papel na regulação das respostas destas células na ativação de receptores Fc e de outros estímulos. Um tratamento de certa forma empírico, mas frequentemente útil, de muitas doenças autoimunes é a administração intravenosa de uma mistura de IgG humana, chamada imunoglobulina intravenosa (IVIG). A IVIG pode aumentar a expressão de Fc $\gamma$ RIIB e também se ligar ao receptor e fornecer sinais inibitórios aos linfócitos B e a outras células, reduzindo, assim, a produção de anticorpos e o abrandamento da inflamação. Outro mecanismo pelo qual a IVIG pode melhorar a doença é pela

competição com os autoanticorpos circulantes para o receptor Fc neonatal, o que resulta no aumento da eliminação dos autoanticorpos (Cap. 5).

## Citotoxicidade Mediada por Células Dependente de Anticorpo

**As células natural killer (NK) e outros leucócitos ligam-se a células revestidas com anticorpo pelos receptores de Fc e as destroem.** Esse processo é chamado de citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos (ADCC) (Fig. 13-5). Foi descrito pela primeira vez como uma função das células NK, as quais utilizam seus receptores de Fc, FcγRIIIA, para se ligar a células revestidas com anticorpo. O FcγRIIIA (CD16) é um receptor de baixa afinidade que se liga a moléculas de IgG agregadas dispostas sobre as superfícies das células, mas não se liga a moléculas circulantes de IgG monomérica. Dessa maneira, a ADCC só acontece quando a célula-alvo está revestida com moléculas de anticorpo e a IgG livre no plasma não ativa as células NK nem compete eficazmente com a IgG ligada a células para a ligação a FcγRIII. O acoplamento do FcγRIII a células-alvo revestidas com anticorpo ativa as células NK para que elas sintetizem e secretem citocinas, como o IFN-γ, bem como para liberar o conteúdo dos seus grânulos, os quais medeiam as funções de morte deste tipo de células (Cap. 4). A ADCC pode ser prontamente demonstrada *in vitro*, mas seu papel na defesa do hospedeiro contra os microrganismos não está definitivamente estabelecido. É provável que seja um mecanismo importante para a eliminação de células que são revestidas por determinados anticorpos monoclonais terapêuticos, como as células B e as células tumorais derivadas de células B que são direcionadas por um anticorpo anti-CD20.



**FIGURA 13-5** Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpo.

Os anticorpos de determinadas subclasses de IgG ligam-se a células (p. ex., células infectadas), e as regiões Fc dos anticorpos ligados são reconhecidas por um receptor Fcγ em células NK. As células NK são ativadas e matam as células revestidas com anticorpo.

## Eliminação de Helmintos Mediada por Anticorpo

**Alguns parasitas helmínticos são eliminados pela ação conjunta de anticorpos, eosinófilos e mastócitos, que medeiam a morte e a expulsão desses parasitas.** Os helmintos (vermes) são muito grandes para serem internalizados por fagócitos, e seus tegumentos são relativamente resistentes aos produtos microbicidas dos neutrófilos e dos macrófagos. Eles podem, no entanto, ser mortos por uma proteína catiônica tóxica, conhecida como a proteína básica principal, presente nos grânulos de eosinófilos. Anticorpos IgE e, em menor extensão, anticorpos IgG e IgA que revestem os helmintos podem se ligar a receptores de Fc em eosinófilos e provocar a desgranulação destas células, liberando a proteína básica e outros conteúdos dos grânulos de eosinófilos e, assim, matar os parasitas. O receptor de eosinófilos de alta afinidade Fcε (FcεRI) não possui a cadeia β de sinalização e pode sinalizar apenas através da cadeia γ associada. Além de ativar eosinófilos, os anticorpos de IgE que reconhecem antígenos sobre a superfície dos helmintos podem iniciar a desgranulação dos mastócitos locais através do receptor de alta afinidade para IgE (Cap. 20). Os mediadores de mastócitos podem induzir broncoconstrição e aumento da motilidade local, contribuindo para a expulsão de vermes de locais como as vias aéreas e o lúmen do trato gastrintestinal. As quimiocinas e citocinas liberadas por mastócitos ativados também podem atrair eosinófilos e causar sua degranulação.

## Sistema complemento

O sistema complemento é um dos principais mecanismos efetores da imunidade humoral e é também um importante mecanismo efetor da imunidade inata. Discutimos brevemente o papel do complemento na imunidade inata no [Capítulo 4](#). Aqui, vamos descrever a ativação e a regulação do complemento mais detalhadamente.

O nome *complemento* é derivado de experimentos realizados por Jules Bordet logo após a descoberta de anticorpos. Ele demonstrou que ao se adicionar soro fresco contendo um anticorpo antibacteriano às bactérias em temperatura fisiológica (37°C), as bactérias são lisadas. Se, no entanto, o soro for aquecido a 56°C ou mais, ele perde sua capacidade lítica. Esta perda de capacidade lítica não se deve à deterioração da atividade de anticorpos, porque os anticorpos são relativamente estáveis ao calor, e o soro mesmo aquecido ainda é capaz de aglutinar bactérias. Bordet concluiu que o soro deve conter algum outro componente termolábil que auxilia, ou complementa, a função lítica de anticorpos e, posteriormente, esse componente recebeu o nome de **complemento**.

***O sistema complemento é composto de proteínas séricas e de superfície celular que interagem umas com as outras e com outras moléculas do sistema imune de maneira altamente regulada para gerar produtos que funcionam para eliminar os microrganismos.*** As proteínas do complemento são proteínas plasmáticas normalmente inativas; elas são ativadas apenas em determinadas condições para gerar produtos que medeiam várias funções efetoras do complemento. Diversas características de ativação do complemento são essenciais para sua função normal.

- ***O sistema complemento é ativado por microrganismos e por anticorpos que estão ligados aos microrganismos e outros antígenos.*** Os mecanismos de ativação inicial serão descritos mais adiante
- ***A ativação do complemento envolve a proteólise sequencial de proteínas para gerar complexos de enzimas com atividade proteolítica.*** As proteínas que adquirem atividade enzimática proteolítica pela ação de outras proteases são chamadas de zimógenos. O processo de ativação sequencial de zimogênio, uma característica de definição de uma cascata de enzimas proteolíticas, também é característico dos sistemas de coagulação e das quininas. Cascatas proteolíticas permitem enorme amplificação, porque cada molécula de enzima ativada em uma etapa pode gerar múltiplas moléculas de enzima ativada na etapa seguinte.
- ***Os produtos de ativação do complemento tornam-se ligados covalentemente a superfícies de células microbianas, anticorpos ligados aos microrganismos e outros antígenos, e também aos corpos apoptóticos.*** Na fase fluida, as proteínas do complemento são inativas, ou apenas transitoriamente (por segundos) ativas, e tornam-se estávelmente ativadas após sua ligação a microrganismos, anticorpos ou células mortas. Muitos dos produtos de clivagem biologicamente ativos das proteínas do complemento também se ligam

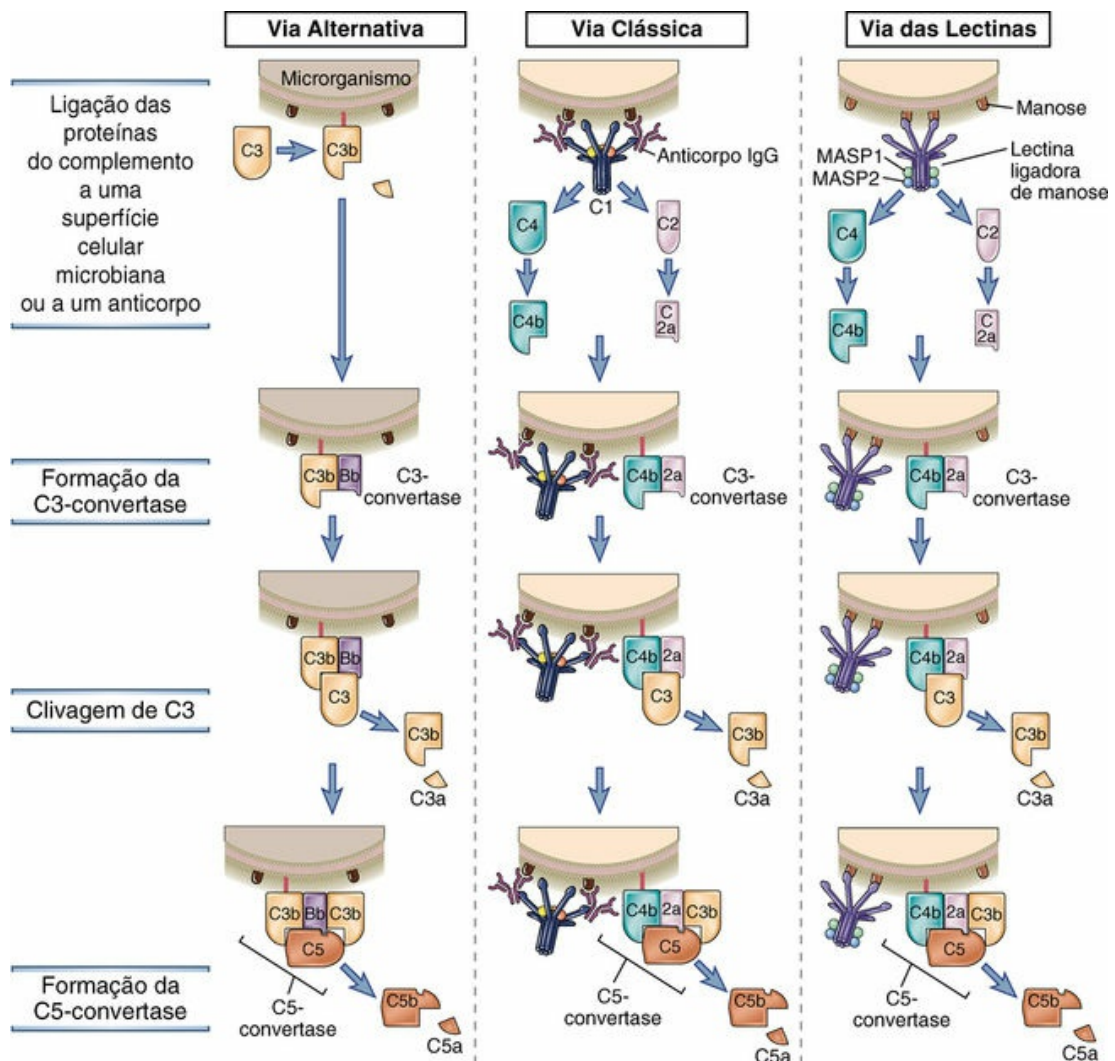


covalentemente a microrganismos, anticorpos e tecidos nos quais o complemento é ativado. Essa característica assegura que a ativação completa e, por conseguinte, as funções biológicas do sistema do complemento sejam limitadas a superfícies de células microbianas ou aos locais onde há anticorpos ligados a antígenos e não ocorram no sangue.

- ***A ativação do complemento é inibida por proteínas reguladoras que estão presentes em células normais do hospedeiro e ausentes nos microrganismos.*** As proteínas reguladoras são uma adaptação de células normais que minimizam os danos mediados pelo complemento às células hospedeiras. Os microrganismos não possuem essas proteínas reguladoras, o que permite que a ativação do complemento ocorra nas superfícies microbianas. Corpos apoptóticos não apresentam inibidores do complemento ligados à membrana, mas podem recrutar proteínas inibidoras do sangue, reduzindo, assim, a ativação do complemento e o grau de inflamação.

## Vias de Ativação do Complemento

***Existem três vias principais de ativação do complemento: a via clássica, que é ativada por determinados isotipos de anticorpos ligados a antígenos; a via alternativa, que é ativada na superfície das células microbianas na ausência de anticorpo; e a via das lectinas, que é ativada por uma lectina plasmática que se liga a resíduos de manose em microrganismos (Fig. 13-6).*** Os nomes clássica e alternativa surgiram porque a via clássica foi descoberta e caracterizada antes das demais, mas a via alternativa é filogeneticamente mais antiga. Embora as vias de ativação do complemento difiram na forma como são iniciadas, todas elas resultam na geração de complexos de enzimas que são capazes de clivar a proteína mais abundante do complemento, C3. As vias alternativas e das lectinas são mecanismos efetores da imunidade inata, ao passo que a via clássica é um dos principais mecanismos de imunidade humoral adaptativa.



**FIGURA 13-6** Etapas iniciais da ativação do complemento pelas vias alternativa, clássica e das lectinas.

A via alternativa é ativada pela ligação do C3b a diversas superfícies ativadoras, como as paredes celulares microbianas; a via clássica é iniciada pela ligação do C1 aos complexos antígeno-anticorpo; e a via das lectinas é ativada pela ligação de uma lectina plasmática a microorganismos. O C3b que é gerado pela ação da C3-convertase liga-se à superfície celular microbiana ou ao anticorpo e torna-se um componente da enzima que cliva C5 (C5-convertase) e inicia as etapas seguintes na ativação do complemento. As etapas posteriores de todas as três vias são as mesmas (não mostrado), e o complemento ativado de todas as três vias serve às mesmas funções.

***O evento central na ativação do complemento é a proteólise da proteína do complemento C3 para gerar produtos biologicamente ativos e a subsequente***

***ligação covalente de um produto de C3, denominado C3b, a superfícies celulares microbianas ou ao anticorpo ligado ao antígeno*** (Fig. 13-6). A ativação do complemento depende da geração de dois complexos proteolíticos: a **C3-convertase**, que cliva C3 em dois fragmentos proteolíticos denominados C3a e C3b; e a **C5-convertase**, que cliva C5 em C5a e C5b. Por convenção, os produtos proteolíticos de cada proteína do complemento são identificadas por sufixos em letras minúsculas, sendo *a* referente ao produto menor e *b* ao maior. C3b torna-se covalentemente ligado à superfície celular microbiana ou a moléculas de anticorpos no local de ativação do complemento. Todas as funções biológicas do complemento são dependentes da clivagem proteolítica de C3. Por exemplo, a ativação do complemento promove a fagocitose porque o C3b torna-se covalentemente ligado aos microrganismos e os fagócitos (neutrófilos e macrófagos) expressam receptores para C3b. Os peptídeos produzidos por proteólise de C3 (e de outras proteínas do complemento) estimulam a inflamação. A C5-convertase é montada após a geração prévia de C3b; e essa convertase contribui para a inflamação (pela geração do fragmento C5a) e para a formação de poros nas membranas dos alvos microbianos. As vias de ativação do complemento diferem na forma como o C3b é produzido, mas seguem uma sequência comum de reações após a clivagem de C5.

Com essa introdução, prosseguimos para uma descrição mais detalhada das vias alternativa, clássica e das lectinas.

## **Via Alternativa**

***A via alternativa de ativação do complemento resulta na proteólise de C3 e na fixação estável do produto de degradação de C3b nas superfícies microbianas, sem a necessidade de anticorpo*** (Fig. 13-7 e Tabela 13-4).

Normalmente, o C3 é continuamente clivado no plasma a uma taxa baixa para gerar C3b em um processo que é chamado amplificação de C3. A proteína C3 contém uma ligação de tioéster reativa que fica escondida em uma região da proteína conhecida como domínio de tioéster. Quando C3 é clivado, a molécula de C3b sofre uma mudança conformacional dramática e o domínio tioéster é exteriorizado (uma mudança maciça de cerca de 85 Å), expondo a ligação tioéster reativa anteriormente oculta. Uma pequena quantidade de C3b pode se tornar covalentemente ligada às superfícies de células, incluindo de microrganismos, através do domínio tioéster, o qual reage com os grupos amino ou hidroxila das proteínas de superfície celular ou dos polissacarídeos para formar ligações amida ou éster (Fig. 13-8). Se não ocorrer a formação dessas ligações, o C3b permanece na fase fluida e a ligação de tioéster reativa e exposta é rapidamente hidrolisada, inativando a proteína. Como resultado, a ativação do complemento não pode continuar.

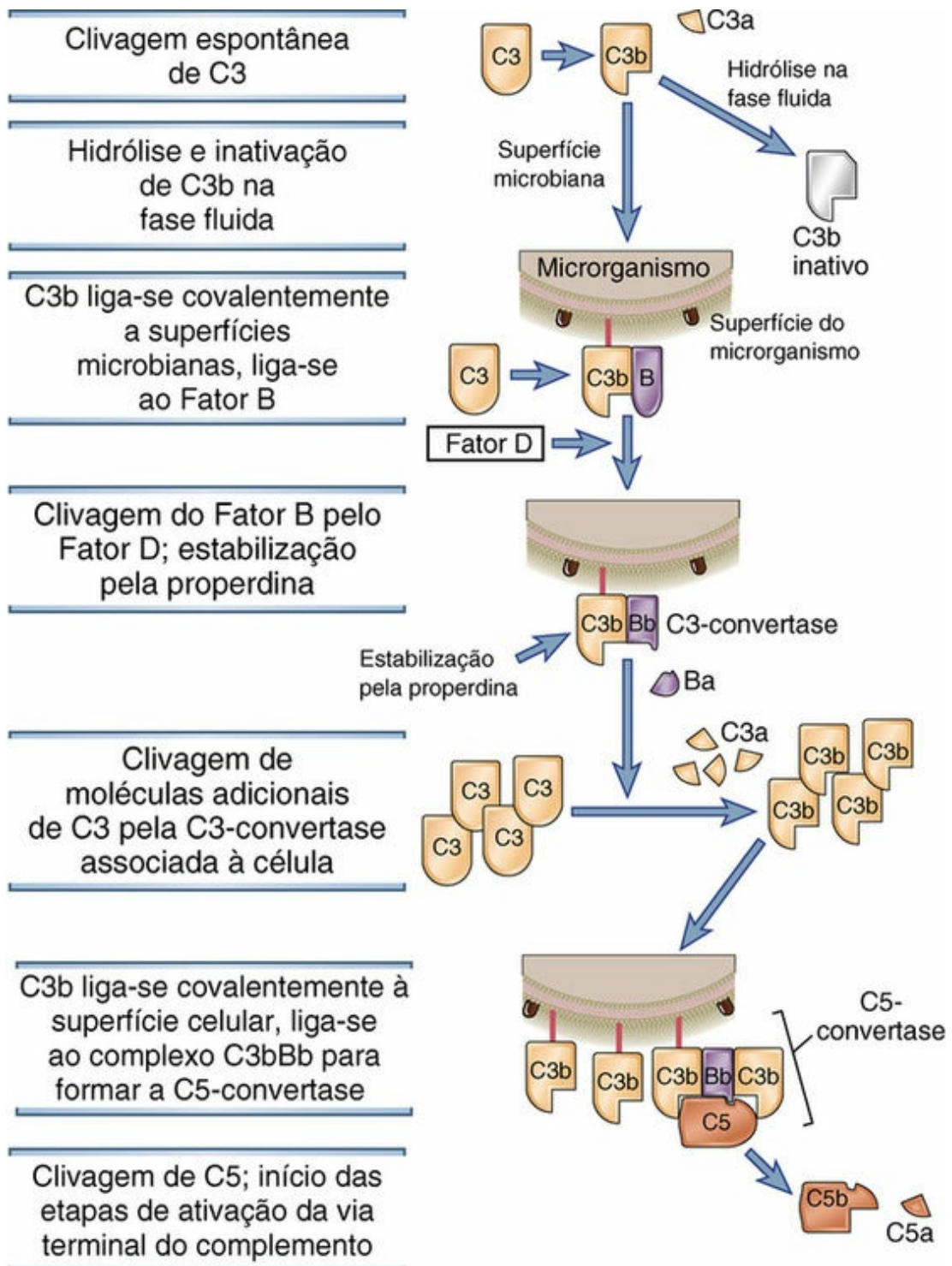
---

## Tabela 13-4

### Proteínas da Via Alternativa do Complemento

---

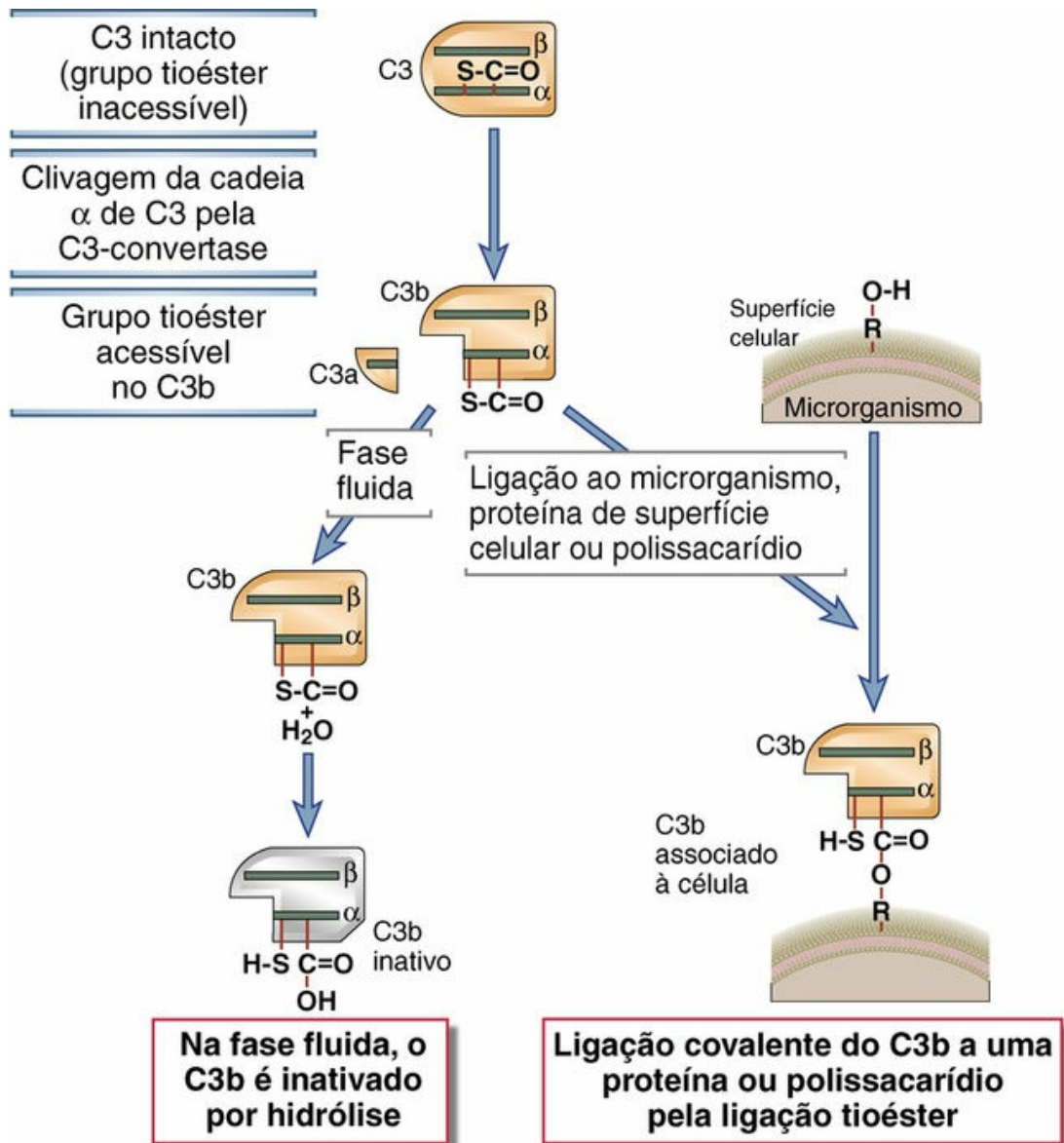
Proteína	Estrutura	Concentração Sérica ( $\mu\text{g/mL}$ )	Função
C3	185 kD (subunidade $\alpha$ , 110 kD; subunidade $\beta$ , 75 kD)	1.000 a 1.200	C3b liga-se à superfície do microorganismo, onde funciona como uma opsonina e como um componente das convertases de C3 e de C5. C3a estimula a inflamação (anafilatoxina).
Fator B	93 kD monomérica	200	Bb é uma serinoprotease e é a enzima ativa das convertases de C3 e de C5.
Fator D	25 kD monomérica	1-2	A serinoprotease plasmática cliva o Fator B quando ele está ligado a C3b.
Properdina	Composta de até quatro subunidades de 56 kD	25	A properdina estabiliza a C3-convertase (C3bBb) sobre a superfície dos microorganismos.



**FIGURA 13-7** Via alternativa da ativação do complemento. A hidrólise espontânea do C3 plasmático leva à formação da C3-convertase da fase fluida (não mostrado) e à geração de C3b. Se o C3b for depositado sobre uma superfície microbiana, ele se liga ao Fator B e forma a C3-convertase da via alternativa. Essa convertase cliva C3 para produzir mais C3b, que se liga a superfícies microbianas e participa da formação da C5-convertase. A C5-convertase cliva C5 para

gerar C5b, o evento iniciador das etapas de ativação da via terminal do complemento.





**FIGURA 13-8** Ligações tioéster internas de moléculas de C3.

A clivagem proteolítica da cadeia  $\alpha$  de C3 converte essa proteína em uma forma meta-estável na qual as ligações tioésteres internas são expostas e tornam-se suscetíveis ao ataque nucleofílico de átomos de oxigênio (como mostrado) ou de nitrogênio. O resultado é a formação covalente de ligações com proteínas ou carboidratos nas superfícies celulares. C4 é estruturalmente homólogo a C3 e possui um grupamento tioéster idêntico.

Quando o C3b sofre sua mudança conformacional pós-clivagem, há exposição de um local de ligação para uma proteína plasmática chamada Fator B. O Fator B liga-se, então, à proteína C3b, que fica agora presa de forma covalente à superfície de

uma célula microbiana ou do hospedeiro. O Fator B é, por sua vez, clivado por uma serinoprotease plasmática chamada Fator D, liberando um fragmento pequeno denominado Ba e gerando um fragmento maior chamado Bb, o qual permanece ligado ao C3b. O complexo C3bBb é a C3-convertase da via alternativa e funciona para clivar mais moléculas de C3, estabelecendo, assim, uma sequência de amplificação. Mesmo quando C3b é gerado pelas vias clássica ou das lectinas, ele pode formar um complexo com Bb e esse complexo é capaz de clivar mais C3. Assim, a C3-convertase da via alternativa funciona para amplificar a ativação do complemento iniciado por qualquer uma das vias, alternativa, clássica ou das lectinas. Quando C3 é clivado, o C3b permanece ligado às células e o C3a é liberado. Esse fragmento solúvel tem várias atividades biológicas que serão discutidas mais adiante.

**A ativação da via alternativa ocorre prontamente nas superfícies de células microbianas e não em células de mamífero.** Se o complexo C3bBb é formado sobre células de mamíferos, é rapidamente degradado e a reação é finalizada pela ação de diversas proteínas reguladoras presentes nessas células (discutido mais adiante). A ausência de proteínas reguladoras nas células microbianas permite a ligação e a ativação da C3-convertase da via alternativa. Além disso, uma outra proteína da via alternativa, denominada properdina, pode se ligar e estabilizar o complexo C3bBb e a ligação da properdina é favorecida sobre microrganismos, em oposição às células normais do hospedeiro. A properdina é o único fator de regulação positiva conhecida do complemento.

Algumas das moléculas de C3b geradas pela C3-convertase da via alternativa ligam-se à própria convertase. Isso resulta na formação de um complexo contendo uma molécula de Bb e duas moléculas de C3b, que funciona como a C5-convertase da via alternativa, que cliva C5 e inicia as etapas da ativação da via terminal do complemento.

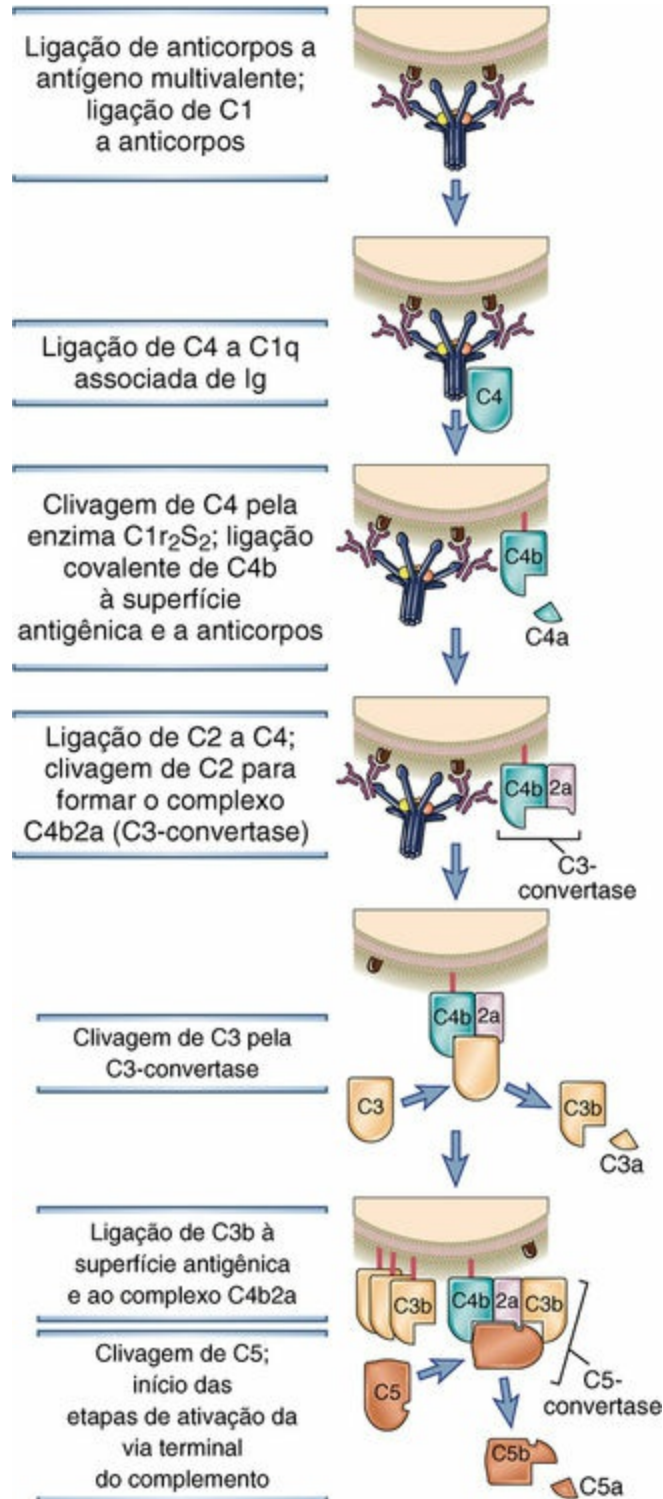
## Via Clássica

**A via clássica é iniciada pela ligação da proteína C1 do complemento aos domínios C<sub>H</sub>2 de IgG ou aos domínios C<sub>H</sub>3 de moléculas de IgM que estão ligadas ao antígeno** (Fig. 13-9 e Tabela 13-5). Entre os anticorpos IgG, IgG3 e IgG1 (em humanos) são ativadores do complemento mais eficazes do que as outras subclasses. C1 é um complexo de proteína grande e multimérico, composto por C1q, C1r e subunidades C1s; C1q liga-se ao anticorpo, e C1r e C1s são proteases. A subunidade C1q é constituída por um arranjo radial de seis cadeias, como um guarda-chuva, cada uma das quais possui uma cabeça globular ligada por um braço semelhante a colágeno a uma haste central (Fig. 13-10). Esse hexâmero executa a função de reconhecimento da molécula e liga-se especificamente às regiões Fc das cadeias pesadas  $\mu$  e de algumas  $\gamma$ .

## Tabela 13-5

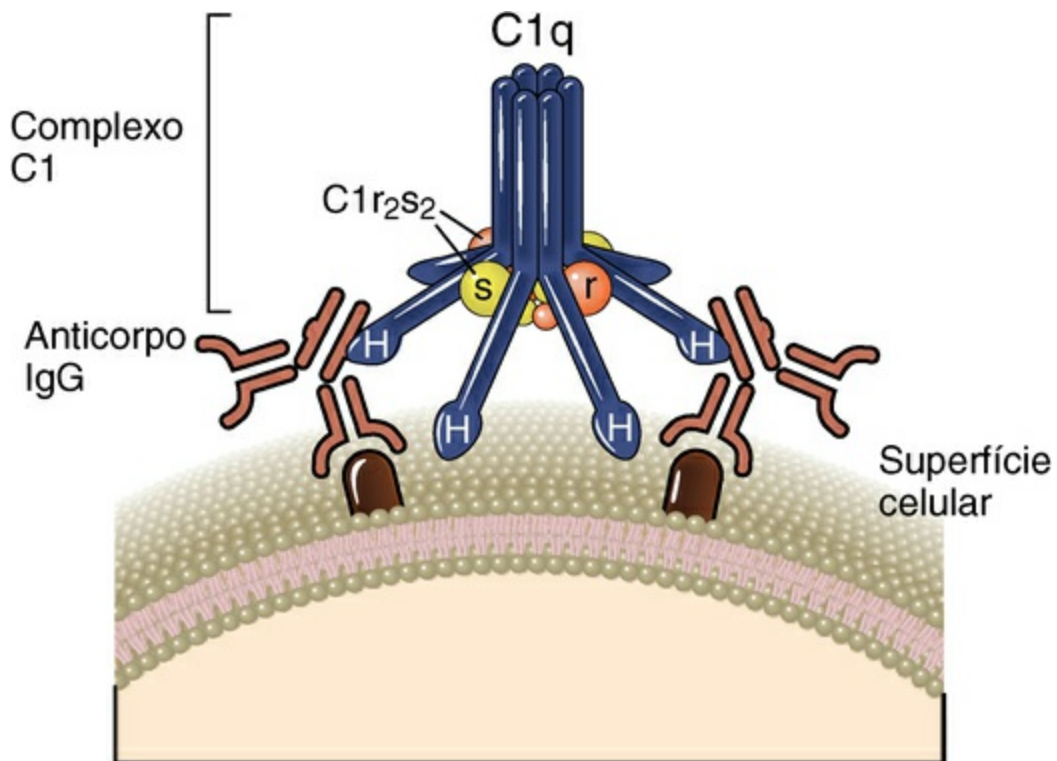
### Proteínas da Via Clássica do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
C1 (C1q <sub>2</sub> s <sub>2</sub> )	750 kD		Inicia a via clássica
C1q	460 kD; hexâmero de três pares de cadeias (22, 23, 24 kD)	75-150	Liga-se à porção Fc do anticorpo que está ligado ao antígeno, a células apoptóticas e a superfícies catiónicas
C1r	Dímero de 85 kD	50	Serino protease, cliva C1s para torná-la uma protease ativa
C1s	Dímero de 85 kD	50	Serino protease, cliva C4 e C2
C4	210 kD, trímero com cadeias de 97, 75 e 33 kD	300-600	C4b liga-se covalentemente à superfície de um microorganismo ou célula, onde o anticorpo está ligado e o complemento é ativado. C4b liga-se a C2 para que este seja clivado por C1s. C4a estimula a inflamação (anafilatoxina).
C2	Monômero de 102 kD	20	C2a é uma serino protease e funciona como uma enzima ativa das convertases de C3 e de C5 para clivar C3 e C5.
C3	Ver Tabela 13-4		



**FIGURA 13-9** Via clássica da ativação do complemento. Os complexos antígeno-anticorpo que ativam a via clássica podem ser solúveis, fixados sobre a superfície de células (como mostrado) ou depositados em matrizes extracelulares. A via clássica é iniciada pela ligação do C1 a moléculas de anticorpo complexadas ao antígeno, que leva à produção das convertases de C3 e de C5 ligadas às superfícies nas quais

os anticorpos foram depositados. A C5-convertase cliva C5 para iniciar as etapas de ativação da via terminal do complemento.



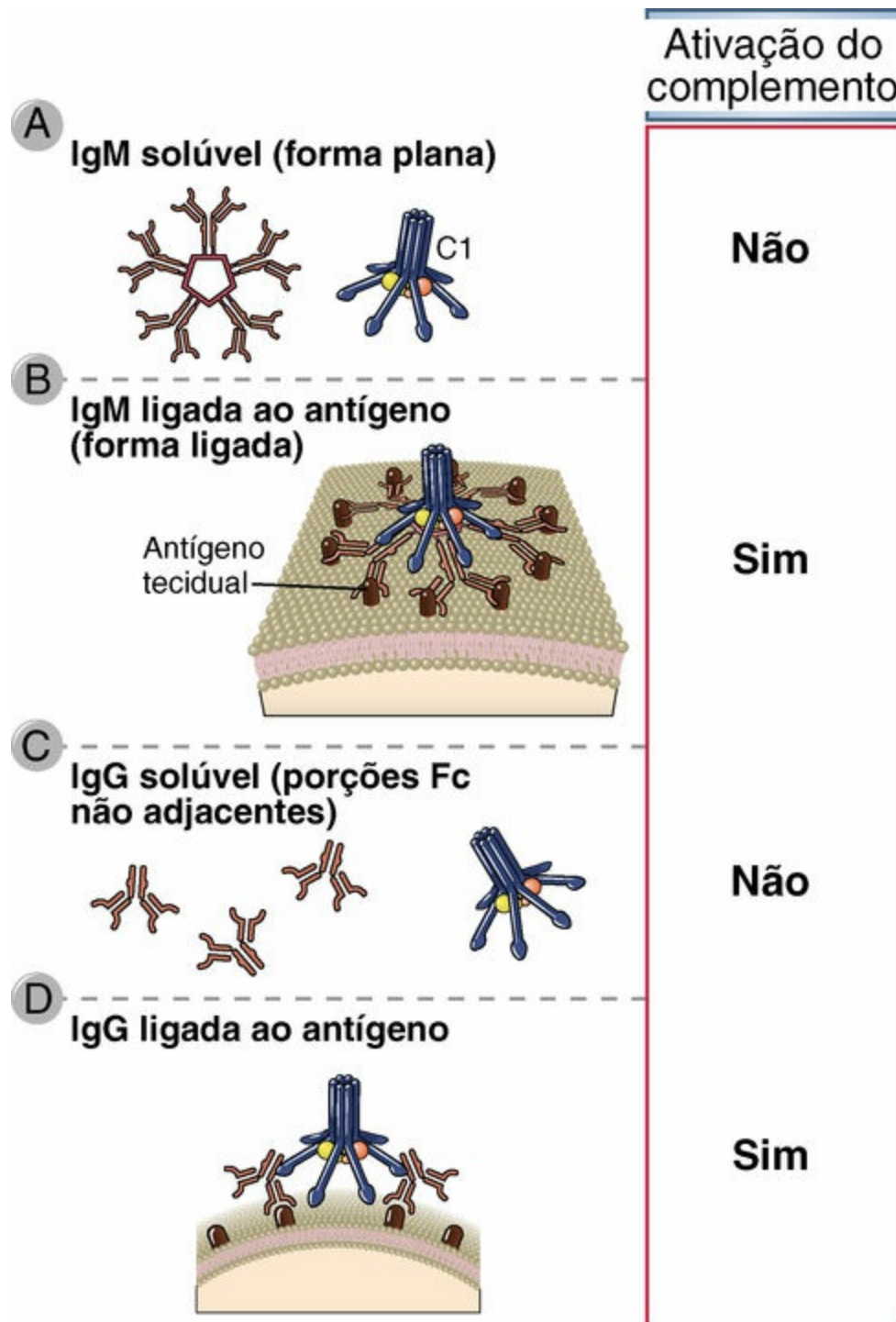
**FIGURA 13-10** Estrutura de C1.

C1q consiste em seis subunidades idênticas arranjadas para formar um núcleo central e com braços radiais simetricamente projetados. As cabeças globulares na terminação de cada braço, designadas H, são as regiões de contato para a imunoglobulina. C1r e C1s formam um tetrâmero composto de duas moléculas de C1r e duas de C1s. As extremidades de C1r e de C1s contêm os domínios catalíticos dessas proteínas. Um tetrâmero C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub> enrola-se em volta dos braços radiais do complexo C1q de tal maneira que os domínios catalíticos de C1r e de C1s ficam justapostos.

**Somente anticorpos ligados a antígenos, e não anticorpos livres circulantes, podem iniciar a ativação da via clássica (Fig. 13-11).** A razão para isso é que cada molécula de C1q deve se ligar a, pelo menos, duas cadeias pesadas de Ig e ser ativada e cada região Fc de Ig possui apenas um único local de ligação a C1q. Dessa maneira, duas ou mais regiões Fc precisam estar acessíveis para C1, para que a ativação da via clássica seja iniciada. Como cada molécula de

IgG possui apenas uma região Fc, várias moléculas de IgG precisam ser aproximadas antes de se ligar a C1q, e esse agrupamento de diversos anticorpos de IgG apenas quando eles se ligam a um antígeno multivalente. Ainda que IgM livre (circulante) seja pentamérica, ela não se liga a C1q porque as regiões Fc estão em uma configuração que as torna inacessíveis a C1q. A ligação da IgM a um antígeno induz uma alteração conformacional que expõe os locais de ligação nas regiões Fc, permitindo a ligação a C1q. Em virtude da sua estrutura pentamérica, uma única molécula de IgM pode se ligar a duas moléculas de C1q, e esta é uma das razões que explicam por que a IgM é um anticorpo mais eficaz para a ligação ao complemento (ou fixação do complemento) do que a IgG.





**FIGURA 13-11** Ligação de C1 a porções Fc da IgM e da IgG.

C1 deve se ligar a duas ou mais porções Fc para iniciar a cascata do complemento. As porções Fc da IgM solúvel pentamérica não são acessíveis a C1 (**A**). Após a IgM se ligar aos antígenos ligados à superfície, ela sofre uma alteração no formato que possibilita a ligação de C1 e a ativação (**B**). As moléculas solúveis de IgG também não poderão ativar C1 porque cada IgG possui apenas uma região Fc (**C**), mas

após a ligação a antígenos da superfície celular, porções Fc de IgGs adjacentes podem se ligar a e ativar C1 (D).

C1r e C1s são serinoproteases que formam um tetrâmero contendo duas moléculas de cada uma das proteínas. A ligação de duas ou mais das cabeças globulares de C1q a regiões Fc de IgG ou de IgM leva à ativação enzimática do C1r associado, que cliva e ativa C1s (Fig. 13-9). C1s ativado cliva a proteína seguinte na cascata, C4, para gerar C4b. (O menor fragmento C4a é liberado e possui atividades biológicas que serão descritas mais adiante.) C4 é homóloga a C3, e C4b contém uma ligação de tioéster interno, semelhante àquele em C3b, que forma ligações covalentes do tipo amida ou éster com o complexo antígeno-anticorpo ou com a superfície adjacente de uma célula à qual o anticorpo está ligado. Esta ligação de C4b assegura que a ativação da via clássica prossiga sobre uma superfície celular ou complexo imune. A proteína seguinte do complemento, C2, forma então complexo com o C4b ligado à superfície celular e é clivada por uma molécula de C1s próxima para gerar um fragmento solúvel de C2b, de importância desconhecida, e um fragmento C2a maior que permanece fisicamente associado a C4b na superfície da célula. (Nota-se que a nomenclatura dos fragmentos C2 é diferente da das outras proteínas do complemento porque o fragmento ligado maior é chamado de peça *a* e a parte do fragmento liberado é *b*.) O complexo resultante, C4b2a, é a C3-convertase da via clássica; ela tem a capacidade de se ligar e clivar proteoliticamente C3. A ligação deste complexo enzimático a C3 é mediada pelo componente C4b, e a proteólise é catalisada pelo componente C2a. A clivagem de C3 resulta na remoção do fragmento pequeno C3a; e C3b pode formar ligações covalentes com as superfícies das células ou com o anticorpo em que está ocorrendo a ativação do complemento. C3b, uma vez depositado, pode se ligar ao Fator B e gerar mais C3-convertase pela via alternativa, como discutido anteriormente. O resultado final das diversas etapas enzimáticas e da amplificação é que uma única molécula de C3 convertase pode levar à deposição de centenas ou milhares de moléculas de C3b na superfície da célula em que o complemento é ativado. Os passos-chave iniciais das vias alternativas e clássica são análogos: C3 na via alternativa é homóloga a C4 na via clássica, e o Fator B é homólogo a C2.

Algumas das moléculas de C3b geradas pela C3-convertase da via clássica ligam-se à convertase (como na via alternativa) e formam um complexo C4b2a3b. Este complexo funciona como a C5-convertase da via clássica; cliva C5 e inicia as etapas terminais da ativação do complemento.

Em infecções por pneumococos, ocorre uma forma não usual da via clássica, independente de anticorpo mas dependente de C1, que é ativada pela ligação de carboidratos a uma lectina de superfície celular. Macrófagos da zona marginal esplênica expressam um tipo de C-lectina de superfície celular chamada SIGN-R1 que pode reconhecer polissacarídeos de pneumococos e também pode se ligar a

C1q. A ligação multivalente de bactérias inteiras ou do polissacarídeo a SIGN-R1 ativa a via clássica e permite o eventual revestimento do pneumococo com C3b. Este é um exemplo de uma lectina de superfície celular que medeia a ativação da via clássica, mas sem a necessidade de anticorpo.

## Via das Lectinas

***A via das lectinas de ativação do complemento é desencadeada pela ligação de polissacarídios microbianos a lectinas circulantes, tais como a lectina ligadora de manose (ou manana) plasmática (MBL) ou as ficolinas, sempre na ausência de anticorpo (Tabela 13-6).*** Essas lectinas solúveis são proteínas colágeno-símile que se assemelham estruturalmente a C1q (Fig. 4-10). MBL, L-ficolina e H-ficolina são proteínas plasmáticas. A M-ficolina é secretada principalmente por macrófagos ativados nos tecidos. A MBL é um membro da família das colectinas e possui um domínio N-terminal colágeno-símile e um domínio de reconhecimento de carboidrato (lectina) C-terminal. As ficolinas apresentam uma estrutura similar, com um domínio N-terminal colágeno-símile e um domínio C-terminal fibrinogênio-símile. Os domínios colágeno-símile auxiliam na composição das estruturas básicas em tripla hélice que pode formar oligômeros de ordem superior. A MBL liga-se a resíduos de manose em polissacarídios; o domínio fibrinogênio-símile da ficolina liga-se aos glicanos contendo N-acetilglicosamina. A MBL e as ficolinas ligam-se às serinoproteases associadas à MBL (MASPs, do inglês *MBL-associated serine proteases*), incluindo MASP1, MASP2 e MASP3 (Tabela 13-6). As MASPs são estruturalmente homólogas às proteases C1r e C1s e apresentam função similar, a saber, a clivagem de C4 e de C2 para ativar o complemento. Os oligômeros de ordem superior da MBL associam-se a MASP1 e MASP2, embora também se observe a formação do complexo MASP3/MASP2. MASP1 (ou MASP3) podem formar um complexo tetamérico com MASP2 de modo semelhante ao observado com C1r e C1s; e MASP2 é a protease que cliva C4 e C2. Os eventos subsequentes nesta via são idênticos aos que ocorrem na via clássica.

**Tabela 13-6****Proteínas da Via das Lectinas do Complemento**

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
Lectina ligadora de manose	Trímero helicoidal de cadeias de 32 kD e dímeros a hexâmeros dessa hélice tripla	1-8	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
M-ficolina (ficolina-1)	Trímero helicoidal de cadeias de 32 kD e um tetrâmero dessa hélice tripla	Indetectável	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
L-ficolina (ficolina-2)	Trímero helicoidal de cadeias de 32 kD e um tetrâmero dessa hélice tripla	1-7	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
H-ficolina (ficolina-3)	Trímero helicoidal de cadeias de 32 kD e um tetrâmero dessa hélice tripla	6-83	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
MASP1	Homodímero de 90 kD; homólogo a C1r/C1s	2-13	Forma um complexo com MASP2 e colectinas ou ficolinas e ativa MASP3
MASP2	Homodímero de 110 kD; homólogo a C1r/C1s	2-13	Forma um complexo com lectinas, especialmente ficolina-3
MASP3	Homodímero de 76 kD; homólogo a C1r/C1s	0,02-1,0	Associa-se a colectinas ou ficolinas e MASP1 e cliva C4

\* As concentrações publicadas podem ter sofrido influência de reatividade cruzada dos anticorpos com MASP3; as concentrações da última são derivadas do uso de anticorpos monoclonais específicos. A maior parte dessas proteínas é plasmática, exceto a M-ficolina, que é secretada por macrófagos ativados.

**Etapas Finais da Ativação do Complemento**

**As C5-convertases geradas pela alternativa clássica ou das lectinas iniciam a ativação dos componentes da via terminal do sistema complemento, o que culmina na formação do complexo citocida de ataque à membrana (MAC) (Tabela 13-7 e Fig. 13-12).** As C5-convertases clivam C5 em um pequeno fragmento, C5a, que é liberado, e outro fragmento com duas cadeias C5b, que permanece ligado às proteínas do complemento depositadas na superfície da célula. C5a possui potentes efeitos biológicos em diversas células que serão discutidos mais adiante neste capítulo. Os demais componentes da cascata do complemento, C6, C7, C8 e C9, são proteínas estruturalmente relacionadas e sem atividade enzimática. C5b sustenta uma conformação transitória que é capaz de se ligar às proteínas seguintes da cascata, C6 e C7. O componente C7 do complexo resultante C5b,6,7 é hidrofóbico e se insere na bicamada lipídica das membranas celulares, onde se torna um receptor de alta afinidade para a molécula C8. A proteína C8 é um trímero composto por três cadeias distintas, uma das quais se liga ao complexo C5b,6,7 e forma um heterodímero covalente com a segunda cadeia; a terceira cadeia se insere na bicamada lipídica da membrana. Este complexo C5b,6,7,8 (C5b-8) inserido estavelmente tem uma capacidade limitada de lisar as células. A formação de um MAC completamente ativo é alcançada pela ligação de C9, o componente final da cascata do complemento, ao complexo C5b-8. C9 é uma proteína sérica que se polimeriza no local de ligação de C5b-8 para formar poros nas membranas plasmáticas. Esses poros têm aproximadamente 100 Å de diâmetro e formam canais que permitem a livre circulação de água e de íons. A entrada de água resulta em

aumento osmótico e ruptura das células em cuja superfície o MAC foi depositado. Os poros formados pela C9 polimerizada são semelhantes aos poros de membrana formada por perforina, a proteína do grânulo citolítico encontrado em linfócitos T citotóxicos e em células NK (Cap. 11), e C9 é estruturalmente homóloga à perforina.

---

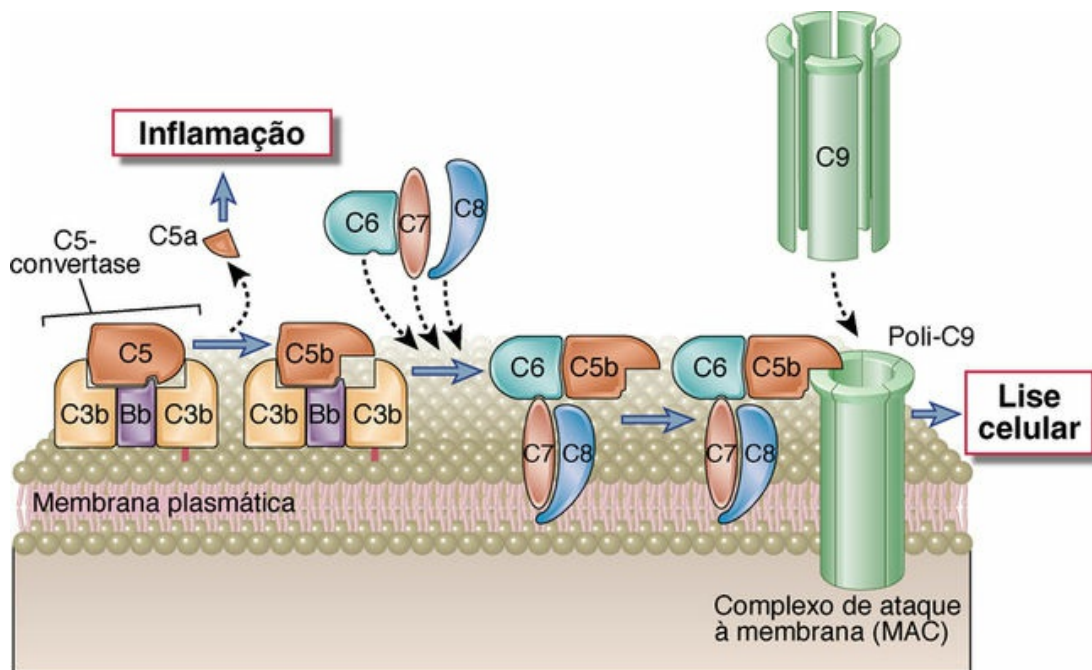
### Tabela 13-7

#### Proteínas das Etapas de Ativação da Via Terminal do Complemento

---

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/ml)	Função
C5	Dímero de 190 kD com cadeias de 115 e 75 kD	80	C5b inicia a montagem do MAC. C5a estimula a inflamação (anafilatoxina).
C6	Monômero de 110 kD	45	Componente do MAC: liga-se a C5b e aceita C7.
C7	Monômero de 100 kD	90	Componente do MAC: liga-se a C5b, 6 e insere-se nas membranas lipídicas.
C8	Trímero de 155 kD com cadeias de 64, 64 e 22 kD	60	Componente do MAC: liga-se a C5b, 6, 7 e inicia a ligação e polimerização de C9.
C9	Monômero de 79 kD	60	Componente do MAC: liga-se a C5b, 6, 7, 8 e polimeriza-se para formar poros na membrana.

MAC, complexo de ataque à membrana (do inglês *membrane attack complex*).



**FIGURA 13-12** Etapas finais da ativação do complemento e formação do MAC.

A C5-convertase associada à célula cliva C5 e gera C5b, que fica ligada à convertase. C6 e C7 ligam-se sequencialmente e o complexo C5b,6,7 se insere na membrana plasmática; em seguida, ocorre a inserção de C8. Até 15 moléculas de C9 podem, então, polimerizar em torno do complexo para formar o MAC, o que cria poros e induz a lise celular. O C5a liberado na proteólise do C5 estimula a inflamação.

## Receptores para Proteínas do Complemento

**Muitas das atividades biológicas do sistema do complemento são mediadas pela ligação de fragmentos do complemento a receptores de membrana expressos em vários tipos celulares.** Desses receptores, o mais bem caracterizados são específicos para os fragmentos de C3 e são descritos aqui (Tabela 13-8). Outros receptores incluem aqueles para C3a, C4a e C5a, que estimulam a inflamação, e alguns que regulam a ativação do complemento.



**Tabela 13-8****Receptores para Fragmentos de C3**

Receptor	Estrutura	Ligantes	Distribuição Celular	Função
Receptor do complemento tipo 1 (CR1, CD35)	160-250 kD; múltiplos CCPRs	C3b > C4b > iC3b	Fagócitos mononucleares, neutrófilos, células B e T, eritrócitos, eosinófilos, FDCs	Fagocitose Eliminação de imunocomplexos Promove a dissociação de C3-convertases por agir como um cofator para a clivagem de C3b, C4b
Receptor do complemento tipo 2 (CR2, CD21)	145 kD; múltiplos CCPRs	C3d, C3dg > iC3b	Linfócitos B, FDCs, epitélio nasofaríngeo	Coreceptor para ativação da célula B Captura de antígenos no centro germinativo Receptor para EBV
Receptor do complemento tipo 3 (CR3, Mac-1, CD11b/CD18)	Integrina com uma cadeia $\alpha$ de 165 kD e uma cadeia $\beta$ 2 de 95 kD	iC3b, ICAM-1; também se liga a microorganismos	Fagócitos mononucleares, neutrófilos, células NK	Fagocitose Adesão leucocitária ao endotélio (via ICAM-1)
Receptor do complemento tipo 4 (CR4, p150,95, CD11c/CD18)	Integrina com uma cadeia $\alpha$ de 150 kD e uma cadeia $\beta$ 2 de 95 kD	iC3b	Fagócitos mononucleares, neutrófilos, células NK	Fagocitose, adesão celular?

CCPRs, proteínas de controle do complemento em repetição (do inglês *complement control protein repeats*); EBV, vírus Epstein-Barr; FDCs, células dendríticas foliculares (do inglês *follicular dendritic cells*); ICAM-1, molécula de adesão intercelular 1 (do inglês *intercellular adhesion molecule 1*).

- **O receptor de complemento do tipo 1 (CR1 ou CD35) funciona principalmente para promover fagocitose de partículas recobertas por C3b e C4b e remoção dos imunocomplexos da circulação.** CR1 é um receptor de alta afinidade para C3b e C4b. É expresso principalmente em células derivadas da medula óssea, incluindo eritrócitos, neutrófilos, monócitos, macrófagos, eosinófilos e linfócitos T e B; ele também é encontrado em células dendríticas foliculares no interior dos folículos de órgãos linfoides periféricos. Fagócitos utilizam esse receptor para se ligar a partículas opsonizadas com C3b ou C4b e internalizá-las. A ligação das partículas recobertas por C3b ou C4b a CR1 também transduz sinais que ativam os mecanismos microbicidas dos fagócitos, especialmente quando o receptor de Fc $\gamma$  é simultaneamente envolvido por partículas revestidas de anticorpo. CR1 em eritrócitos liga-se a imunocomplexos circulantes ligados a C3b e C4b e transporta esses complexos para o fígado e para o baço. Nesses órgãos, os fagócitos removem os imunocomplexos da superfície dos eritrócitos e os eritrócitos continuam a circular. O CR1 também é um regulador da ativação do complemento (discutido na seção a seguir).
- **O receptor do complemento do tipo 2 (CR2 ou CD21) tem como função estimular as respostas imunes humorais, aumentando a ativação de células B por antígenos e promovendo a retenção de complexos antígeno-anticorpo nos centros germinativos.** CR2 está presente em linfócitos B, células dendríticas foliculares e em algumas células epiteliais. Liga-se especificamente aos produtos de clivagem de C3b, denominados C3d, C3dg e iC3b (*i* referindo-se a inativo), que são gerados por proteólise mediada pelo Fator I (discutido mais adiante). Em células B, o CR2 é expresso como parte de um complexo trimolecular que inclui duas outras proteínas não ligadas covalentemente, denominadas CD19

e CD81 (ou TAPA-1, alvo do anticorpo antiproliferativo-1). Este complexo fornece sinais para as células B, aumentando suas respostas ao antígeno (Fig. 7-20). Em células dendríticas foliculares, o CR2 serve para capturar complexos antígeno-anticorpo revestidos de iC3b e C3dg nos centros germinativos. As funções do complemento relacionadas com a ativação de células B serão descritas mais adiante.

Em humanos, CR2 é o receptor de superfície celular para o vírus Epstein-Barr, um herpes-vírus que causa a mononucleose infecciosa e também é associado a diversos tumores malignos. O vírus Epstein-Barr entra na célula B via CR2, infecta essas células e nelas pode permanecer latente por toda a vida.

- **O receptor do complemento do tipo 3, também chamado Mac-1 (CR3, CD11bCD18), é uma integrina que funciona como um receptor para o fragmento iC3b gerado por proteólise de C3b.** Mac-1 é expresso em neutrófilos, fagócitos mononucleares, mastócitos e células NK. Esse receptor é um membro da família de integrinas de receptores de superfície celular (Cap. 3) e consiste em uma cadeia  $\alpha$  (CD11b) não covalentemente ligada a uma cadeia  $\beta$  (CD18) que é idêntica às cadeias  $\beta$  de duas moléculas de integrina estreitamente relacionadas, o antígeno associado à função de leucócitos 1 (LFA-1, do inglês *leukocyte function-associated antigen 1*) e p150,95. Em neutrófilos e monócitos, Mac-1 promove a fagocitose de microrganismos opsonizados com iC3b. Além disso, Mac-1 pode fazer o reconhecimento direto de bactérias para a fagocitose ao se ligar a algumas moléculas microbianas desconhecidas (Cap. 4). Também se liga à molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1, do inglês, *intercellular adhesion molecule 1*) em células endoteliais e promove a adesão estável dos leucócitos ao endotélio, mesmo sem ativação do complemento. Essa ligação leva ao recrutamento de leucócitos para os locais de infecção e de lesão tecidual (Cap. 3).
- **O receptor de complemento do tipo 4 (CR4, p150,95, CD11c/CD18) é uma outra integrina com uma cadeia  $\alpha$  diferente (CD11c) e a mesma cadeia  $\beta$  do Mac-1.** Também se liga a iC3b e tem provavelmente uma função semelhante à do Mac-1. CD11c é abundantemente expresso em células dendríticas, sendo utilizado como um marcador para este tipo de células.
- **O receptor do complemento da família das imunoglobulinas (CR1g) é expresso na superfície de macrófagos no fígado e é conhecido como célula de Kupffer.** CR1g é uma proteína integral de membrana com uma região extracelular constituída por domínios de Ig. Liga-se aos fragmentos C3b e iC3b do complemento e está envolvido na eliminação de bactérias opsonizadas e de outros patógenos transmitidos por via sanguínea.

## Regulação da Ativação do Complemento

**A ativação da cascata do complemento e a estabilidade de proteínas ativas do**

**complemento são finamente reguladas para evitar a ativação do complemento em células normais do hospedeiro e para limitar a duração da ativação do complemento, mesmo em células microbianas e complexos antígeno-anticorpo.** A regulação do complemento é mediada por diversas proteínas circulantes e de membrana celular (Tabela 13-9). Muitas dessas proteínas, bem como as várias proteínas das vias clássica e alternativa, pertencem a uma família denominada reguladores da atividade do complemento (RCA, do inglês *regulators of complement activity*) e são codificadas por genes homólogos que estão localizados de forma adjacente um ao outro no genoma.

**Tabela 13-9**

**Reguladores da Ativação do Complemento**

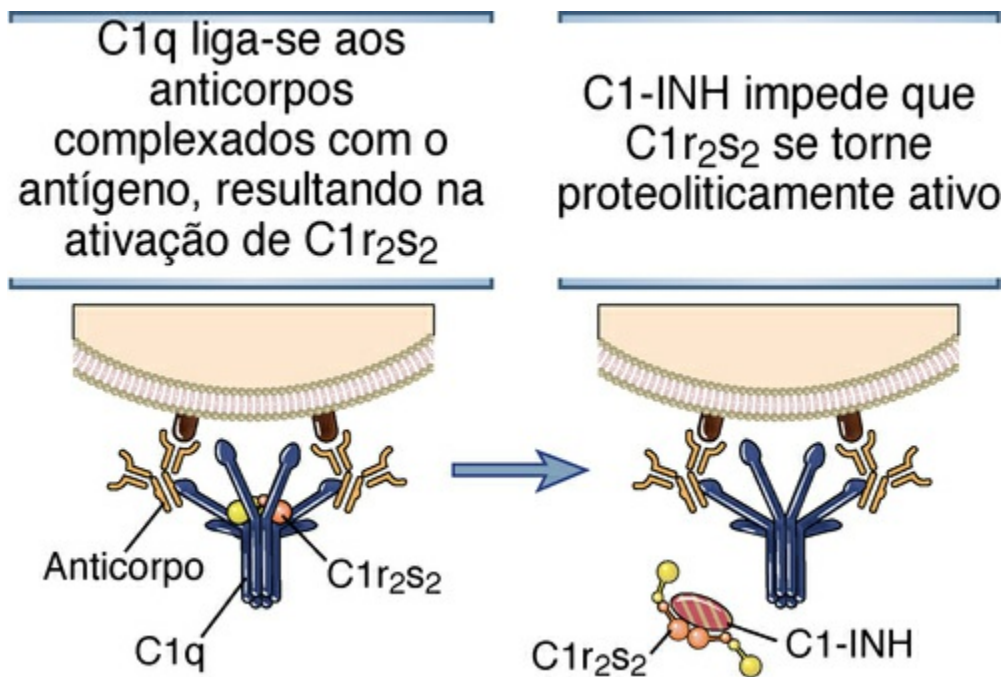
Receptor	Estrutura	Distribuição	Interage com	Função
Inibidor de C1 (C1 INH)	104 kD	Proteína plasmática; conc. 200 µg/mL	C1r, C1s	Inibidor da serinoprotease; liga-se a C1r e C1s e os dissocia de C1q
Fator I	88 kD, sendo um dímero de 50 kD e subunidades de 38 kD	Proteína plasmática; conc. 35 µg/mL	C4b, C3b	Serinoprotease; cliva C3b e C4b usando o Fator H, MCP, C4BP ou CRI como cofatores
Fator H	150 kD; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 480 µg/mL	C3b	Liga-se a C3b e desloca Bb Cofator para a clivagem de C3b mediada pelo Fator I
Proteína ligadora de C4 (C4BP)	570 kD; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 300 µg/mL	C4b	Liga-se a C4b e desloca C2 Cofator para a clivagem de C4b mediada pelo Fator I
Proteína cofatora de membrana (MCP, CD46)	45-70 kD; quatro CCPRs	Leucócitos, células epiteliais, células endoteliais	C3b, C4b	Cofator para a clivagem de C3b e de C4b mediadas pelo Fator I
Fator de aceleração do decaimento (DAF)	70 kD; ligada a GPI, quatro CCPRs	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C4b2a, C3bBb	Desloca C2a de C4b e Bb de C3b (dissociação de C3-convertases)
CD59	18 kD; ligada a GPI	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C7, C8	Bloqueia a ligação de C9 e evita a formação de MAC

CCPRs, proteínas de controle do complemento em repetição (do inglês *complement control protein repeats*); *conc.*, concentração; *GPI*, glicofosfatidilinositol; *MAC*, complexo de ataque à membrana.

A ativação do complemento precisa ser regulada por dois motivos. Primeiro, a ativação do complemento ocorre contínua e espontaneamente em um nível baixo e, se for permitido que tal ativação simplesmente prossiga, o resultado pode ser danoso para as células e tecidos normais. Segundo, mesmo quando o complemento é ativado onde é realmente necessário, como sobre células microbianas ou complexos antígeno-anticorpo, ele precisa ser controlado porque os produtos da degradação de proteínas do complemento podem se difundir para as células adjacentes e produzir lesão. Diferentes mecanismos reguladores inibem a formação da C3-convertase nas etapas iniciais da ativação do complemento, quebram e inativam as convertases de C3 e de C5 e inibem a formação do MAC nas etapas posteriores da via do complemento.

- **A atividade proteolítica de C1r e de C1s é inibida por uma proteína plasmática denominada inibidor de C1 (C1-INH).** C1-INH é um inibidor de serinoproteases

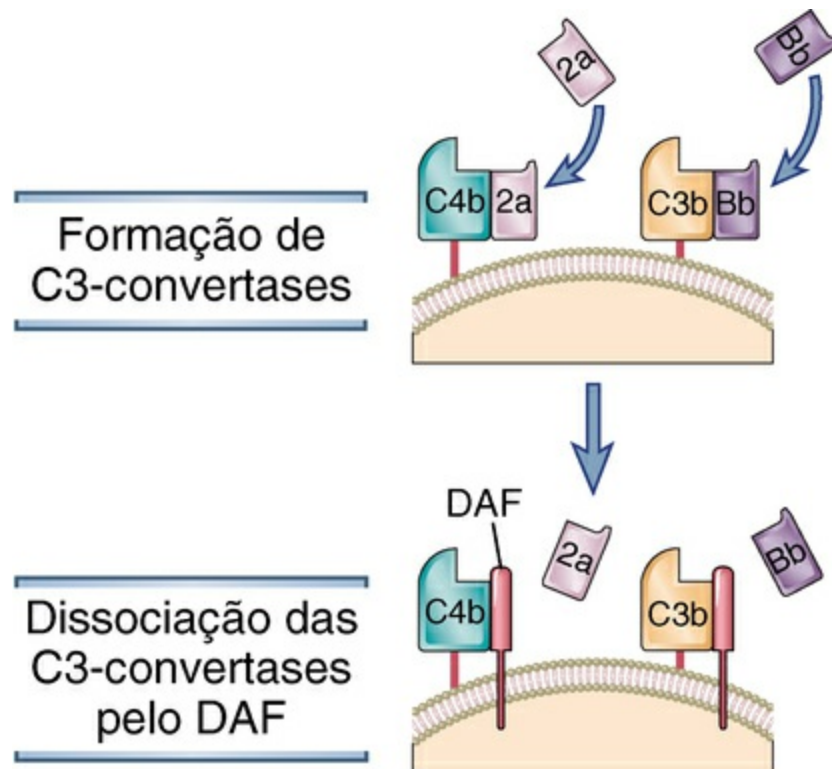
(serpina) que mimetiza os substratos normais de C1r e de C1s. Se o C1q se ligar a um anticorpo e iniciar o processo de ativação do complemento, C1-INH torna-se um alvo da atividade enzimática da ligação C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub>. C1-INH é clivado por e se torna covalentemente ligado a essas proteínas do complemento e, como resultado, o tetrâmero C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub> se dissocia de C1q, impedindo, assim, a ativação da via clássica (Fig. 13-13). Dessa maneira, C1-INH impede o acúmulo de C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub> enzimaticamente ativo no plasma e limita o tempo durante o qual C1r<sub>2</sub>-C1s<sub>2</sub> ativo fica disponível para ativar as etapas subsequentes na cascata do complemento. Uma doença hereditária autossômica dominante denominada **angioedema hereditário** ocorre em virtude de uma deficiência de C1-INH. As manifestações clínicas da doença incluem edema agudo intermitente na pele e mucosas, o que provoca dor abdominal, vômitos, diarreia e obstrução das vias respiratórias potencialmente fatal. Nesses pacientes, os níveis plasmáticos da proteína C1-INH são bastante reduzidos (< 20% a 30% do normal), fazendo com que a ativação de C1 por imunocomplexos não seja adequadamente controlada e ocorra aumento da degradação de C4 e de C2. Os mediadores de formação do edema em pacientes com angioedema hereditário incluem um fragmento proteolítico de C2, chamado quinina C2, e bradicinina. Além de C1, C1-INH é um inibidor de outras serinoproteases plasmáticas, incluindo a calicreína e o fator XII da coagulação, e a ativação dessas duas proteases pode promover maior formação de bradicinina. Atualmente, o tratamento da deficiência de C1-INH emprega uma versão recombinante dessa proteína.



**FIGURA 13-13** Regulação da atividade de C1 por C1-INH. C1-INH desloca C1r<sub>2</sub>s<sub>2</sub> de C1q e interrompe a via clássica de ativação.

- **A montagem dos componentes das convertases de C3 e de C5 é inibida pela ligação de proteínas reguladoras para C3b e C4b depositados nas superfícies das células (Fig. 13-14).** Se C3b for depositado sobre as superfícies de células normais de mamífero, ele pode se ligar a várias proteínas de membrana, incluindo a proteína de cofator de membrana (MCP ou CD46), o receptor do complemento do tipo 1 (CR1), o fator de aceleração do decaimento (DAF) e uma proteína plasmática chamada Fator H. O C4b depositado na superfície celular é ligado de maneira semelhante por DAF, CR1, MCP e uma outra proteína plasmática denominada proteína ligadora de C4 (C4BP, do inglês *C4-binding protein*). Ao se ligar a C3b ou C4b, essas proteínas inibem competitivamente a ligação de outros componentes da C3-convertase, como Bb da via alternativa e C2a da via clássica, bloqueando, assim, a progressão da cascata do complemento. (O Fator H inibe somente a ligação de C3b a Bb e é, assim, um regulador da via alternativa, mas não da via clássica.) MCP, CR1 e DAF são produzidas por células de mamíferos, mas não por microrganismos. Dessa maneira, esses reguladores do complemento inibem seletivamente a ativação dessa cascata sobre células hospedeiras e permitem que a ativação do complemento prossiga em microrganismos. Além disso, as superfícies celulares ricas em ácido siálico favorecem a ligação da proteína reguladora Fator H em relação à proteína da via alternativa conhecida como Fator B. As células de mamíferos expressam níveis mais elevados de ácido siálico que a maioria dos microrganismos, o que é outra razão pela qual a ativação do complemento é

evitada nas células normais do hospedeiro e permitida sobre os microrganismos.



**FIGURA 13-14** Inibição da formação de C3-convertases.

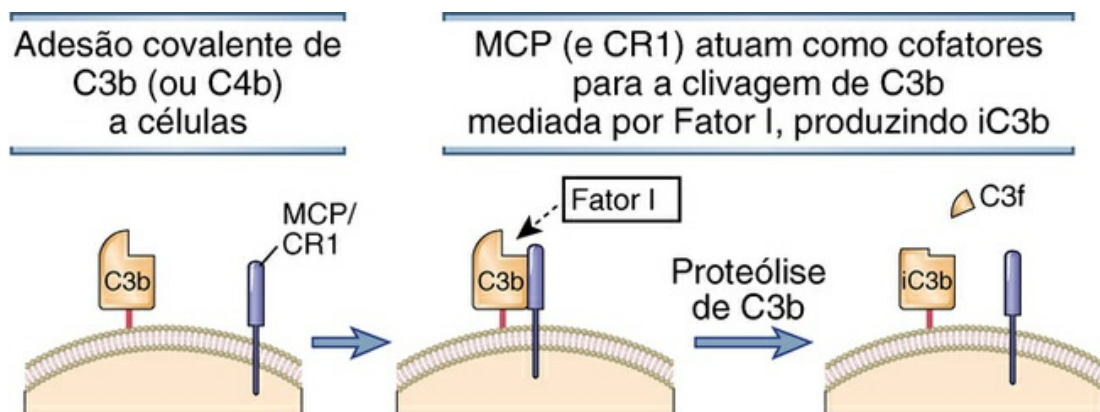
A C3-convertase da via clássica, C4b2a, ou a da via alternativa, C3bBb, podem ser dissociadas pela substituição de um componente pelo fator de aceleração do decaimento (DAF). Outras proteínas reguladoras, como MCP e CR1, funcionam de maneira similar ao DAF (ver texto).

DAF é uma proteína de membrana ligada a glicofosfatidilinositol expresso em células endoteliais e os eritrócitos. Uma deficiência em células-tronco hematopoéticas da enzima necessária para formar essas ligações lipoproteicas resulta na incapacidade de expressar muitas proteínas de membrana ligadas ao glicofosfatidilinositol, incluindo DAF e CD59 (ver a seguir) e provoca uma doença chamada **hemoglobinúria paroxística noturna**. Essa doença é caracterizada por episódios recorrentes de hemólise intravascular, pelo menos parcialmente atribuíveis à ativação desregulada do complemento na superfície de eritrócitos. A hemólise intravascular recorrente, por sua vez, leva a anemia hemolítica crônica e trombose venosa. Uma característica incomum dessa doença é que a mutação do gene causador não é herdada, mas trata-se de uma mutação adquirida em células-tronco hematopoéticas.

- **O C3b associado à célula é degradado proteoliticamente por uma serinoprotease plasmática chamada Fator I, que só é ativa na presença de**



**proteínas reguladoras** (Fig. 13-15). MCP, Fator H, C4BP e CR1, todos servem como cofatores para clivagem de C3b (e C4b) mediada por Fator I. Assim, essas proteínas reguladoras das células hospedeiras promovem a degradação proteolítica das proteínas do complemento; como discutido anteriormente, as mesmas proteínas reguladoras provocam a dissociação dos complexos contendo C3b (e C4b). A clivagem de C3b mediada pelo Fator I gera os fragmentos chamados iC3b, C3d e C3dg, que não participam na ativação do complemento, mas são reconhecidos por receptores em fagócitos e linfócitos B.



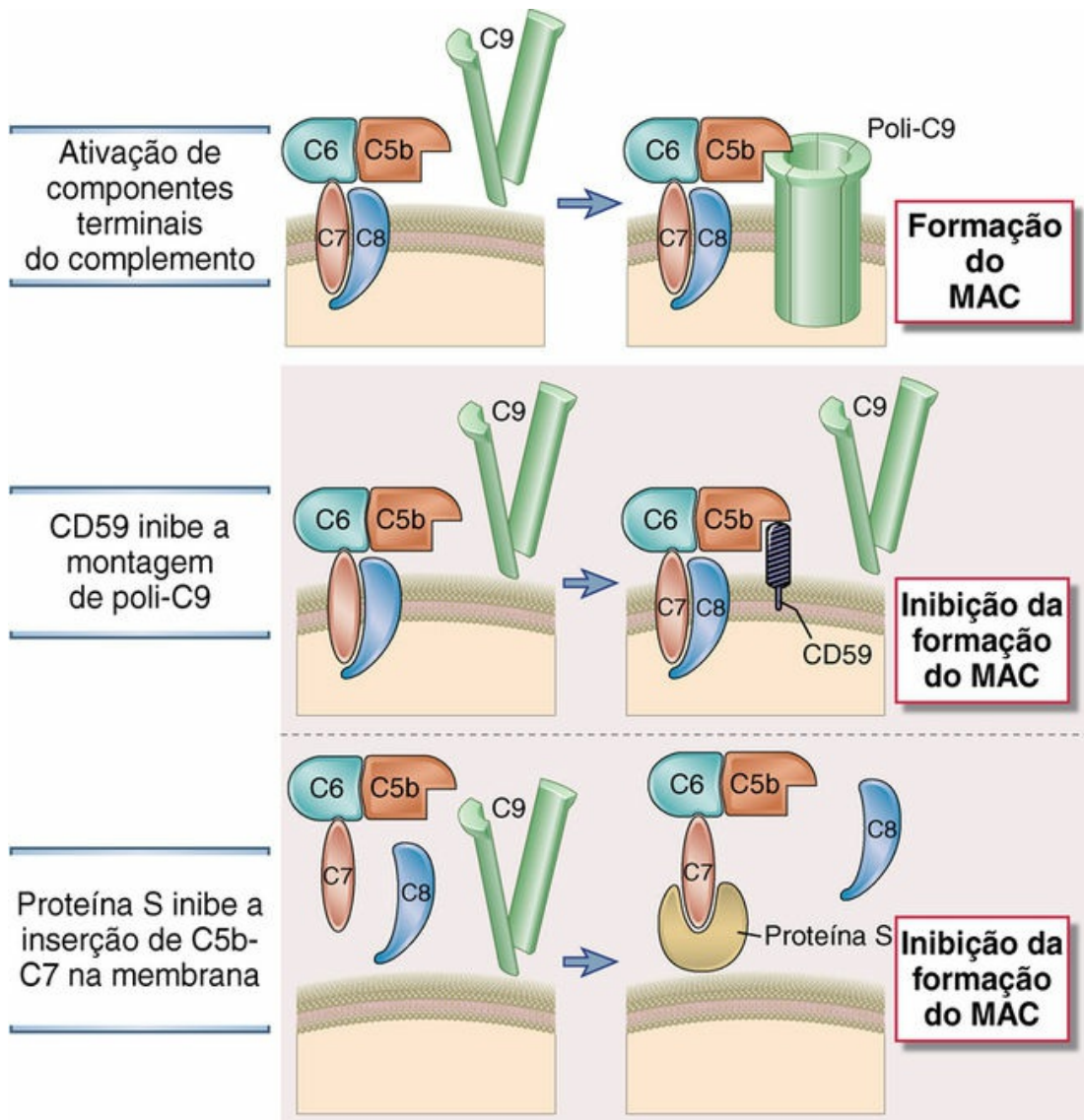
**FIGURA 13-15** Clivagem de C3b mediada por Fator I.

Na presença de cofatores ligados à membrana celular (MCP ou CR1), o Fator I plasmático cliva proteoliticamente o C3b aderido às superfícies celulares, produzindo uma forma inativa de C3b (iC3b). O fator H e a proteína ligadora de C4 também podem servir de cofatores para a clivagem de C3b mediada por Fator I. O mesmo processo ocorre na proteólise de C4.

• **A formação do MAC é inibida por uma proteína de membrana chamada CD59.**

O CD59 é uma proteína ligada ao glicofosfatidilinositol expressa em muitos tipos celulares. Ele funciona por meio da incorporação de si mesmo nos MACs que estão sendo montados após a inserção de C5b-8 na membrana, inibindo, assim, a subsequente adição de moléculas C9 (Fig. 13-16). O CD59 está presente nas células normais do hospedeiro, onde limita a formação de MAC, mas está ausente em microrganismos. A formação do MAC também é inibida por proteínas plasmáticas como a proteína S, que funciona por meio da ligação aos complexos C5b, 6,7 solúveis e, assim, impede sua inserção em membranas celulares próximas ao local onde a cascata do complemento foi iniciada. Os MACs em formação podem se inserir em qualquer membrana celular vizinha além da membrana em que foram gerados. Os inibidores do MAC no plasma e nas membranas celulares hospedeiras asseguram que não ocorra a lise de células

que simplesmente estejam próximas ao local da ativação do complemento.



**FIGURA 13-16** Regulação da formação do MAC.

O MAC é formado sobre as superfícies celulares como resultado final da ativação do complemento. A proteína de membrana CD59 e a proteína S inibem a formação do MAC no plasma.

Muito da análise da função de proteínas reguladoras do complemento baseou-se em experimentos *in vitro*, e a maior parte destes experimentos concentrou-se em ensaios que determinam a lise celular mediada pelo MAC como um ponto final. Com base nesses estudos, acredita-se que haja uma hierarquia em termos de importância para a inibição da ativação do complemento, sendo CD59 > DAF > MCP; esta hierarquia pode refletir a relativa abundância dessas proteínas nas superfícies celulares.

***A função das proteínas reguladoras pode ser superada pela excessiva ativação das vias do complemento.*** Temos enfatizado a importância dessas proteínas reguladoras na prevenção da ativação do complemento em células normais. No entanto, a fagocitose mediada pelo complemento e os danos às células normais são mecanismos patogênicos importantes em muitas doenças imunológicas (Cap. 19). Nessas doenças, grandes quantidades de anticorpos podem ser depositadas nas células hospedeiras, gerando proteínas ativas do complemento suficientes para que as moléculas reguladoras sejam incapazes de controlar a ativação da cascata.

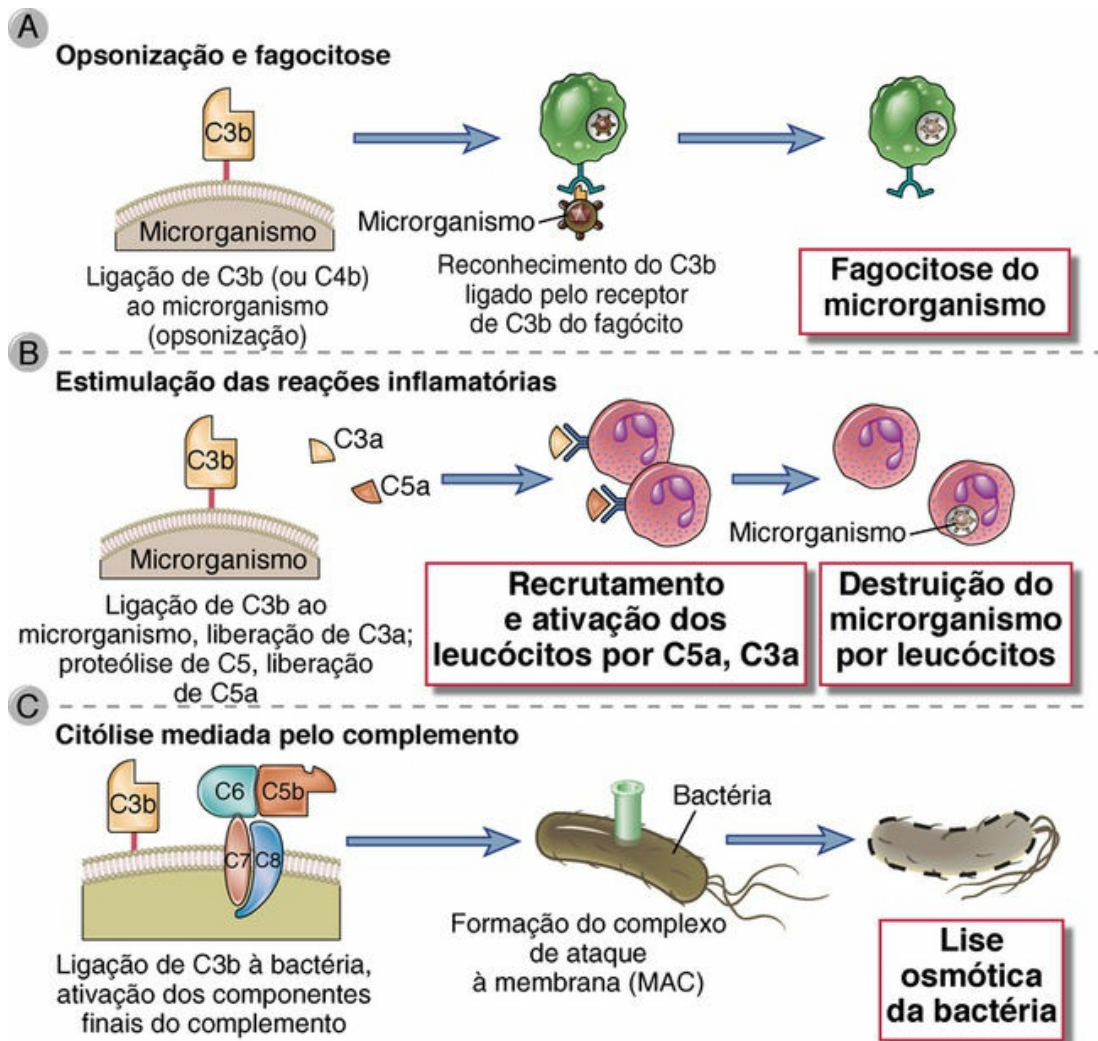
## Funções do Complemento

***As principais funções efetoras do sistema do complemento na imunidade inata e na imunidade adaptativa humoral são promover a fagocitose de microrganismos sobre os quais o complemento é ativado, estimular a inflamação e induzir a lise desses microrganismos.*** Além disso, os produtos de ativação do complemento facilitam a ativação de linfócitos B e a produção de anticorpos. A fagocitose, inflamação e a estimulação da imunidade humoral são mediadas pela ligação de fragmentos proteolíticos de proteínas do complemento para vários receptores da superfície celular, enquanto a lise celular é mediada pelo MAC. Na seção a seguir, vamos descrever essas funções do sistema complemento e seus papéis na defesa do hospedeiro.

### Opsonização e Fagocitose

***Os microrganismos sobre os quais o complemento é ativado pela via clássica ou pela via alternativa tornam-se revestidos com C3b, iC3b ou C4b e são fagocitados pela ligação dessas proteínas aos receptores específicos em macrófagos e neutrófilos (Fig. 13-17, A).*** Como discutido anteriormente, a ativação do complemento leva à geração de C3b e de iC3b ligado covalentemente a superfícies celulares. Tanto C3b quanto iC3b atuam como opsoninas, em virtude do fato de que se ligam especificamente a receptores em neutrófilos e macrófagos. C3b e C4b (o último gerado somente pela via clássica) ligam-se a CR1, e iC3b liga-se a CR3 (Mac-1) e CR4. Por si só, o CR1 é ineficaz na indução da fagocitose de microrganismos revestidos com C3b, mas isso pode ser aumentado se os microrganismos estiverem revestidos com anticorpos IgG que se ligam simultaneamente a receptores Fcγ. A ativação de macrófagos pela citocina IFN-γ também melhora a fagocitose mediada por CR1. A fagocitose de microrganismos dependente de C3b e de iC3b é um importante mecanismo de defesa contra infecções nas imunidades inata e adaptativa. Um exemplo da importância do complemento é a defesa do hospedeiro contra bactérias com cápsulas ricas em polissacarídeos, tais como pneumococos e meningococos, que é mediada

primariamente pela imunidade humoral. Os anticorpos IgM contra polissacarídeos capsulares ligam-se às bactérias, ativam a via clássica do complemento e estimulam a eliminação das bactérias por fagocitose no baço. É por isso que indivíduos sem o baço (p. ex., como resultado da remoção cirúrgica após ruptura traumática ou em pacientes com anemia hemolítica autoimune ou trombocitopenia) são suscetíveis a septicemia pneumocócica e meningocócica disseminada. Humanos e camundongos deficientes em C3 são extremamente suscetíveis a infecções bacterianas letais.



**FIGURA 13-17** Funções do complemento.

As principais funções do sistema complemento na defesa do hospedeiro são mostradas nesta figura. O C3b ligado à célula é uma opsonina que promove a fagocitose das células revestidas (**A**); os produtos proteolíticos C5a, C3a e (em menor extensão) C4a estimulam o recrutamento de leucócitos e a inflamação (**B**); e o MAC lisa as células (**C**).



## Estimulação das Respostas Inflamatórias

**Os fragmentos proteolíticos dos complementos C5a, C4a e C3a induzem inflamação aguda, ativando mastócitos, neutrófilos e células endoteliais (Fig. 13-17, B).** Todos os três peptídeos ligam-se a mastócitos e induzem a desgranulação, com a liberação de mediadores vasoativos como a histamina. Esses peptídeos também são denominados **anafilatoxinas** porque as reações de mastócitos que desencadeiam são características de anafilaxia (Cap. 20). Em neutrófilos, C5a reforça a motilidade, a adesão firme às células endoteliais e, em altas concentrações, o estímulo do *burst* respiratório e da produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, C5a pode atuar diretamente sobre as células endoteliais vasculares e induzir aumento da permeabilidade vascular e expressão de P-selectina, o que promove a ligação de neutrófilos. Essa combinação de ações de C5a em mastócitos, neutrófilos e células endoteliais contribui para a inflamação nos locais da ativação do complemento. O C5a é o mediador mais potente de desgranulação de mastócitos; C3a é cerca de 20 vezes menos potente; e C4a, aproximadamente 2.500 vezes menos potente. Os efeitos pró-inflamatórios de C5a, C4a e C3a são mediados pela ligação dos peptídeos aos receptores específicos em vários tipos celulares. O receptor de C5a é o mais bem caracterizado. Ele é um membro da família de receptores acoplados à proteína G. O receptor de C5a é expresso em muitos tipos celulares, incluindo neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, macrófagos, mastócitos, células endoteliais, células musculares lisas, células epiteliais e astrócitos. O receptor de C3a também é um membro da família de receptores acoplados à proteína G.

## Citólise Mediada pelo Complemento

**A lise mediada pelo complemento de organismos estranhos é mediada pelo MAC (Fig. 13-17, C).** A maioria dos patógenos desenvolveu durante sua evolução paredes celulares espessas ou cápsulas que impedem o acesso do MAC em suas membranas celulares. A lise mediada pelo complemento parece ser essencial apenas para a defesa contra alguns poucos agentes patogênicos que são incapazes de resistir à inserção do MAC, como bactérias do gênero *Neisseria*, que possuem paredes celulares muito delgadas.

## Outras Funções do Sistema Complemento

**Ao se ligar aos complexos antígeno-anticorpo, as proteínas do complemento promovem a solubilização destes complexos e sua eliminação por fagócitos.** Um pequeno número de imunocomplexos é formado frequentemente na circulação quando um indivíduo monta uma vigorosa resposta de anticorpos a um antígeno circulante. Se os imunocomplexos se acumulam no sangue, eles podem ser depositados na parede dos vasos e induzir reações inflamatórias que danificam os

vasos e o tecido circundante. A formação de imunocomplexos pode exigir não apenas a ligação multivalente das regiões Fab de Ig a antígenos, mas também as interações não covalentes das regiões Fc das moléculas de Ig justapostas. A ativação do complemento sobre moléculas de Ig pode bloquear estericamente essas interações Fc-Fc, promovendo, assim, a dissolução dos imunocomplexos. Além disso, como foi discutido anteriormente, os imunocomplexos com C3b aderido são ligados a CR1 em eritrócitos e os complexos são eliminados pelos fagócitos no fígado.

***A proteína C3d gerada a partir de C3 liga-se a CR2 em células B e facilita a ativação dessas células e o início das respostas imunes humorais.*** C3d é gerado quando o complemento é ativado por um antígeno, seja diretamente (p. ex., quando o antígeno é um polissacarídeo microbiano) ou após a ligação ao anticorpo. A ativação do complemento resulta na ligação covalente de C3b e de seu produto de clivagem, C3d, ao antígeno. Os linfócitos B podem se ligar ao antígeno através de seus receptores de Ig e também, simultaneamente, ao C3d ligado ao antígeno por meio do CR2, o correceptor para o receptor de antígeno das células B, aumentando, assim, a sinalização induzida pelo antígeno em células B (Cap. 12). Antígenos opsonizados também estão ligados a células dendríticas foliculares nos centros germinativos dos órgãos linfóides. As células dendríticas foliculares apresentam os antígenos às células B nos centros germinativos; este processo é importante para a seleção de células B de alta afinidade (Fig. 12-19). A importância do complemento nas respostas imunes humorais é ilustrada pela deficiência grave na produção de anticorpos e na formação do centro germinativo que se observa em camundongos geneticamente deficientes para C3 e C4 ou para a proteína CR2.

## Deficiências do Complemento

As deficiências genéticas das proteínas do complemento e de proteínas reguladoras são as causas de várias doenças humanas. Foram descritas deficiências herdadas e espontâneas em muitas das proteínas do complemento em humanos.

- Foram descritas deficiências genéticas em componentes da via clássica, incluindo C1q, C1r, C4, C2 e C3; a deficiência de C2 é a deficiência do complemento mais comum em humanos. Mais de 50% dos pacientes com deficiências em C1q, C2 e C4 desenvolvem lúpus eritematoso sistêmico. A razão para essa associação é desconhecida, mas pode estar relacionada com o fato de que os defeitos na ativação do complemento levam à falha na eliminação de imunocomplexos circulantes. Se os imunocomplexos normalmente gerados não forem eliminados da circulação, podem ser depositados em paredes dos vasos sanguíneos e tecidos, onde ativam leucócitos por vias dependentes do receptor de Fc e produzem inflamação local. O complemento também pode exercer um papel importante na eliminação de corpos apoptóticos contendo DNA fragmentado.



Esses corpos apoptóticos são fontes prováveis de antígenos nucleares que desencadeiam respostas de autoanticorpos observadas no lúpus. Além disso, proteínas do complemento regulam sinais mediados por antígenos recebidos pelas células B; na ausência desses antígenos, os antígenos próprios podem não induzir tolerância das células B e isso pode resultar em autoimunidade. Surpreendentemente, as deficiências de C2 e de C4 não são geralmente associadas a aumento da suscetibilidade a infecções, o que sugere que a via alternativa e os mecanismos efetores mediados por receptores de Fc são adequados para a defesa do hospedeiro contra a maioria dos microrganismos. A deficiência de C3 está associada a infecções por bactérias piogênicas, frequentes e graves, que podem ser fatais, ilustrando o papel central de C3 na opsonização, fagocitose aumentada e destruição desses organismos.

- As deficiências em componentes da via alternativa, incluindo properdina e Fator D, resultam em aumento da suscetibilidade à infecção por bactérias piogênicas. Uma mutação do gene que codifica a lectina ligadora de manose (MBL) contribui para a imunodeficiência em alguns pacientes; isso é discutido no [Capítulo 21](#).
- Também foram descritas deficiências em componentes da via terminal do complemento, incluindo C5, C6, C7, C8 e C9. Curiosamente, tal como mencionado anteriormente, o único problema clínico consistente nesses pacientes é uma propensão para infecções disseminadas por bactérias do gênero *Neisseria*, incluindo *Neisseria meningitidis* e *Neisseria gonorrhoeae*, indicando que a lise bacteriana mediada pelo complemento é particularmente importante para a defesa contra esses organismos.
- As deficiências em proteínas reguladoras do complemento estão associadas a ativação anormal do complemento e uma variedade de anormalidades clínicas relacionadas. As deficiências no inibidor de C1 e no fator de aceleração do decaimento foram mencionadas anteriormente. Em pacientes com deficiência de Fator I, há depleção do C3 plasmático como resultado da formação desregulada de C3-convertase da fase fluida (por mecanismo normal de amplificação de C3b). A consequência clínica é aumento na incidência de infecções por bactérias piogênicas. A deficiência de fator H é rara e caracterizada por excesso de ativação da via alternativa, consumo de C3 e glomerulonefrite causada por eliminação inadequada de imunocomplexos e deposição renal de subprodutos do complemento. Uma forma atípica de síndrome hemolítico-urêmica envolve a regulação defeituosa do complemento, e as mutações mais comuns nesta condição ocorrem no gene do Fator H. Variantes alélicas específicas do Fator H estão fortemente associadas à degeneração macular relacionada com a idade. Os efeitos da falta de Fator I ou de Fator H são semelhantes aos de um autoanticorpo, denominado fator nefrótico de C3 (C3NeF), que é específico para C3-convertase da via alternativa (C3bBb). C3NeF estabiliza C3bBb e protege o complexo de dissociação mediada pelo Fator H, o que resulta em consumo desregulado de C3.

- Os pacientes com esse anticorpo frequentemente apresentam glomerulonefrite, possivelmente causada pela retirada inadequada de imunocomplexos circulantes.
- Deficiências em receptores do complemento incluem a ausência de CR3 e CR4, ambas resultantes de mutações raras na cadeia  $\beta$  (CD18), que é compartilhada pela família CD11/CD18 de moléculas de integrina. A doença congênita causada por este defeito genético é chamada deficiência de adesão de leucócitos (Cap. 20). Este distúrbio é caracterizado por infecções piogênicas recorrentes e é causado por adesão inadequada de neutrófilos ao endotélio nos locais de infecção no tecido e, talvez, pela fagocitose de bactérias dependente de iC3b, que se encontra prejudicada.

## Efeitos Patológicos do Sistema Complemento

Mesmo quando é devidamente regulado e apropriadamente ativado, o sistema complemento pode causar lesão tecidual significativa. Alguns dos efeitos patológicos associados a infecções bacterianas podem ocorrer em decorrência de respostas inflamatórias agudas mediadas pelo complemento a organismos infecciosos. Em algumas situações, a ativação do complemento está associada à trombose intravascular e pode levar a lesões isquêmicas de tecidos. Por exemplo, os anticorpos antiendotélio contra órgãos vascularizados transplantados e os imunocomplexos produzidos em doenças autoimunes podem se ligar ao endotélio vascular e ativar o complemento, induzindo a inflamação e a geração do MAC com danos à superfície endotelial, o que favorece a coagulação. Também existe evidência de que algumas das proteínas terminais do complemento podem ativar protrombinases na circulação, iniciando a trombose independente de danos endoteliais mediados pelo MAC. Na nefropatia membranosa, um distúrbio renal mediado por autoanticorpos, danos sublíticos de células epiteliais glomerulares podem ser mediados pelo MAC, o qual é gerado após a ligação do anticorpo a um autoantígeno glomerular. Nesta doença, não há qualquer inflamação ou presença de imunocomplexos circulantes e esvaziamento glomerular é uma consequência da ativação do complemento.

Os exemplos mais claros de patologia mediada pelo complemento são doenças mediadas por imunocomplexos. A vasculite sistêmica e a glomerulonefrite por imunocomplexo resultam da deposição de complexos antígeno-anticorpo nas paredes dos vasos e glomérulos renais (Cap. 19). O complemento ativado por esses imunocomplexos depositados inicia as respostas inflamatórias agudas que destroem as paredes dos vasos ou glomérulos e levam a trombose, dano isquêmico tecidual e cicatrizes. Estudos com camundongos geneticamente deficientes para as proteínas C3 ou C4 do complemento ou para receptores de Fc $\gamma$  sugerem que a ativação de leucócitos mediada pelo receptor de Fc também pode causar inflamação e lesão tecidual como resultado da deposição de IgG, mesmo na ausência de ativação do

complemento.

## Evasão do Complemento por Microrganismos

Os patógenos evoluíram desenvolvendo diversos mecanismos para se evadir do sistema complemento. Alguns microrganismos possuem paredes celulares espessas capazes de impedir a ligação das proteínas de complemento, como o MAC. As bactérias Gram-positivas e alguns fungos são exemplos de microrganismos que usam essa estratégia de evasão relativamente inespecífica. Alguns dos mecanismos mais específicos utilizados por um pequeno subconjunto de patógenos serão aqui considerados. Esses mecanismos de evasão podem ser divididos em três grupos.

- **Microrganismos podem se evadir do sistema complemento por meio do recrutamento de proteínas reguladoras do complemento do hospedeiro.**

Muitos patógenos, contrapondo-se aos microrganismos não patogênicos, expressam ácidos siálicos, que podem inibir a via alternativa do complemento por recrutamento do Fator H que dissocia C3b de Bb. Alguns patógenos, como esquistossomas, *Neisseria gonorrhoeae* e certas espécies de *Haemophilus*, vasculham os resíduos de ácido siálico do hospedeiro e transferem o açúcar enzimaticamente para suas superfícies celulares. Outros, incluindo *Escherichia coli* K1 e alguns meningococos, desenvolveram rotas biossintéticas especiais para a geração de ácido siálico. Alguns microrganismos sintetizam proteínas que podem recrutar a proteína reguladora Fator H para a superfície da célula. A GP41, no vírus da imunodeficiência humana (HIV), pode se ligar ao Fator H, e acredita-se que esta propriedade do vírus possa contribuir para a proteção do vírion. Muitos outros patógenos desenvolveram proteínas que facilitam o recrutamento do Fator H para as suas paredes celulares. Estão incluídos nesse grupo bactérias, como *Streptococcus pyogenes*, *Borrelia burgdorferi* (o agente causador da doença de Lyme), *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*; o agente patogênico fúngico *Candida albicans*; e nematoides, como o *Echinococcus granulosus*. Outros microrganismos, tais como HIV, incorporam várias proteínas reguladoras do hospedeiro em seus envelopes. Por exemplo, o HIV incorpora as proteínas reguladoras do complemento ancoradas em GPI, como o DAF e o CD59, quando brota de uma célula infectada.

- **Diversos agentes patogênicos produzem proteínas específicas que imitam as proteínas reguladoras do complemento humano.** *Escherichia coli* produz uma proteína que se liga a C1q (C1qBP) capaz de inibir a formação de um complexo entre C1q, C1r e C1s. *Staphylococcus aureus* produz uma proteína chamada SCIN (inibidor do complemento de estafilococos, do inglês *staphylococcal complement inhibitor*) que se liga às C3-convertases, tanto da via clássica quanto da alternativa, e as inibe de forma estável. Dessa forma, inibe todas as três vias do complemento. A glicoproteína C-1 do vírus herpes simples

desestabiliza a convertase da via alternativa, impedindo que seu componente C3b se ligue à properdina. GP160, uma proteína de membrana do *Trypanosoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas, liga-se ao C3b e evita a formação da C3-convertase, além de acelerar seu decaimento. VCP-1 (proteína do vírus vacínia inibidora de complemento-1, do inglês *vaccinia virus complement inhibitory protein 1*), uma proteína produzida pelo vírus vacínia, assemelha-se estruturalmente à C4BP humana, mas pode se ligar tanto a C4b quanto a C3b e acelera o decaimento de ambas as convertases de C3 e de C5.

- **A inflamação mediada pelo complemento também pode ser inibida por produtos de genes microbianos.** O *Staphylococcus aureus* sintetiza uma proteína chamada CHIPS (quimiocina proteína inibidora de estafilococos, do inglês *chemokine inhibitory protein of staphylococci*), que é um antagonista da anafilatoxina C5a.

Esses exemplos ilustram como os microrganismos adquiriram a capacidade de se evadir do sistema complemento, presumivelmente contribuindo para sua patogenicidade.

## Imunidade neonatal

**Neonatos mamíferos são protegidos contra a infecção por anticorpos produzidos pela mãe que atravessam a placenta, sendo transportados para a circulação fetal, e pelos anticorpos ingeridos no leite e transportados através do epitélio intestinal de recém-nascidos por um processo especializado conhecido como transcitose.** Os recém-nascidos não têm a capacidade de montar respostas imunes eficazes contra microrganismos e, durante vários meses após o nascimento, sua principal defesa contra a infecção é a imunidade passiva fornecida pelos anticorpos maternos. A IgG materna é transportada através da placenta, e a IgA e IgG presentes no leite materno são ingeridas pelo lactente. O transporte transepitelial de IgA materna para o leite depende do receptor de poli-Ig descrito no [Capítulo 14](#). As moléculas de IgA e IgG ingeridas podem neutralizar organismos patogênicos que tentam colonizar o intestino do bebê, e os anticorpos IgG ingeridos também são transportados através do epitélio intestinal para a circulação do neonato. Assim, um recém-nascido possui, essencialmente, os mesmos anticorpos IgG que sua mãe.

O transporte da IgG materna através da placenta e do epitélio intestinal neonatal é mediado por um receptor de Fc específico para IgG denominado **receptor de Fc neonatal** (FcRn). O FcRn é único entre os receptores de Fc em que se assemelha a uma molécula do complexo de histocompatibilidade principal de classe I (MHC) contendo uma cadeia pesada transmembrânica que é não covalentemente associada a  $\beta 2$ -microglobulina. No entanto, a interação de IgG com o FcRn não envolve a porção da molécula que é análoga à fenda de ligação do peptídeo usado

pela moléculas de MHC de classe I para apresentar os peptídios para o reconhecimento pelas células T.

Os adultos também expressam o FcRn no endotélio, em macrófagos e em muitos outros tipos celulares. Esse receptor tem como função proteger os anticorpos IgG plasmáticos do catabolismo. Descrevemos esse processo no [Capítulo 5](#).

## Resumo

A imunidade humoral é mediada por anticorpos e é o braço efetor do sistema imune adaptativo, responsável pela defesa contra microrganismos extracelulares e toxinas microbianas. Os anticorpos que proporcionam proteção contra a infecção podem ser produzidos por células secretoras de anticorpos de vida longa, que são geradas após a primeira exposição ao antígeno microbiano ou por reativação de células B de memória quando da reexposição ao antígeno.

Anticorpos bloqueiam, ou neutralizam, a infectividade de microrganismos por meio da ligação a esses organismos e impedindo estereoquimicamente suas interações com receptores celulares. De maneira semelhante, os anticorpos bloqueiam as ações patológicas de toxinas, impedindo sua ligação às células hospedeiras.

As partículas revestidas com anticorpo (opsonizadas) são fagocitadas após a ligação das porções Fc de anticorpos aos respectivos receptores em fagócitos. Existem vários tipos de receptores de Fc específicos para distintas subclasses de IgG, IgA e IgE, e diferentes receptores de Fc ligam-se aos anticorpos com afinidades variáveis. A adesão de imunocomplexos aos receptores de Fc em fagócitos também libera sinais que estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos.

O sistema complemento é composto por proteínas séricas e de membrana que interagem de um modo altamente regulado para produzir produtos biologicamente ativos. As três principais vias de ativação do complemento são a via alternativa, que é ativada em superfícies microbianas em ausência de anticorpo; a via clássica, que é ativada por complexos antígeno-anticorpo; e a via das lectinas, que é iniciada por lectinas circulantes que se ligam a carboidratos presentes na superfície de patógenos. Estas vias geram enzimas que clivam a proteína C3 e os produtos clivados de C3 tornam-se covalentemente ligados a superfícies microbianas ou anticorpos, limitando, assim, os passos subsequentes da ativação do complemento a esses locais. Todas as vias convergem para uma via comum que envolve a formação de um poro na membrana após a clivagem proteolítica de C5.

A ativação do complemento é regulada por várias proteínas plasmáticas e de membrana celular que inibem diferentes etapas nas cascatas.

As funções biológicas do sistema complemento incluem opsonização de organismos e de imunocomplexos por fragmentos proteolíticos de C3, seguida pela ligação a receptores específicos para esses fragmentos em fagócitos e eliminação fagocitária; ativação de células inflamatórias por fragmentos proteolíticos de

proteínas do complemento denominadas anafilatoxinas (C3a, C4a, C5a); citólise mediada pela formação de MAC nas superfícies celulares; solubilização e remoção dos imunocomplexos; e aumento das respostas imunes humorais.

A imunidade protetora em neonatos é uma forma de imunidade passiva fornecida pelos anticorpos maternos transportados através da placenta por um receptor Fc neonatal especializado.

## Leituras selecionadas

### Complemento

Gros, P., Milder, F. J., Janssen, B. J. Complement driven by conformational changes. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:48–58.

Holers, V. M. Complement and its receptors: new insights into human disease. *Annual Review of Immunology*. 2014; 32:433–459.

Manderson, A. P., Botto, M., Walport, M. J. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annual Review of Immunology*. 2004; 22:431–456.

Ricklin, D., Lambris, J. D. Complement in immune and inflammatory disorders. *Journal of Immunology*. 2013; 190:3831–3838.

Roozendaal, R., Carroll, M. C. Emerging patterns in complement-mediated pathogen recognition. *Cell*. 2006; 125:29–32.

### Funções Efetoras do Anticorpo e dos Receptores de Fc

Nimmerjahn, F., Ravetch, J. V. Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:34–47.

Schwab, I., Nimmerjahn, F. Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:176–189.

Smith, K. G., Clatworthy, M. R. FcγRIIB in autoimmunity and infection: evolutionary and therapeutic implications. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:328–343.



## CAPÍTULO 14

# Imunidade Especializada em Barreiras Epiteliais e em Tecidos Imunologicamente Privilegiados

### CARACTERÍSTICAS GERAIS DA IMUNIDADE NAS BARREIRAS EPITELIAIS

#### IMUNIDADE NO SISTEMA GASTRINTESTINAL

Imunidade Inata no Trato Gastrointestinal

Imunidade Adaptativa no Trato Gastrointestinal

Regulação da Imunidade no Trato Gastrointestinal pelas Células T Regulatórias e Citocinas

Tolerância Oral e Vacinas Oraís

O Papel da Microbiota Comensal na Regulação do Sistema Imune

Doenças Relacionadas a Respostas Imunes no Intestino

#### IMUNIDADE EM OUTROS TECIDOS DAS MUCOSAS

Imunidade no Sistema Respiratório

Imunidade no Sistema Geniturinário

#### SISTEMA IMUNE CUTÂNEO

Respostas Imunes Inata e Adaptativa na Pele

Doenças Relacionadas a Respostas Imunes na Pele

#### TECIDOS IMUNOLOGICAMENTE PRIVILEGIADOS

Privilegio Imunológico no Olho, Cérebro e Testículo

Privilegio Imunológico no Feto de Mamíferos

#### RESUMO

A maior parte da nossa discussão sobre imunidade inata e adquirida até agora neste livro tem tratado das características e dos mecanismos de respostas imunes em qualquer localização anatômica nos sistemas corpóreos de mamíferos. Entretanto, o sistema imune desenvolveu propriedades especializadas em diferentes partes do corpo, particularmente nos tecidos que compõem barreiras epiteliais. Essas características são essenciais para a proteção contra os diferentes tipos de desafios

microbianos que são, em sua maioria, encontrados frequentemente nesses locais e que também asseguram a nossa sobrevivência em harmonia com organismos comensais não patogênicos que colonizam as superfícies epiteliais e os lumens de órgãos mucosos (Tabela 14-1). A coleção de células imunes e moléculas que apresentam funções especializadas em locais anômicos particulares é denominada sistema imune regional. Grande parte deste capítulo é destinada à discussão desses sistemas imunes especializados. Finalizamos com uma consideração acerca de alguns tecidos que normalmente não possuem respostas e são denominados imunologicamente privilegiados.

**Tabela 14-1**

### Características da Imunidade Regional

Região	Desafios Específicos	Estruturas Anatômicas Específicas	Células ou Moléculas Especializadas: Funções
Trato gastrointestinal	Tolerância a antígenos alimentares Tolerância à microbiota comensal, mas responsiva a patógenos raros Enorme área de superfície	Tonsilas Placas de Peyer, foliculos da lâmina própria	Células epiteliais intestinais: secreção de muco Células M: captura de antígenos do lúmen Células de Paneth: produção de defensinas IgA secretória, IgM: neutralização de microrganismos no lúmen Subpopulações de células dendríticas: reconhecimento de antígenos no lúmen; reconhecimento de antígenos na lâmina própria; indução de tolerância mediada por células T; ativação de células T efectoras; indução de troca de classe de IgA pelas células B; indução de fenótipos de células B e T que determinam seu <i>homing</i> intestinal
Sistema respiratório	Exposição à mistura de patógenos provenientes de vias aéreas, microrganismos e partículas inócuas	Tonsilas Adenoides	Células epiteliais ciliadas do trato respiratório: produção de muco e defensinas, movimento do muco com microrganismos e partículas capturadas para fora das vias aéreas IgA secretória, IgM e IgG: neutralização de microrganismos fora da barreira epitelial
Sistema imune cutâneo	Grande área de superfície	Barreira epitelial escamosa estratificada queratinizada	Queratinócitos: produção de queratina, secreção de citocina e defensina Células de Langerhans: reconhecimento de antígenos da epiderme Subpopulações de células dendríticas: reconhecimento de antígenos da derme; indução de tolerância de células T; ativação de células T efectoras; indução de fenótipos de células T que determinam seu <i>homing</i> na pele

## Características gerais da imunidade nas barreiras epiteliais

**Os sistemas imunes regionais incluem os sistemas imunes das mucosas, que protegem as barreiras das mucosas gastrointestinal, broncopulmonar e geniturinária, bem como do sistema imune cutâneo (pele).** O sistema imune gastrointestinal é o maior e mais complexo. Considerando duas razões simples – o número de linfócitos localizados no tecido e a quantidade de anticorpos produzidos lá –, o sistema gastrointestinal supera todas as outras partes do sistema imune combinadas. Estima-se que a mucosa intestinal humana contenha aproximadamente  $50 \times 10^9$  linfócitos (Tabela 14-2). A dedicação de tantos recursos do sistema imune para o intestino reflete a grande área de superfície da mucosa intestinal, que se desenvolveu para maximizar a função primária de absorção do tecido, mas que também deve resistir à invasão pelos trilhões de bactérias do lúmen. A pele também é

um tecido de barreiras com uma vasta área de superfície que deve ser protegida de microrganismos ambientais que têm acesso aos revestimentos externos. O número total de linfócitos na pele é estimado em aproximadamente  $20 \times 10^9$ , quase duas vezes o número total de linfócitos circulantes (Tabela 14-2). Os diferentes aspectos físicos da mucosa (mole, úmida e quente) e da pele (resistente, seca e fria) favorecem a colonização e invasão por diferentes tipos de microrganismos. Portanto, não é de se surpreender que o sistema imune seja especializado em diferentes formas nesses dois tipos de tecidos.

---

### Tabela 14-2

#### Número de Linfócitos em Diferentes Tecidos

---

Baço	$70 \times 10^9$
Linfonodos	$190 \times 10^9$
Medula óssea	$50 \times 10^9$
Sangue	$10 \times 10^9$
Pele	$20 \times 10^9$
Intestinos	$50 \times 10^9$
Fígado	$10 \times 10^9$
Pulmões	$30 \times 10^9$

***O sistema imune nas barreiras epiteliais compartilha uma organização anatômica básica, com uma camada epitelial externa que previne a invasão microbiana, o tecido conjuntivo subjacente contendo células de vários tipos que são mediadoras das respostas imunes aos organismos comensais ou patogênicos que atravessam o epitélio, além da presença de linfonodos drenantes mais distantes, cujas respostas imunes adaptativas aos microrganismos invasores são iniciadas e amplificadas.*** A barreira epitelial pode ser composta de várias camadas, como na pele, ou uma única camada sobre a membrana basal, como nos intestinos. O tecido conjuntivo subjacente, como a derme na pele ou a lâmina própria no intestino, contém numerosos e dispersos linfócitos, células dendríticas, macrófagos e mastócitos, que são mediadores das respostas imunes inatas e o braço efetor das respostas imunes adaptativas. Os tecidos mucosos também contêm tecidos linfoides secundários não encapsulados, mas organizados sob a barreira epitelial, que incluem linfócitos B e T, células dendríticas e macrófagos. Estas coleções de células imunes frequentemente denominadas **tecido linfoide associado à mucosa (MALT)** são locais nos quais respostas imunes adaptativas especializadas para uma determinada mucosa em particular são iniciadas. As respostas imunes adaptativas em sistemas imunes associados a barreiras epiteliais também são induzidas em linfonodos drenantes que estão localizados fora dos tecidos das barreiras. Na pele e nos tecidos mucosos, os

antígenos externos à barreira epitelial são capturados pelas células especializadas no epitélio e levados aos linfonodos drenantes ou ao MALT.

**Os sistemas imunes regionais contêm tipos celulares especializados e moléculas que podem não ser abundantes em outros locais.** Os tipos celulares que estão restritos a um ou mais sistemas imunes regionais e não estão presentes por todo o sistema imune incluem subpopulações de células dendríticas (p. ex., células de Langerhans na pele), células de transporte de antígenos (p. ex., células M no intestino), linfócitos T (p. ex., células T  $\gamma\delta$  nos epitélios), subpopulações de linfócitos B (p. ex., células B produtoras de IgA e plasmócitos nos tecidos mucosos) e várias células linfoides inatas. Características anatômicas únicas e tipos celulares em cada tecido conferem características funcionais particulares. Por exemplo, a amostragem dos antígenos no intestino e seu transporte para os tecidos linfoides secundários dependem dos tipos celulares e das rotas de drenagem linfática que são diferentes daqueles encontrados na pele ou nos órgãos internos. Além disso, as estruturas do MALT em diferentes regiões do intestino e de outros órgãos mucosos têm aspectos distintos.

**Os linfócitos efetores que são gerados nos linfonodos drenantes ou no MALT de um sistema imune regional particular (p. ex., pele, intestino delgado) entrarão no sangue e preferencialmente retornarão para o mesmo órgão (p. ex., derme, lâmina própria).** A migração e localização das subpopulações de linfócitos em diferentes tecidos são, em parte, atribuídas aos mecanismos de localização tecido-específicos que direcionam essas subpopulações do sangue para tecidos particulares, assunto que discutiremos posteriormente em detalhes neste capítulo.

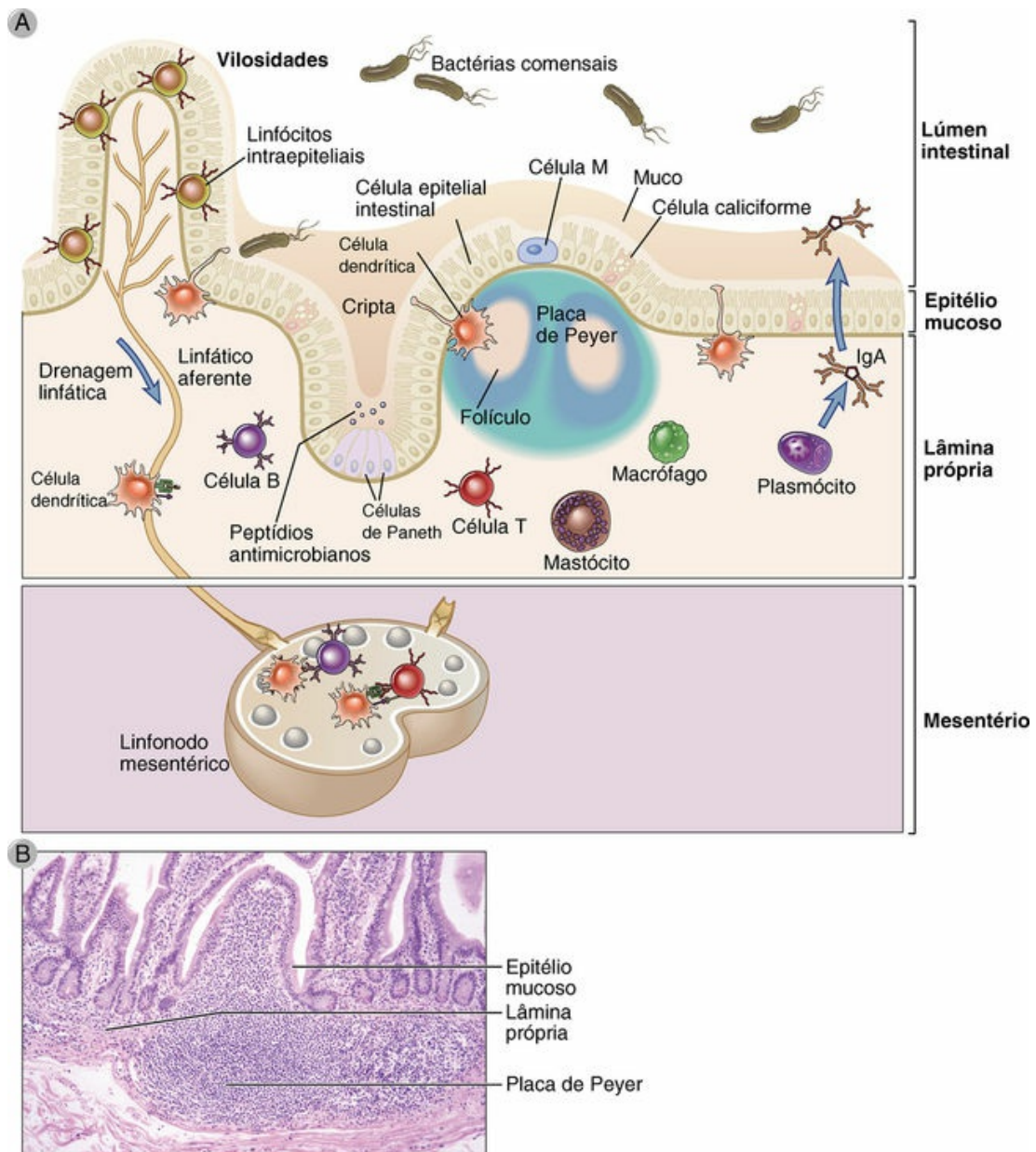
**Os sistemas imunes regionais têm funções regulatórias importantes que servem para prevenir respostas indesejáveis a microrganismos não patogênicos e substâncias estranhas que provavelmente estão presentes em diferentes barreiras.** O exemplo mais claro é o sistema imune associado ao intestino, que deve suprimir respostas a bactérias comensais que colonizam a mucosa intestinal, bem como a substâncias estranhas derivadas de alimentos, mas que deve responder a bactérias patogênicas menos frequentes. A supressão das respostas imunes a organismos não patogênicos e substâncias estranhas inofensivas também é importante em outros locais do corpo, incluindo pele, pulmão e trato geniturinário, que não são estéreis e são constantemente expostos ao ambiente.

Com esta introdução, discutiremos os detalhes desses vários aspectos em diferentes sistemas imunes regionais, começando com os maiores.

## Imunidade no sistema gastrointestinal

O sistema gastrointestinal, como outros tecidos de mucosas, é composto de uma estrutura tubular revestida por uma camada de células epiteliais contínuas sobre uma

membrana basal que serve como uma barreira física ao ambiente externo. Abaixo do epitélio, localiza-se o tecido conjuntivo frouxo do intestino denominado lâmina própria, que contém vasos sanguíneos, vasos linfáticos e tecidos linfoides associados à mucosa (Fig. 14-1). A submucosa é uma camada de tecido conjuntivo denso que conecta a mucosa às camadas de músculo liso.



**FIGURA 14-1** Sistema imune gastrintestinal.

**A**, Diagrama esquemático dos componentes celulares do sistema imune da mucosa intestinal. **B**, Fotomicrografia do tecido linfóide das mucosas no intestino humano. Agregados similares de tecido linfóide são encontrados em todo o trato gastrintestinal.

Do ponto de vista do imunologista, o trato gastrintestinal tem duas propriedades marcantes. Primeiro, a combinação das mucosas dos intestinos delgado e grosso tem uma área de superfície total com mais de 200 m<sup>2</sup> (o tamanho de uma quadra de tênis), compostas principalmente de vilosidades e microvilosidades do intestino delgado. Segundo, o lúmen do intestino está repleto de microrganismos, muitos dos quais são ingeridos com alimentos, sendo a maioria continuamente em crescimento



como organismos comensais na superfície mucosa de indivíduos saudáveis. Estima-se que mais de 500 espécies distintas de bactérias, cerca de  $10^{14}$  células, residam no intestino de mamíferos. Isso é 10 vezes mais do que o número total de células no corpo, levando alguns microbiologistas a salientarem que nós, humanos, somos na verdade apenas 10% humanos e 90% bactérias! Fomos desenvolvidos para depender desses microrganismos comensais para várias funções, incluindo a degradação dos componentes de nossa dieta que nossas próprias células não podem digerir. Esses microrganismos comensais também competem com microrganismos potencialmente patogênicos no intestino e previnem infecções prejudiciais. Embora os organismos comensais sejam benéficos quando estão contidos na porção externa da barreira na mucosa intestinal, são potencialmente letais se cruzam a barreira mucosa e entram na circulação ou cruzam a parede intestinal, particularmente nos indivíduos imunocomprometidos. Além disso, organismos patogênicos não comensais podem se tornar parte da mistura diversa de organismos que compõem a flora intestinal a qualquer momento, caso sejam ingeridos em alimento ou água contaminados. Esses organismos patogênicos, incluindo bactérias, vírus, protozoários e parasitas helmintos, podem causar doenças significativas, frequentemente sem invadir o revestimento epitelial e mesmo representando uma pequena fração de microrganismos no lúmen intestinal. Para a saúde ser mantida, o sistema imune mucoso deve ser capaz de reconhecer e eliminar esses patógenos numericamente raros, mesmo na presença de números elevados de microrganismos não patogênicos.

Esses desafios foram vencidos pela evolução de um conjunto complexo de estratégias de reconhecimento imune inato e adaptativo e mecanismos efetores, que descreveremos a seguir. Alguns desses mecanismos compreendemos bem e outros permanecem incompletamente caracterizados. Muitas das características do sistema imune do trato gastrointestinal são compartilhadas por outros tecidos mucosos e, a seguir, apontaremos esses aspectos comuns da imunidade das mucosas. Infelizmente, as infecções intestinais por organismos patogênicos não são frequentemente controladas pela imunidade das mucosas e são responsáveis por milhões de mortes por ano em todo o mundo.

## Imunidade Inata no Trato Gastrointestinal

***Células epiteliais intestinais que revestem os intestinos delgado e grosso são parte integrante do sistema imune inato gastrointestinal, envolvidas em respostas a patógenos, tolerância a organismos comensais e amostragem de antígenos para a apresentação ao sistema imune adaptativo no intestino.***

Existem vários tipos distintos de células epiteliais intestinais, todas derivadas de um precursor comum encontrado nas criptas de glândulas intestinais. Dentre essas estão as células caliciformes secretoras de muco, que residem no ápice das vilosidades

intestinais; as células epiteliais absorptivas secretoras de citocinas; as células M apresentadoras de antígenos, encontradas em estruturas especializadas em forma de cúpula que recobrem os tecidos linfoides; e as células de Paneth secretoras de peptídios antibacterianos, encontradas na porção basal das criptas. Todos esses tipos de células contribuem de diferentes maneiras para a função de barreira da mucosa, como discutiremos posteriormente.

A imunidade inata protetora no intestino é mediada, em parte, por barreiras físicas e químicas fornecidas por células epiteliais mucosas e suas secreções de muco. As células epiteliais intestinais adjacentes são unidas por proteínas que formam as junções de oclusão, incluindo a zônula *occludens* 1 e claudinas, que bloqueiam o movimento de microrganismos pelos espaços intercelulares até a lâmina própria. Além disso, as células epiteliais mucosas produzem substâncias antimicrobianas, incluindo as defensinas ([Cap. 4](#)). Diversos tipos de células localizados na mucosa, incluindo células epiteliais, células dendríticas e macrófagos, são capazes de montar respostas inflamatórias e antivirais. A maioria dessas respostas é induzida pela interação entre receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos e ligantes microbianos, tema discutido no [Capítulo 4](#). De modo interessante, alguns receptores da imunidade inata que promovem inflamação em outras partes do corpo têm ações anti-inflamatórias no intestino. Nesta seção, descreveremos características da imunidade inata que são exclusivas do intestino.

***Diversas proteínas extensamente glicosiladas, denominadas mucinas, formam uma barreira física viscosa que previne o contato entre microrganismos e células do trato gastrintestinal.*** As mucinas contêm diferentes oligossacarídeos O-ligados e incluem glicoproteínas secretadas e de superfície celular. As mucinas secretadas, incluindo MUC2, MUC5 e MUC6, formam um gel hidratado de 300 a 700 µm de espessura que tem duas camadas: uma camada externa menos densa que normalmente é colonizada por bactérias e uma camada interna densa que está ligada ao epitélio e é livre de bactérias. Essas camadas de muco previnem o contato entre microrganismos e as células de revestimento do epitélio e também servem como uma matriz para exposição de substâncias antimicrobianas produzidas por células epiteliais. Algumas mucinas atuam como moléculas neutralizantes de adesinas de patógenos, ou seja, podem se desprender de células epiteliais para se ligarem a proteínas adesinas que bactérias patogênicas usam para a adesão às membranas celulares do hospedeiro. Além do muco secretado, a superfície apical das células epiteliais gastrintestinais é coberta com proteínas mucinas ligadas à membrana, incluindo MUC1, MUC3A/b, MUC12, MUC13 e MUC17. Essas mucinas ligadas à membrana combinam-se com vários glicolipídios para formar uma camada macromolecular densa na superfície de células epiteliais denominada glicocálice, com 30 a 500 nm de espessura em diferentes localizações no intestino. O glicocálice, como o muco secretado, serve como uma barreira física para prevenir o contato microbiano.

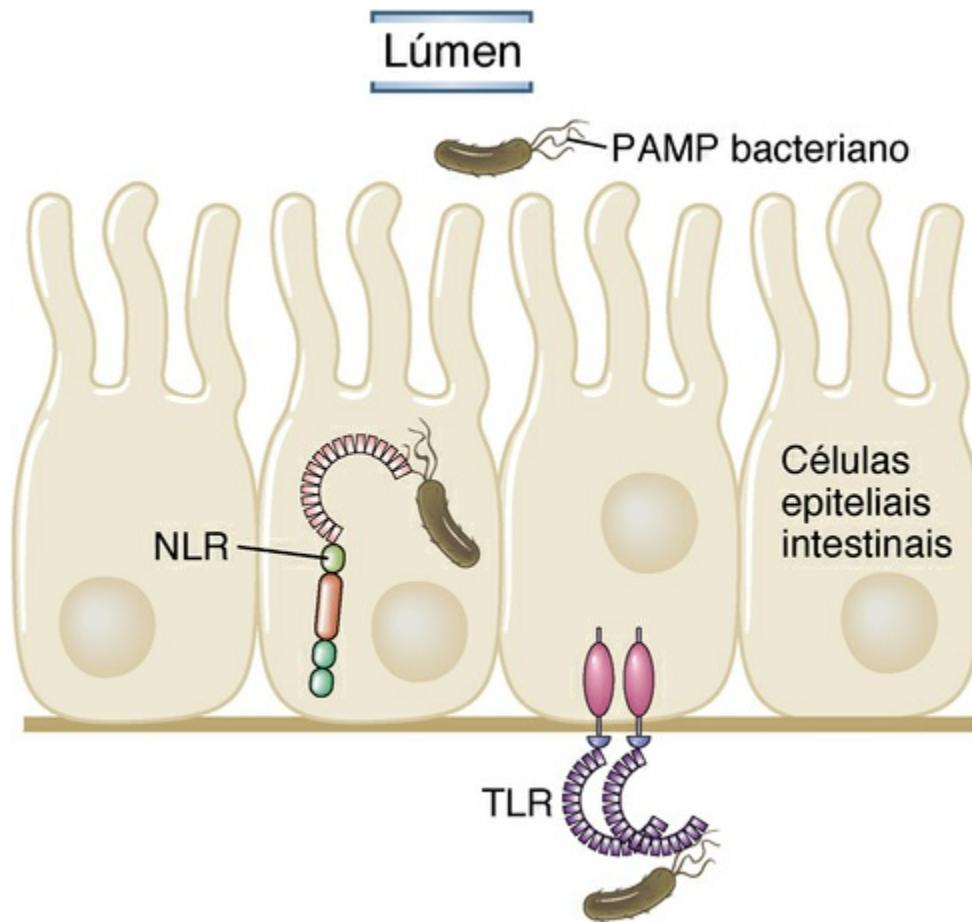
***A barreira mucosa do intestino sofre renovação e alterações químicas em resposta a vários sinais ambientais e imunes, que permitem rápido aumento na função da barreira mucosa.*** As mucinas são constitutivamente produzidas por células epiteliais de superfície no trato gastrointestinal e por glândulas submucosas e são substituídas por moléculas recém-sintetizadas a cada 6-12 horas. Diversos estímulos ambientais e imunes podem induzir o aumento drástico na produção de mucina. Esses estímulos incluem citocinas (IL-1, IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, fator de necrose tumoral [TNF] e interferons do tipo I), produtos de neutrófilos (tais como elastase) e proteínas de adesão microbiana. Esses estímulos aumentam não apenas a expressão gênica de mucina, mas também alteram a glicosilação das mucinas em virtude das alterações induzidas na expressão de enzimas glicosiltransferases. Acredita-se que as alterações na quantidade e glicosilação das mucinas aumentem sua função de barreira contra patógenos.

***As defensinas produzidas por células epiteliais intestinais fornecem proteção imune inata contra bactérias luminais, e os defeitos na sua produção estão associados à invasão bacteriana e doença inflamatória intestinal.*** As defensinas são peptídios produzidos por vários tipos celulares no corpo que exercem efeitos tóxicos letais em microrganismos por inserirem e causarem perda da integridade das membranas fosfolipídicas externas dos patógenos (Cap. 4). No intestino delgado, as principais defensinas são as  $\alpha$ -defensinas, incluindo as defensinas 5 humana (HD5) e HD6, produzidas constitutivamente como proteínas precursoras inativas por células de Paneth localizadas na base das criptas entre as microvilosidades. Os peptídios ativos HD5 e HD6 são gerados por clivagem proteolítica mediada por tripsina, também produzida pelas células de Paneth. No cólon, as  $\beta$ -defensinas são produzidas por células epiteliais absorptivas nas criptas intestinais, algumas constitutivamente e outras em resposta a IL-1 ou a bactérias invasivas. Além disso, os grânulos neutrofilicos são ricos em  $\alpha$ -defensinas, que provavelmente contribuem para as funções antimicrobianas nos locais de infecção da parede intestinal. Vários estudos identificaram defeitos na produção de defensinas por células epiteliais em regiões afetadas do intestino pela doença de Crohn, uma doença inflamatória crônica que pode envolver todo o trato gastrointestinal.

As células de Paneth e outras células epiteliais do intestino também secretam uma lectina do tipo C chamada proteína  $\gamma$  derivada de ilhas de regeneração III  $\gamma$  (REGIII $\gamma$ ), que bloqueia a colonização bacteriana na superfície epitelial. REGIII $\gamma$  e seu homólogo humano REGIII $\alpha$  ligam-se à peptidoglicano de bactérias Gram-positivas. A expressão de REGIII $\gamma$  por células epiteliais intestinais requer sinais de TLRs em resposta a organismos comensais, e sua produção é aumentada após colonização e infecção por patógenos.

***Os receptores do tipo Toll (TLRs) e receptores do tipo NOD citoplasmáticos (NLRs) expressos por células epiteliais intestinais promovem respostas imunes a patógenos invasores, mas também limitam respostas inflamatórias a***

**bactérias comensais.** Como discutido no [Capítulo 4](#), TLRs e NLRs são receptores celulares que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) produzidos por microrganismos e que geram sinais promotores de respostas inflamatórias e antivirais pelas células. A maior parte das bactérias do lúmen intestinal é não patogênica, se permanecerem retidas fora da barreira epitelial, ainda que possam expressar o mesmo conjunto de PAMPs expressos por bactérias patogênicas, tais como lipopolissacarídeos, peptidoglicanos, DNA CpG e flagelina. Como as respostas inflamatórias que envolvem as células epiteliais intestinais podem prejudicar a função de barreira e levar à invasão bacteriana e à inflamação patológica, não é de se surpreender que os mecanismos de controle rigorosos tenham se desenvolvido para limitar as respostas pró-inflamatórias induzidas por TLRs a bactérias comensais. Células epiteliais do intestino expressam uma grande variedade de TLRs, incluindo TLRs 2, 4, 5, 6, 7 e 9, com diferentes receptores expressos em distintas regiões do intestino. A ligação de alguns TLRs resulta em fosforilação e reorganização da zona *occludens* 1 e maior resistência das junções de oclusão entre as células epiteliais. A sinalização dos TLRs também aumenta a motilidade e proliferação do epitélio intestinal. Essas respostas funcionais à sinalização do TLR aumentam a função de barreira, mas não a inflamação. As respostas ao TLR no intestino também parecem ser reguladas por níveis de expressão ou expressão compartimentalizada somente em determinados locais ([Fig. 14-2](#)). Por exemplo, TLR5, que reconhece flagelinas de bactérias, é exclusivamente expresso na superfície basolateral de células epiteliais intestinais, acessível apenas às bactérias que invadiram e transpuseram a barreira. Similarmente, os receptores da família NLR para flagelinas (p. ex., NAIP e IPAF-1) são expressos no citoplasma de células epiteliais intestinais e ativarão as respostas inflamatórias somente quando bactérias patogênicas ou seus produtos tiverem acesso ao citoplasma. Também há evidências de que os reguladores da sinalização de TLR nas células epiteliais do intestino mantêm um limiar mais elevado para a ativação de respostas inflamatórias comparado às células epiteliais e células dendríticas em outros tecidos.



**FIGURA 14-2** Expressão de receptores de reconhecimento de padrões moleculares na mucosa intestinal.

Os receptores de reconhecimento de padrões moleculares que reconhecem a flagelina bacteriana são concentrados no citoplasma (NLR) ou na membrana basal (TLR5) de células epiteliais intestinais, mas não na membrana apical/luminal, e assim não reconhecem microrganismos do lúmen.

***Em indivíduos saudáveis, células dendríticas e macrófagos na lâmina própria do intestino inibem a inflamação e servem para manter a homeostase.***

Alguns macrófagos intestinais têm um fenótipo singular que os capacita fagocitar e eliminar microrganismos, mas ao mesmo tempo secretar citocinas anti-inflamatórias, tais como IL-10. Esse fenótipo é aparentemente induzido no ambiente mucoso local pelo fator de transformação de crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). A expressão de TLR4 em macrófagos e células dendríticas da lâmina própria é menor que em outros tecidos, e a expressão de genes inflamatórios nessas células é frequentemente inibida pelos produtos microbianos. Este pode ser um mecanismo desenvolvido para prevenir a inflamação deletéria em resposta a bactérias comensais e a produtos bacterianos que podem atravessar a barreira epitelial.

***Células linfoides inatas que produzem IL-17 e IL-22 são encontradas principalmente na mucosa intestinal e contribuem para a defesa imune contra***

**algumas bactérias, bem como para a função da barreira epitelial mucosa.** De acordo com o descrito nos [Capítulos 2 e 4](#), as células linfoides inatas não expressam TCRs, mas subpopulações dessas células se assemelham a subpopulações de células T auxiliares considerando as citocinas que secretam. As células linfoides inatas do grupo 3 secretam IL-17 e IL-22, similarmente às células TH17. Essas citocinas induzem aumento da função de barreira da mucosa intestinal por estimularem a produção de muco e defensinas e por aumentarem a função das junções de oclusão do epitélio. As citocinas também aumentam o transporte de IgA para o lúmen intestinal, que é um componente essencial da imunidade adaptativa no intestino, discutido posteriormente.

## Imunidade Adaptativa no Trato Gastrointestinal

O sistema imune adaptativo no trato gastrointestinal tem características que são distintas das funções imunes adaptativas em outros sistemas orgânicos.

- **A principal forma de imunidade adaptativa no intestino é a imunidade humoral direcionada aos microrganismos no lúmen**, que evita que organismos comensais e patógenos colonizem e invadam a barreira epitelial mucosa. Esta função é mediada pelos anticorpos IgA diméricos que são secretados para o lúmen do intestino ou, no caso de lactentes, a IgA que é secretada no colostro e no leite materno e ingerida pelo bebê. Quantidades significativas de anticorpos IgG e IgM também estão presentes no lúmen intestinal e contribuem para a imunidade humoral nesse local.
- **A resposta imune celular protetora dominante é mediada por células efectoras TH17**, que correspondem à maior parte da subpopulação de células T efectoras encontrada na mucosa intestinal.
- **O principal mecanismo para controle das respostas no intestino é a ativação das células T regulatórias (Treg)**. O sistema imune adaptativo no intestino deve suprimir continuamente as respostas imunes potenciais aos antígenos alimentares e antígenos de microrganismos comensais para prevenir reações inflamatórias que poderiam comprometer a barreira mucosa. Em nenhum outro local do corpo, existe um comprometimento do sistema imune tão extenso para manter a tolerância a antígenos estranhos. Algumas subpopulações de Treg são mais abundantes nos tecidos linfoides associados à mucosa (MALT) do que em outros órgãos linfoides.

Agora abordaremos as características especiais da imunidade adaptativa no sistema gastrointestinal, incluindo organização anatômica, apresentação de antígenos, *homing* e diferenciação de linfócitos, bem como a distribuição de anticorpos para o lúmen.

## Anatomia Funcional do Sistema Imune Adaptativo no Trato



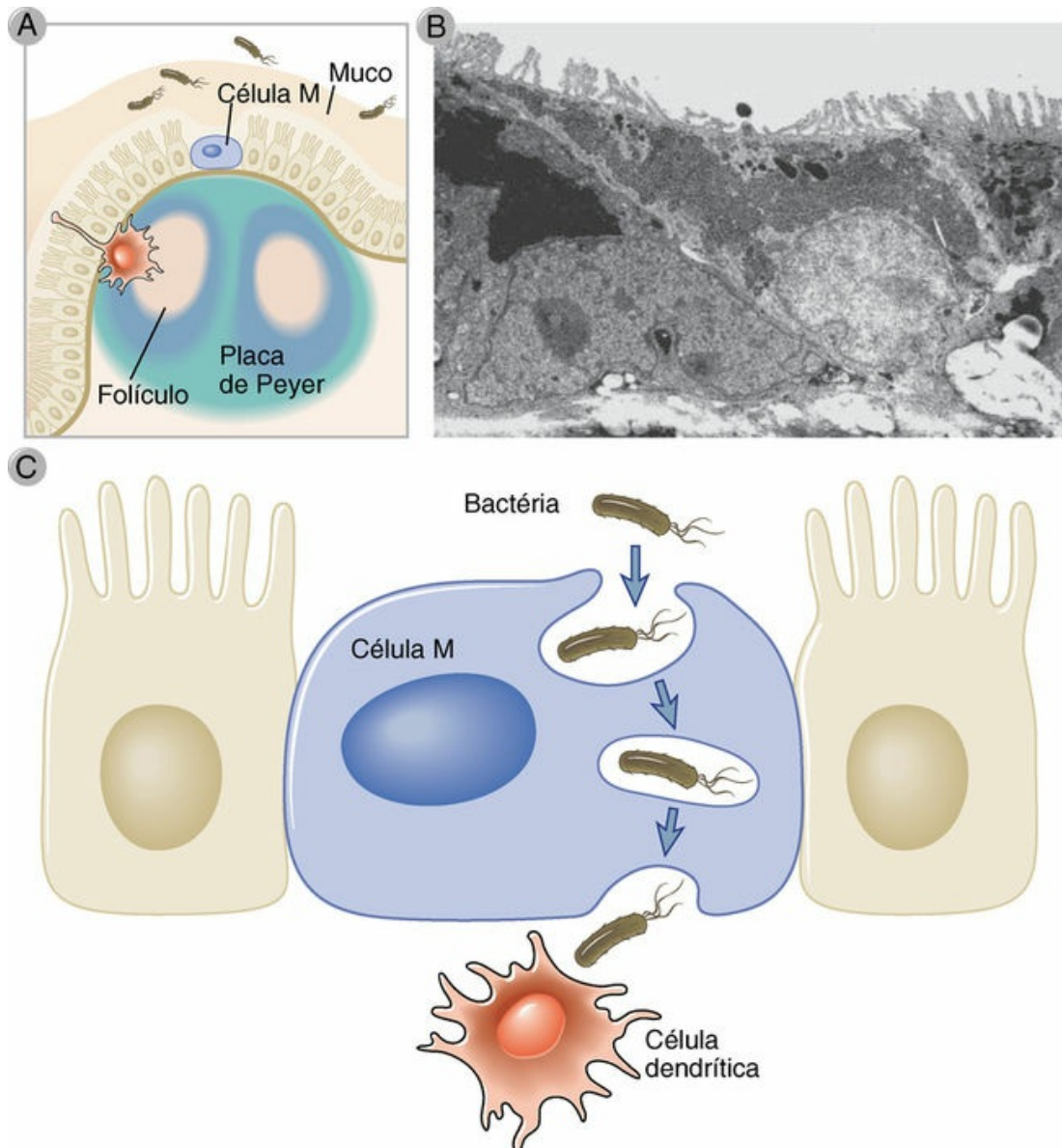
## Gastrintestinal

Nesta seção, discutiremos a organização anatômica das células no intestino e a relação dessa organização com o modo pela qual as respostas imunes adaptativas são iniciadas, realizadas e reguladas. Em termos gerais, a anatomia funcional do sistema imune adaptativo no intestino desenvolveu-se para lidar efetivamente com as condições enfatizadas anteriormente, ou seja, condições onde poucos microrganismos patogênicos podem ser encontrados em meio a numerosos organismos comensais, localizados fora de uma barreira epitelial com enorme área de superfície.

***As respostas imunes adaptativas no intestino são iniciadas em populações distintamente organizadas de linfócitos e células apresentadoras de antígenos intimamente associadas ao revestimento epitelial mucoso do intestino e nos linfonodos mesentéricos (Fig. 14-1).*** Linfócitos imaturos são expostos a antígenos nesses locais e diferenciados em células efetoras. Esses tecidos linfoides associados ao intestino que são adjacentes ao epitélio mucoso recebem, algumas vezes, a denominação GALT, que é a versão gastrintestinal do MALT, embora os termos sejam utilizados alternadamente. As estruturas do GALT mais proeminentes são as **placas de Peyer**, encontradas principalmente no íleo distal e em pequenos agregados dos folículos linfoides ou folículos isolados no apêndice e no cólon. As placas de Peyer têm a estrutura de folículos linfoides, com centros germinativos contendo linfócitos B, células T auxiliares foliculares, células dendríticas foliculares e macrófagos. Os centros germinativos nos folículos são circundados por células B foliculares imaturas que expressam IgM e IgD. Uma região denominada cúpula localizada entre os folículos e o epitélio de revestimento contém linfócitos B e T, células dendríticas e macrófagos. Entre os folículos, existem áreas parafoliculares ricas em células T, similares aos linfonodos, mas de modo geral, a proporção de células B para células T no GALT é aproximadamente cinco vezes maior que nos linfonodos. Também de maneira distinta dos linfonodos, as estruturas do GALT não são encapsuladas e existem rotas de apresentação de antígenos a essas estruturas que são independentes dos linfáticos. O desenvolvimento de ambas as estruturas linfoides especializadas, tais como placas de Peyer e folículos isolados na lâmina própria do intestino, requer células indutoras inatas do tecido linfóide, que são uma subpopulação de células linfoides inatas que expressam o fator de transcrição ROR $\gamma$ T e produzem a citocina linfotóxina- $\beta$  (LT $\beta$ ).

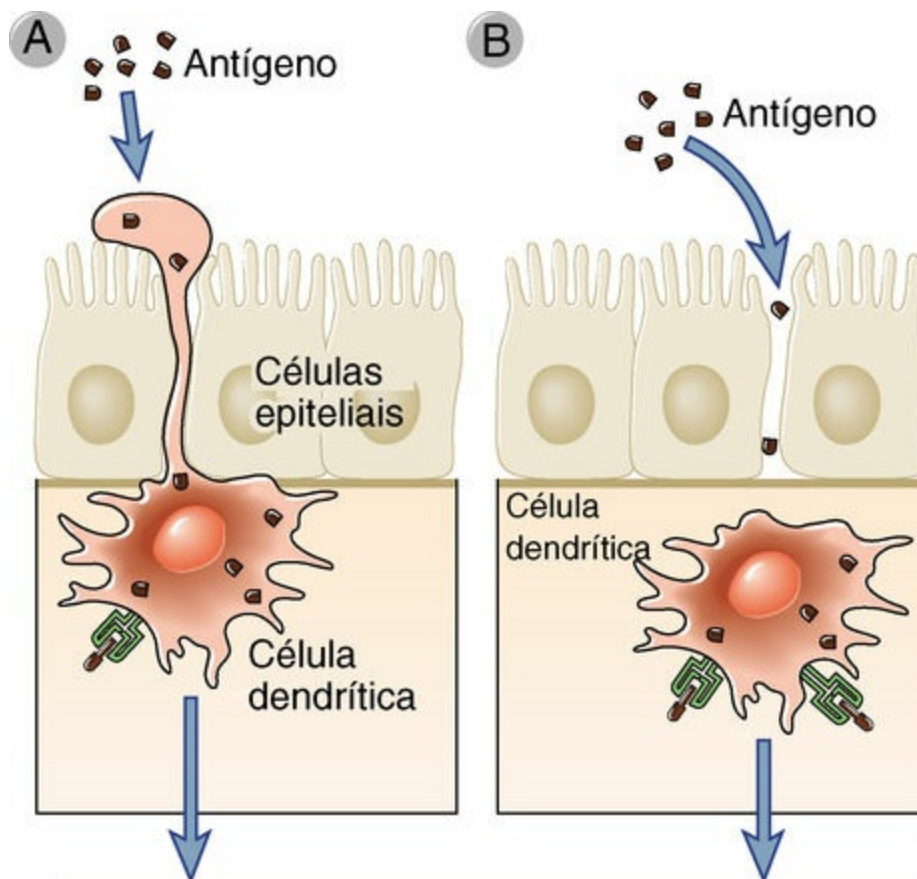
***A principal via de exposição do antígeno do lúmen para o GALT ocorre por meio das células especializadas no interior do epitélio intestinal, denominadas células de micropregas (M) (Fig. 14-3).*** As células M estão localizadas em regiões do epitélio intestinal, denominadas epitélio da cúpula ou associado ao folículo, que recobrem as cúpulas das placas de Peyer e outras estruturas do GALT. Embora as células M e as várias células epiteliais com função absorptiva provavelmente se originem de um precursor epitelial comum, as células M

se distinguem por uma fina camada de glicocálice, seus microvilos irregulares e relativamente curtos (denominados micropregas) e pelas grandes fenestrações em suas membranas, características que, em conjunto, aumentam a captura de antígenos do lúmen intestinal. A principal função das células M é o transporte transcelular de várias substâncias do lúmen do intestino através da barreira epitelial para as células apresentadoras de antígenos subjacentes. As células M apreendem o conteúdo luminal eficientemente e de diversas formas, incluindo a fagocitose, de modo similar aos macrófagos, e a endocitose de vesículas cobertas por clatrina ou de fase líquida. Estas vias possibilitam a captura de bactérias inteiras, vírus e produtos microbianos solúveis. De maneira distinta dos macrófagos ou células dendríticas, as células M não se empenham no processamento extenso das substâncias que captam, mas transportam as partículas e moléculas por meio de vesículas endocíticas através do citoplasma e as distribuem por exocitose da membrana basolateral para as células dendríticas das regiões das cúpulas das placas de Peyer subjacentes e dos folículos linfóides da lâmina própria. Embora as células M tenham um papel importante na imunidade protetora contra microrganismos luminiais, alguns microrganismos evoluíram de forma a tirarem vantagem das células M como rota de invasão pela barreira mucosa. O melhor exemplo descrito é o da *Salmonella typhimurium*, similar ao patógeno humano *S. typhi*, que causa febre tifoide. As células M expressam lectinas que permitem a ligação específica e a internalização dessas bactérias. As bactérias são citotóxicas para as células M, levando à formação de lacunas no epitélio que promovem a invasão de mais organismos. As lectinas de células M também podem ser utilizadas por certos vírus entéricos para romper a barreira epitelial.



**FIGURA 14-3** Células M no intestino delgado. As células M são células epiteliais intestinais especializadas encontradas no epitélio do intestino delgado que recobre as placas de Peyer e os folículos linfóides da lâmina própria **(A)**. Diferentemente das células epiteliais vizinhas com bordas de microvilosidades altas e funções primariamente absorptivas, as células M apresentam vilosidades mais curtas **(B)** e se encarregam em transportar microrganismos intactos ou moléculas através da barreira mucosa até os tecidos linfóides associados ao intestino, onde são entregues às células dendríticas **(C)**. (Micrografia eletrônica de Corr SC, Gahan CC, Hill C: M-cells: origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis, *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 52:2-12, 2008.)

***Antígenos microbianos no lúmen intestinal podem ser capturados por células dendríticas da lâmina própria que emitem projeções citoplasmáticas entre as células epiteliais intestinais (Fig. 14-4).*** As células dendríticas apresentadoras de antígenos são numerosas em certas regiões do intestino, particularmente no íleo terminal, onde emitem dendritos através das junções entre as células epiteliais adjacentes, aparentemente sem rompimento das junções de oclusão. Essas células dendríticas apresentadoras de antígenos podem promover respostas imunes adaptativas a patógenos no lúmen. Ao contrário das células M, essas células dendríticas são capazes de processar e apresentar antígenos proteicos a células T no interior do GALT. As células dendríticas residentes na lâmina própria também capturam antígenos que penetram entre as células.



**Apresentação de antígeno às células T em tecidos linfoides associados à mucosa ou a linfonodos mesentéricos**

**FIGURA 14-4** Reconhecimento de antígenos pelas células dendríticas intestinais.

As células dendríticas estão presentes na mucosa intestinal e reconhecem os antígenos que são apresentados às células T no GALT e nos linfonodos mesentéricos. **A**, Algumas células dendríticas estendem projeções citoplasmáticas entre as células epiteliais intestinais em direção ao lúmen para reconhecer antígenos. Os macrófagos também podem reconhecer antígenos luminais dessa maneira. **B**, Outras células dendríticas presentes na lâmina própria reconhecem os antígenos derivados dos conteúdos luminais e que passaram pela barreira epitelial.

**Os linfonodos mesentéricos coletam antígenos trazidos da linfa que drena os intestinos delgado e grosso e são locais de diferenciação de linfócitos efetores e regulatórios que retornam para a lâmina própria.** Existem 100 a 150 desses linfonodos localizados entre as camadas membranosas do mesentério. Os

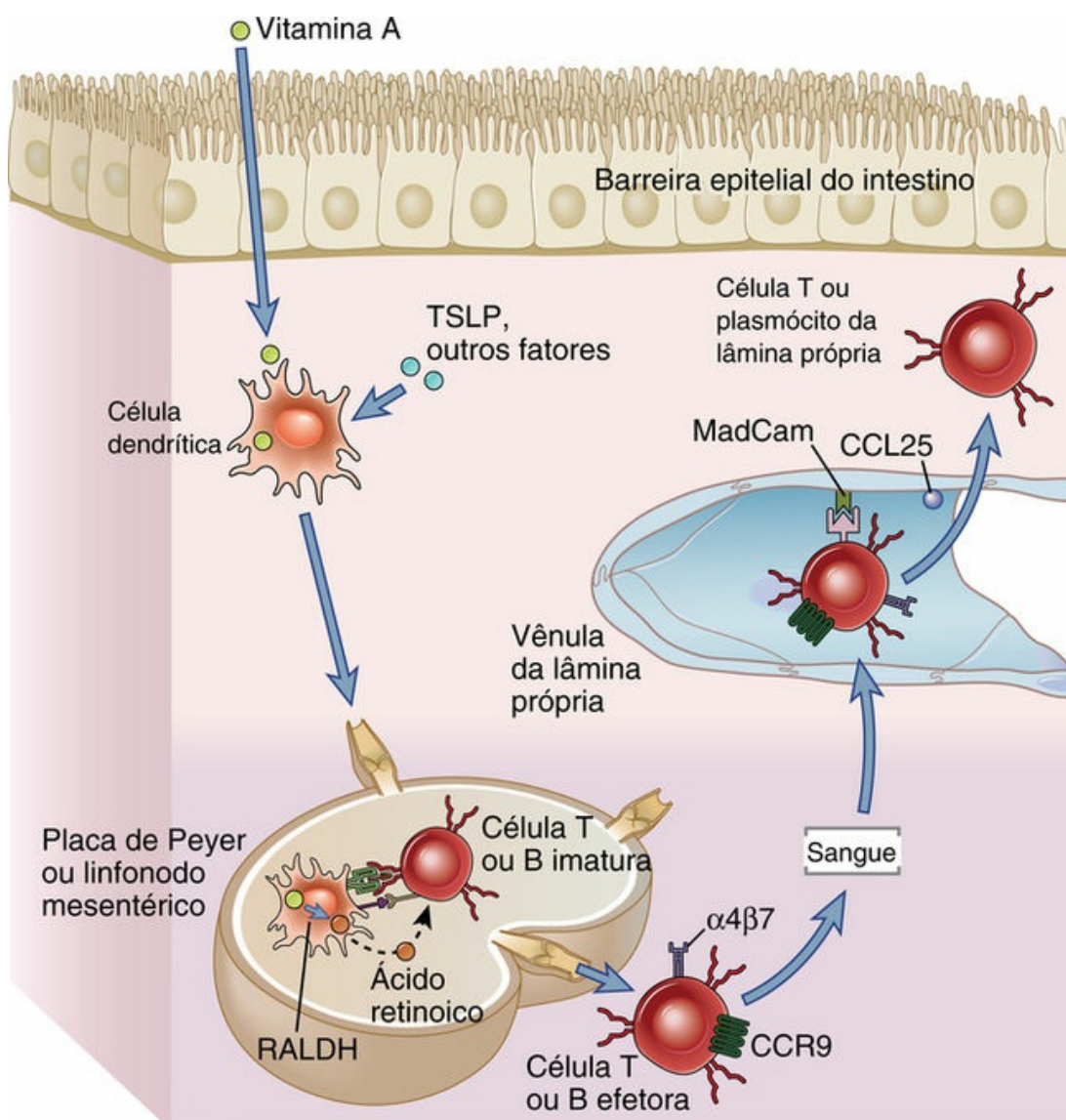
linfonodos mesentéricos têm algumas funções iguais às do GALT, incluindo diferenciação de células B em plasmócitos secretores de IgA e desenvolvimento de células T efetoras, bem como de células T regulatórias. As células que se diferenciam nos linfonodos mesentéricos em resposta à invasão da parede intestinal por patógenos ou organismos comensais frequentemente residem na lâmina própria (discutido posteriormente).

**As tonsilas linguais e palatinas são estruturas linfoides não encapsuladas situadas abaixo da mucosa epitelial escamosa estratificada na base da língua e da orofaringe, respectivamente, e consistem em locais de respostas imunes a microrganismos na cavidade oral.** Essas tonsilas, juntamente às tonsilas nasofaríngeas, formam um anel de tecidos linfoides conhecidos como anel de Waldeyer. A massa de tecido tonsilar é composta de folículos linfoides, geralmente com centros germinativos proeminentes. Existem múltiplas invaginações estreitas e profundas do epitélio escamoso da superfície, denominadas criptas, que crescem para o interior do tecido folicular. Embora essas tonsilas sejam frequentemente consideradas parte do GALT, são distintas pelo fato de serem separadas da cavidade oral, rica em microrganismos, por múltiplas camadas de células epiteliais escamosas, em vez de uma única camada de células epiteliais como acontece no intestino. O mecanismo de apresentação de antígeno de microrganismos da cavidade oral não está bem descrito; as criptas são os possíveis locais nos quais isso ocorre. Entretanto, as tonsilas linguais e palatinas respondem a infecções da mucosa epitelial por meio de aumento do seu tamanho e vigorosa produção de anticorpos, principalmente IgA. As infecções típicas que estão associadas ao aumento das tonsilas, geralmente em crianças, são causadas por estreptococos e pelo vírus Epstein-Barr.

**Os linfócitos efetores que são gerados no GALT e nos linfonodos mesentéricos possuem propriedades seletivas de homing intestinal, dependentes de integrinas e de receptores de quimiocinas, fazendo-os circular do sangue de volta para a lâmina própria do intestino (Fig. 14-5).** As funções do sistema gastrointestinal dependem de um grande número de células T e de células secretoras de anticorpos que são capazes de recircular, retornando para a lâmina própria, e responder rapidamente aos patógenos. As células T efetoras e células B secretoras de IgA adquirem o fenótipo de *homing* intestinal por causa de mudanças nas moléculas de adesão e receptores de quimiocinas que são adquiridas durante a ativação de linfócitos no GALT ou linfonodos drenantes. A principal integrina de linfócitos T e B para o *homing* intestinal é  $\alpha 4\beta 7$ , que se liga à proteína MadCAM-1 expressa nas células endoteliais venulares pós-capilares na lâmina própria do intestino. O *homing* intestinal também requer o receptor de quimiocinas CCR9 em linfócitos B e T e seu ligante CCL25, que é produzido por células epiteliais intestinais. A expressão combinada de MadCAM-1 e CCL25 é restrita ao intestino. O *homing* de células produtoras de IgA para o cólon também requer expressão de CCR10 e a quimiocina CCL28, mas esta não é uma via específica do



intestino, pois o CCL28 é expresso por células epiteliais em outros tecidos mucosos, tais como pulmão e trato geniturinário. O bloqueio realizado com anticorpos monoclonais que são específicos para a cadeia  $\alpha 4$  de  $\alpha \beta 7$  é utilizado para tratar pacientes com doença inflamatória intestinal com base no conhecimento que as células T efetoras usam essa integrina para entrar nos tecidos intestinais nessa doença. (Discutiremos a doença inflamatória intestinal posteriormente neste capítulo.)



**FIGURA 14-5** Propriedades de *homing* dos linfócitos intestinais.

As propriedades de *homing* intestinal dos linfócitos efetores são determinadas nos tecidos linfoides, onde sofrem diferenciação a partir de precursores imaturos. As células dendríticas dos tecidos linfoides associados ao intestino, incluindo as placas de Peyer e os linfonodos mesentéricos,

são induzidas pela linfopoetina estromal tímica (TSLP) e por outros fatores a expressarem retinaldeído desidrogenase (RALDH), que converte a vitamina A da dieta em ácido retinoico. Quando as células T ou B imaturas são ativadas pelo antígeno no GALT, são expostas ao ácido retinoico produzido por células dendríticas e isso induz a expressão do receptor de quimiocina CCR9 e da integrina  $\alpha_4 \beta_7$  em plasmócitos e células T efetoras que surgiram a partir dos linfócitos imaturos. Os linfócitos efetores entram na circulação e retornam para a lâmina própria do intestino, uma vez que a quimiocina CCL25 (o ligante para CCR9) e a molécula de adesão MadCAM (o ligante para  $\alpha_4 \beta_7$ ) são expressas nas células endoteliais venulares da lâmina própria.

***O fenótipo de homing intestinal de células B produtoras de IgA e de células T efetoras é determinado por células dendríticas através da ação do ácido retinoico durante o processo de ativação de células T (Fig. 14-5).*** Além de promover a diferenciação de células T imaturas em células T efetoras e a diferenciação de células B imaturas em células secretoras de anticorpos IgA, conforme discutido a seguir, as células dendríticas no GALT e nos linfonodos mesentéricos também fornecem sinais que conduzem a expressão da integrina  $\alpha_4 \beta_7$  e de CCR9 nessas células efetoras. A indução dessas moléculas que determinam o *homing* depende da secreção de ácido retinoico por células dendríticas, embora os mecanismos não sejam bem compreendidos. A indução seletiva de células *homing* intestinais nos tecidos linfoides do intestino é explicada pelo fato de que os tecidos linfoides intestinais são expostos à vitamina A da dieta e as células dendríticas no GALT e linfonodos mesentéricos expressam retinol desidrogenases (RALDH), enzimas necessárias para a síntese de ácido retinoico a partir da vitamina A, enquanto as células dendríticas em outros tecidos não podem expressá-las. Além disso, as células epiteliais intestinais também expressam RALDH e podem sintetizar o ácido retinoico. Consistente com essas propriedades do sistema imune intestinal, sabe-se que a vacina oral não apenas favorece a expansão de células B produtoras de IgA, comparada à imunização intradérmica, mas as vacinas orais também induzem maiores níveis de  $\alpha_4 \beta_7$  em células B.

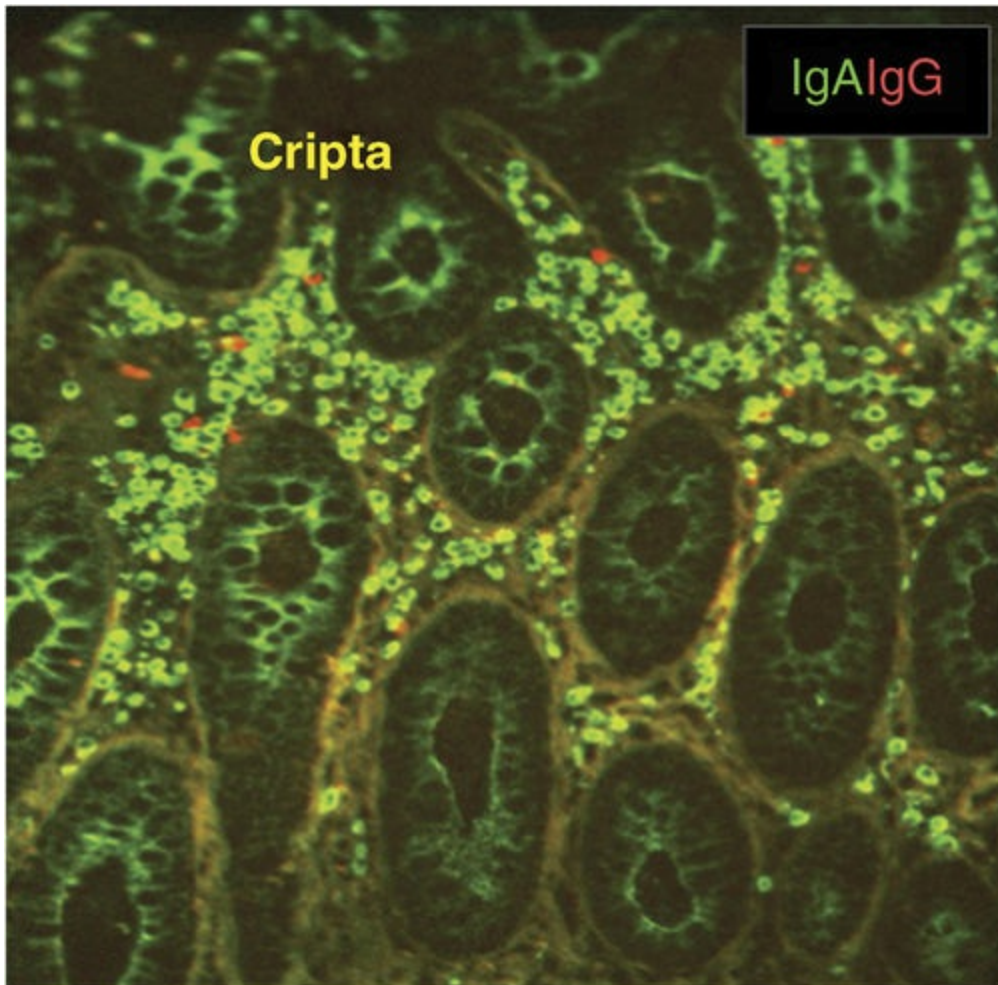
***A lâmina própria contém linfócitos efetores, células dendríticas e macrófagos distribuídos difusamente e é o local da fase efetora das respostas imunes adaptativas gastrintestinais.*** Como discutido anteriormente, os linfócitos efetores gerados nas placas de Peyer, em outras estruturas do GALT e nos linfonodos mesentéricos retornam para a lâmina própria. Nesse local, as células T podem responder a patógenos invasores, ao passo que as células B podem secretar anticorpos que são transportados para o lúmen e neutralizar patógenos antes que

eles invadam.

## **Imunidade Humoral no Trato Gastrointestinal**

***A principal função da imunidade humoral no trato gastrointestinal é neutralizar os microrganismos luminiais, e essa função é mediada principalmente pela IgA produzida no GALT e transportada através do epitélio mucoso para o lúmen.*** Quantidades pequenas, mas significativas de IgG e IgM também são secretadas para o lúmen intestinal. Dentro do lúmen, anticorpos IgA, IgG e IgM se ligam a microrganismos e toxinas e os neutralizam, prevenindo sua ligação a receptores em células do hospedeiro. Essa forma de imunidade humoral é algumas vezes denominada imunidade secretória e é particularmente desenvolvida de forma proeminente em mamíferos. As respostas de anticorpos aos antígenos adquiridos pela ingestão são caracteristicamente dominadas por IgA e a imunidade secretória é o mecanismo de proteção induzido nas vacinas orais, tais como a vacina contra pólio. Diversas propriedades singulares do ambiente intestinal resultam no desenvolvimento seletivo de células secretoras de IgA que permanecem no trato gastrointestinal ou, se entrarem na circulação, retornam para a lâmina própria do intestino. O resultado é que as células secretoras de IgA se acumulam eficientemente em regiões próximas ao epitélio que fará a captura da IgA secretada e a transportará para o lúmen.

***A IgA é produzida em maiores quantidades do que qualquer outro isótipo de anticorpo.*** Estima-se que um adulto normal de 70 kg secrete aproximadamente 2 g de IgA por dia, o que corresponde a 60% a 70% da produção total de anticorpos. Essa enorme produção de IgA deve-se ao grande número de plasmócitos produtores de IgA no GALT, que, de acordo com algumas, estimativas, representa em torno de 80% de todos os plasmócitos produtores de anticorpos no corpo (Fig. 14-6). Como a síntese de IgA ocorre principalmente no tecido linfoide de mucosas e grande parte da IgA produzida localmente é eficientemente transportada para o lúmen da mucosa, esse isótipo constitui menos de um quarto do anticorpo no plasma e é o menor componente da imunidade humoral sistêmica comparado com IgG e IgM.

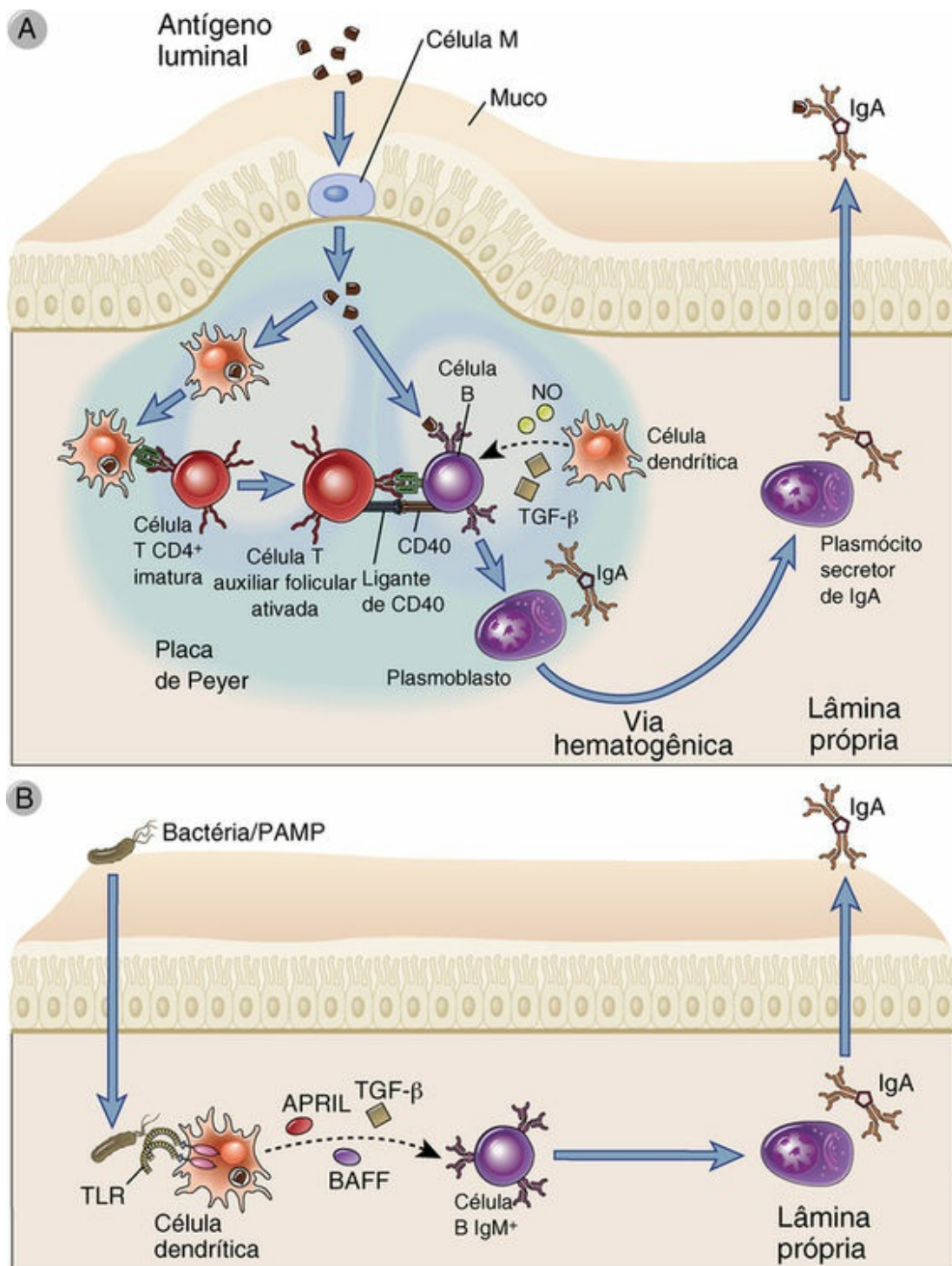


**FIGURA 14-6** Plasmócitos secretores de IgA no intestino. A abundância de plasmócitos produtores de IgA (verde) na mucosa do cólon comparados às células secretoras de IgG (vermelho) é demonstrada pela marcação imunofluorescente. A IgA que está sendo secretada pode ser vista em verde nas células epiteliais da cripta. (De Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *The Journal of Pediatrics* 156[Suppl 1]:S8-S16, 2010.)

**A produção dominante de IgA por plasmócitos intestinais é atribuída, em parte, à indução seletiva da troca de classe para o isótipo IgA em células B no GALT e nos linfonodos mesentéricos.** A troca de classe para IgA no intestino ocorre por mecanismos T-dependentes e T-independentes (Fig. 14-7). Em ambos os casos, as moléculas que direcionam a troca para IgA incluem uma combinação de citocinas solúveis e proteínas de membrana em outros tipos celulares que se ligam a receptores de sinalização em células B (Cap. 12). TGF- $\beta$ , a principal citocina requerida para a troca de isótipo para IgA no intestino, assim como em outros compartimentos da mucosa, é produzida por células epiteliais intestinais e por células dendríticas no GALT. Além disso, as células dendríticas do GALT expressam a

integrina  $\alpha_V \beta_8$ , que é necessária para a ativação de TGF- $\beta$ . Várias moléculas que promovem a mudança de classe para IgA são expressas por células epiteliais intestinais ou células dendríticas do GALT em resposta à sinalização de TLR. As bactérias comensais no lúmen intestinal produzem ligantes que se ligam aos TLRs apropriados. Por exemplo, a troca para IgA e IgG independente de células T requer a ligação da citocina APRIL da família do TNF ao receptor TACI em células B; e as células epiteliais intestinais produzem APRIL em resposta a ligantes TLR produzidos por bactérias comensais. As células epiteliais intestinais também produzem linfopoetina estromal tímica (TSLP) em resposta à sinalização de TLR, e TSLP estimula a produção adicional de APRIL por células dendríticas do GALT. Os ligantes de TLR produzidos por bactérias comensais no intestino também aumentam a expressão da óxido nítrico sintase induzida em células dendríticas, levando à produção de óxido nítrico. Acredita-se que o óxido nítrico promova a troca de classe para IgA de modo dependente e independente de células T, em parte porque aumenta a sinalização de TGF- $\beta$  em células B e também a síntese de APRIL por células dendríticas do GALT. Finalmente, a produção de IgA por células B intestinais é pelo menos parcialmente dependente do metabólito da vitamina A, o ácido retinoico *all-trans*, que é produzido por células epiteliais intestinais e células dendríticas do GALT, embora os mecanismos pelos quais o ácido retinoico promova a produção de IgA ainda sejam desconhecidos. O ácido retinoico também é importante no *homing* de células B para o intestino, como discutido anteriormente. Existe uma abundância de muitas dessas moléculas no interior do GALT e nos linfonodos mesentéricos comparada aos tecidos linfoides não mucosos, tais como baço e linfonodos drenantes da pele, o que certamente influencia na propensão que células B do GALT possuem em fazer a troca de classe para a produção de IgA.





**FIGURA 14-7** Troca de classe para IgA no intestino.

A troca de classe para IgA no intestino ocorre por mecanismos dependentes e independentes de células T. **A**, Na mudança de classe para IgA dependente de células T, as células dendríticas na cúpula subepitelial das placas de Peyer capturam os antígenos bacterianos entregues pelas células M e migram para a zona interfolicular, onde os apresentam para as células T CD4<sup>+</sup> imaturas. As células T ativadas



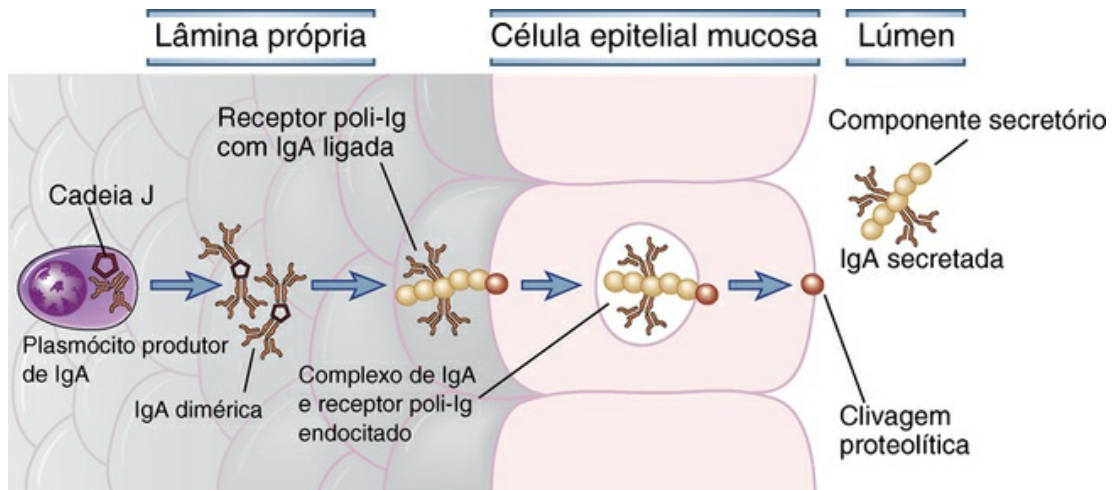
diferenciam-se em células T auxiliares com um fenótipo de célula T auxiliar folicular e estabelecem interações cognatas com células B  $IgM^+ IgD^+$  apresentadoras de antígeno que também capturaram e processaram o antígeno bacteriano. A troca de classe da célula B para IgA é estimulada pela ligação do CD40L na célula T ao CD40 na célula B, juntamente à ação do TGF- $\beta$ . Esta via dependente de células T produz anticorpos IgA de alta afinidade. **B**, A troca de classe para IgA independente de células T envolve a ativação de células B  $IgM^+ IgD^+$  por células dendríticas, incluindo células B-1. As células dendríticas ativadas pelo ligante de TLR secretam citocinas que induzem a troca de classe para IgA, incluindo BAFF, APRIL e TGF- $\beta$ . Esta via independente de células T produz anticorpos IgA de afinidade relativamente baixa a bactérias intestinais. Os mecanismos moleculares da troca de classe estão descritos no [Capítulo 12](#).

***O alto nível da produção de IgA pelos plasmócitos intestinais é aumentado por propriedades seletivas de homing intestinal das células produtoras de IgA que se originam no GALT e nos linfonodos mesentéricos (Fig. 14-5).***

Algumas das moléculas de IgA que são transportadas através do epitélio intestinal podem ser produzidas por plasmócitos que se diferenciaram e permaneceram no interior dos folículos subjacentes ao GALT. No entanto, os plasmócitos secretores de IgA estão amplamente dispersos na lâmina própria do trato gastrointestinal, não apenas nos folículos linfoides. Como discutido anteriormente, as células B ativadas que sofrem troca de isótipo para células produtoras de IgA no GALT e nos linfonodos mesentéricos podem entrar na circulação sistêmica e, então, seletivamente retornar para a lâmina própria intestinal, onde podem residir como plasmócitos.

***A IgA secretada é transportada através das células epiteliais para o lúmen intestinal por um receptor Fc específico para IgA/IgM, denominado receptor poli-Ig (Fig. 14-8).*** A IgA produzida pelos plasmócitos na lâmina própria está na forma de um dímero mantido unido pela cadeia J produzida coordenadamente, que é covalentemente ligada por pontes dissulfeto a regiões Fc das cadeias pesadas  $\alpha$  de duas moléculas de IgA. Os plasmócitos da mucosa produzem cadeias J em grande quantidade, mais do que os plasmócitos em tecidos não mucosos, e o IgA sérico geralmente é um monômero que não possui a cadeia J. Da lâmina própria, a IgA dimérica deve ser transportada através do epitélio para o interior do lúmen e essa função é mediada pelo **receptor poli-Ig**. A IgM produzida pelos plasmócitos da lâmina própria é um polímero (pentâmero) associado covalentemente à cadeia J, e o receptor poli-Ig também transporta a IgM para as secreções intestinais. É por esse motivo que o receptor é denominado receptor poli-Ig. Esse receptor é sintetizado

pelas células epiteliais da mucosa e sua produção pode ser induzida por estímulos inflamatórios, incluindo IL-17. É expresso nas superfícies basais e laterais das células epiteliais. É uma glicoproteína de membrana integral com cinco domínios extracelulares homólogos aos domínios da Ig e, portanto, um membro da superfamília das Ig.



**FIGURA 14-8** Transporte de IgA através das células epiteliais.

A IgA é produzida por plasmócitos na lâmina própria do tecido mucoso e liga-se ao receptor poli-Ig na base de uma célula epitelial. O complexo é transportado através da célula epitelial, e a IgA ligada é liberada para o lúmen por clivagem proteolítica. O processo de transporte através da célula, nesse caso da superfície basolateral para a luminal, é denominado transcitose.

A IgA dimérica secretada e a IgM pentamérica ligam-se ao receptor poli-Ig nas células epiteliais da mucosa por meio de um domínio da cadeia J (Fig. 14-8). O complexo do receptor de Ig é endocitado para o interior da célula epitelial e, contrariamente aos outros endossomos que tipicamente trafegam para os lisossomos, as vesículas contendo o receptor poli-Ig são direcionadas para a membrana plasmática apical (luminal) da célula epitelial, fundindo-se com ela. Este processo é denominado transcitose. Na superfície da célula, o receptor poli-Ig é proteoliticamente clivado, seus domínios transmembranas e citoplasmáticos são mantidos ligados à célula epitelial e o domínio extracelular do receptor que carrega a molécula de IgA é liberado para o lúmen intestinal. A parte clivada do receptor poli-Ig, denominada componente secretório, permanece associada à IgA dimérica no lúmen. Acredita-se que o componente secretório ligado protege a IgA (e IgM) da proteólise por enzimas presentes no lúmen intestinal e esses anticorpos são, dessa maneira,

capazes de cumprir suas funções de neutralização de microrganismos e toxinas no lúmen. O receptor poli-Ig também é responsável pela secreção de IgA na bile, no leite, no escarro, na saliva e no suor.

A IgG está presente nas secreções intestinais em níveis iguais à IgM, mas menores que a IgA. Em algumas secreções da mucosa (p. ex., reto, trato geniturinário e vias aéreas), os níveis de IgG são altos e frequentemente excedem os de IgA. O transporte da IgG para as secreções mucosas é mediado por outro receptor de transcitose, o receptor Fc neonatal (FcRn), que foi abordado nos [Capítulos 5 e 13](#). Em contraste ao receptor poli-Ig, que transporta IgA unidirecionalmente (do lado basal para o lado apical/luminal), o FcRn pode mediar o transporte bidirecional de IgG. Portanto, o transporte de IgG mediado por FcRn provavelmente contribui para a imunidade humoral contra patógenos intestinais luminiais e, também, para a captura de microrganismos recobertos por anticorpos e outros antígenos do lúmen para o GALT.

***A IgA produzida nos tecidos linfoides da glândula mamária é secretada para o colostro e para o leite materno maduro através da transcitose mediada pelo receptor poli-Ig e medeia a imunidade passiva na mucosa em lactentes.*** A

glândula mamária lactante humana contém um grande número de plasmócitos secretores de IgA, e o epitélio da glândula mamária pode estocar elevadas quantidades de IgA secretória. Os plasmócitos na mama originam-se de vários tecidos linfoides associados à mucosa. Essas células residem na mama porque a maior parte dos plasmoblastos de IgA expressa CCR10, independentemente dos tecidos linfoides onde foram gerados, e o tecido mamário expressa CCL28, a quimiocina que se liga ao CCR10. Portanto, durante a amamentação, uma criança ingere uma quantidade significativa de IgA materna, que fornece uma ampla proteção polimicrobiana ao seu intestino. Quantidades moderadas de IgG e IgM também são secretadas no leite materno e contribuem para a imunidade passiva de crianças lactentes. Muitos estudos epidemiológicos demonstraram que a amamentação reduz significativamente o risco de doença diarreica e sepse, em particular nos países em desenvolvimento, sendo assim correlacionada à presença de IgA secretória no leite materno específico para espécies enterotóxicas de bactérias, incluindo *Escherichia coli* e *Campylobacter*.

## **Imunidade Mediada por Células T no Trato Gastrointestinal**

As células T têm papel importante na proteção contra patógenos microbianos no sistema gastrointestinal e na regulação das respostas a antígenos alimentares e de organismos comensais. Além disso, as células T contribuem para as doenças inflamatórias do trato gastrointestinal. Como em outras partes do corpo, a imunidade mediada por células T no intestino envolve diferentes subpopulações de células T e é influenciada de diversas formas por células dendríticas apresentadoras de antígenos, que também pertencem a diferentes subpopulações. Nesta seção, discutiremos importantes aspectos das funções de células T e de células dendríticas no intestino.

**As células T são encontradas no interior da camada epitelial do intestino, espalhadas por toda a lâmina própria e submucosa, nas placas de Peyer e em outras coleções organizadas de folículos.** Em humanos, a maioria das células T

intraepiteliais corresponde a células CD8<sup>+</sup>. Em camundongos, aproximadamente 50% dos linfócitos intraepiteliais expressam a forma  $\gamma\delta$  do TCR, similares aos linfócitos intraepiteliais na pele. Em humanos, apenas cerca de 10% dos linfócitos intraepiteliais são células  $\gamma\delta$ , mas essa proporção ainda é maior do que as proporções de células  $\gamma\delta$  encontradas entre as células T em outros tecidos. Ambos os linfócitos intraepiteliais que expressam TCR,  $\alpha\beta$  e  $\gamma\delta$ , apresentam diversidade limitada de receptores antigênicos. Esses achados sustentam a ideia de que os linfócitos intraepiteliais da mucosa têm uma diversidade limitada de especificidade, distinta daquela da maior parte das células T, e esse repertório restrito pode ter se desenvolvido para reconhecer microrganismos que são comumente encontrados na superfície epitelial.

As células T da lâmina própria em sua maioria são CD4<sup>+</sup> e a maior parte tem o fenótipo de células T efetoras ativadas ou de memória, sendo a última com fenótipo efetor de memória (Cap. 9). Lembre-se de que essas células T efetoras e de memória da lâmina própria são geradas a partir precursores imaturos no GALT e nos linfonodos mesentéricos, entram na circulação e preferencialmente retornam para a lâmina própria (Fig. 14-5). As células T no interior das placas de Peyer e em outros folículos adjacentes ao epitélio intestinal são em grande parte células T auxiliares CD4<sup>+</sup>, incluindo células T auxiliares foliculares e células T regulatórias.

**As células dendríticas e os macrófagos são abundantes no sistema imune gastrointestinal e podem participar da estimulação das respostas protetoras de células T efetoras ou da indução de respostas das células T regulatórias que suprimem a imunidade aos antígenos ingeridos e aos organismos comensais.**

No intestino e em outros tecidos mucosos, algumas células dendríticas e macrófagos projetam os dendritos entre as células epiteliais e entram em contato com o conteúdo luminal, como discutido anteriormente. As células dendríticas que capturaram antígenos migram, através da linfa, para os linfonodos mesentéricos, onde apresentam antígenos proteicos processados a células T imaturas e induzem a diferenciação dessas células T em células efetoras produtoras de IFN- $\gamma$ , IL-17 ou IL-4, ou em células Treg FoxP3<sup>+</sup>. Os macrófagos do tecido intestinal também podem promover a expansão local de células T regulatórias. A capacidade das células dendríticas e de macrófagos para direcionar a indução ou expansão de células T regulatórias é dependente da capacidade para produzir TGF- $\beta$  e ácido retinoico durante a apresentação de antígeno às células T.

**No trato gastrointestinal, diferentes subpopulações de células T CD4<sup>+</sup> efetoras são induzidas e protegem contra diferentes espécies microbianas.** No Capítulo 10, introduzimos o conceito de que a subpopulação de células T auxiliares que secreta diferentes citocinas é especializada para proteção contra diferentes tipos

de microrganismos. Esse conceito fundamental é altamente relevante para o sistema imune das mucosas. A microflora bacteriana comensal do lúmen intestinal exerce profunda influência nos fenótipos de células T, mesmo durante a homeostasia.

- **Células T<sub>H</sub>17.** Estudos em camundongos demonstraram que certas classes de bactérias ou, em alguns casos, espécies individuais de bactérias podem mudar o padrão dominante de produção das citocinas de células T. Por exemplo, a lâmina própria do intestino delgado em camundongos saudáveis é particularmente rica em células produtoras de IL-17, ao passo que no cólon não; e a presença de células T<sub>H</sub>17 depende da colonização do intestino por um determinado filo de bactérias (bactérias filamentosas segmentadas) no período pós-natal. Essa presença regular de células T<sub>H</sub>17 é necessária para a proteção contra espécies patogênicas de bactérias (p. ex., *Citrobacter rodentium*). Outro exemplo de alterações induzidas pela microbiota bacteriana sobre os fenótipos das células T no intestino é o fato de que a colonização do intestino com cepas de *Bacteroides fragilis* que expressam ou não expressam polissacarídeo A induz células T produtoras de IL-17 ou células T regulatórias produtoras de IL-10, respectivamente. As células T<sub>H</sub>17 parecem exercer um papel especial na manutenção da função de barreira epitelial na mucosa em decorrência das ações de duas citocinas específicas produzidas, a IL-17 e a IL-22, que, como discutido anteriormente, também são produtos de células linfóides inatas no intestino. Os receptores para ambas as citocinas são expressos em células epiteliais intestinais e ambas induzem a expressão de proteínas importantes para a função de barreira, tais como mucinas e β-defensinas, que protegem as células epiteliais contra danos induzidos pelos microrganismos. Os mecanismos responsáveis por essas alterações induzidas pelos microrganismos nas respostas das células T não são bem compreendidos, mas provavelmente envolvem sinais induzidos pelos microrganismos tanto em células epiteliais do intestino quanto em células dendríticas. Esses sinais alteram o fenótipo e o perfil de secreção de citocinas pelas células dendríticas, que, por sua vez, influenciam a diferenciação da subpopulação de células T, quando as células dendríticas apresentam antígeno a células T imaturas específicas para antígenos microbianos.
- **Células T<sub>H</sub>2.** As infecções por helmintos intestinais induzem fortes respostas T<sub>H</sub>2, que são efetivas na eliminação de vermes, porque as citocinas T<sub>H</sub>2, IL-4 e IL-13, cooperam no aumento das secreções de fluidos e de muco, induzindo a contração do músculo liso e a motilidade intestinal.

## Regulação da Imunidade no Trato Gastrointestinal pelas Células T Regulatórias e Citocinas

**As células T regulatórias são abundantes no GALT e previnem as reações**

***inflamatórias contra microrganismos comensais no intestino.*** Estima-se que a proporção de Treg FoxP3<sup>+</sup> entre as células CD4<sup>+</sup> é aproximadamente 2 vezes maior na lâmina própria do que em outros tecidos linfoides periféricos. Muitas dessas células Treg provavelmente são induzidas no intestino em resposta a antígenos encontrados localmente e, portanto, pertencem à categoria de Treg periférica (Cap. 15). Os fatores que contribuem para a geração dessas Treg incluem células dendríticas CD103<sup>+</sup>, produção local de ácido retinoico (que promove expressão de FoxP3) e produção local de TGF-β (que também promove a expressão de FoxP3 e inibe a geração de células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2). Como discutido no Capítulo 15, acredita-se que as Treg suprimam as respostas imunes por vários mecanismos. Desses, o mecanismo dominante no intestino parece ser a produção da citocina imunossupressora IL-10, conforme abordado a seguir.

***Várias citocinas, incluindo TGF-β, IL-10 e IL-2, parecem ter papéis cruciais na manutenção da homeostase no sistema imune do intestino e deficiências nessas citocinas ou em seus receptores resultam na inflamação intestinal patológica.*** Muito do conhecimento da regulação mediada por citocinas no intestino provém de estudos com camundongos deficientes para os genes de citocinas ou de receptores de citocinas. Uma característica principal do fenótipo de camundongos deficientes em TGF-β, IL-10, receptor de IL-10, IL-2 e receptor de IL-2 é a inflamação descontrolada no intestino. Mutações nos genes que codificam IL-10 e o receptor de IL-10 também estão associadas à colite grave em crianças, confirmando a importância da IL-10 em prevenir a inflamação intestinal patológica em humanos. A inflamação descontrolada observada no intestino na ausência dessas citocinas ou de seus receptores é mais provavelmente causada por respostas imunes inatas e adaptativas à flora comensal do intestino, uma vez que a inflamação não ocorre em camundongos criados em condições livres de patógenos.

As fontes celulares das citocinas e as células-alvo relevantes que expressam os receptores essenciais para a prevenção da inflamação intestinal não são completamente conhecidas. Os modelos murinos nos quais as citocinas, os receptores de citocinas e a sinalização desses receptores são geneticamente depletados somente em alguns tipos celulares específicos têm sido utilizados para resolver questões acerca de quais tipos celulares são importantes. No caso da regulação da inflamação intestinal dependente de TGF-β e IL-10, evidências indicam que Treg seja uma fonte importante dessas citocinas. Por exemplo, a deleção seletiva do gene da *IL-10* em células FoxP3<sup>+</sup> conduz à colite grave, mas não a outras manifestações da doença inflamatória, consistente com o papel essencial de IL-10 produzida por Treg na manutenção da homeostase no trato gastrointestinal. É possível que macrófagos produtores de IL-10 sejam outra importante fonte dessa citocina. As células-alvo que expressam os receptores e são reguladas por TGF-β e IL-10 provavelmente incluem células dendríticas, células T efectoras e células efectoras inatas,



tais como macrófagos e células epiteliais. A doença inflamatória intestinal em camundongos deficientes em IL-2 ou seu receptor é uma consequência dos defeitos no desenvolvimento e função de Treg, que necessitam de IL-2 (Cap. 15).

## Tolerância Oral e Vacinas Oraís

**Tolerância oral é a tolerância imune adaptativa sistêmica aos antígenos que são ingeridos ou administrados oralmente.** A tolerância oral foi mais claramente demonstrada em modelos experimentais com roedores. Camundongos alimentados com altas doses de um antígeno proteico podem apresentar, subseqüentemente, prejuízo nas respostas humorais e mediadas por células T ao mesmo antígeno administrado por outras vias, tais como subcutânea. Um fenômeno similar pode ser demonstrado quando antígenos são administrados por via intranasal para a mucosa respiratória, sendo o termo geral, tolerância das mucosas, mais utilizado para descrever a tolerância induzida tanto por administração do antígeno oral ou nasal. Especula-se que o papel fisiológico da tolerância oral seja a prevenção de respostas imunes potencialmente perigosas às proteínas provenientes de alimentos e de bactérias comensais. Os mecanismos subjacentes de tolerância oral não são bem compreendidos, mas provavelmente incluem mecanismos de tolerância periférica discutidos no Capítulo 15, tais como anergia, deleção e supressão mediada por Treg. A propensão do sistema imune do intestino a suprimir as respostas imunes locais aos antígenos no lúmen intestinal poderia se manifestar em outras partes do corpo, devido à circulação de Treg em outros tecidos, além da deleção ou anergia de células T efetoras no intestino, as quais não ficam mais disponíveis para responder a antígenos em outros locais. As tentativas para tratar doenças autoimunes ou alergias pela administração oral ou nasal de antígenos próprios ou alérgenos importantes não têm sido bem-sucedidas.

**A administração oral de antígeno no contexto da estimulação concomitante da imunidade inata pode conduzir a respostas imunes adaptativas protetoras, como no uso de vacinas virais orais para induzir respostas protetoras de anticorpos aos vírus.** Essas vacinas são compostas por vírus vivos atenuados que podem infectar células dendríticas no intestino e estimulam fortes respostas inatas que, então, promovem a ativação de células T e B.

## O Papel da Microbiota Comensal na Regulação do Sistema Imune

A microbiota intestinal humana inclui todas as bactérias comensais que normalmente residem nos intestinos, como discutido anteriormente, assim como milhares de espécies de vírus, fungos e protozoários. Os seres humanos e suas microbiotas intestinais têm coevoluído mecanismos para benefício mútuo, incluindo aqueles para

se defenderem contra a invasão por esses organismos, junto com mecanismos para manterem o equilíbrio, minimizando as respostas imunes pró-inflamatórias desnecessárias aos organismos comensais. Uma consequência da coevolução é uma profunda influência da microbiota no sistema imune. A microbiota muda com a idade, dieta e doenças, sendo que modelos de estudo em camundongos indicam que essas alterações têm impacto na função imune tanto localmente no intestino quanto sistemicamente.

***Os organismos comensais no intestino são necessários para regular as respostas imunes inatas no intestino e também influenciam a imunidade inata sistêmica.*** Estudos em camundongos demonstraram que bactérias comensais são necessárias para a proliferação e reparo da barreira epitelial intestinal após lesão, um efeito mediado pela ligação entre os PAMPs da parede celular de bactérias e os TLRs presentes nas células epiteliais. Como mencionado anteriormente, a microflora no intestino estimula a expressão de mucinas e peptídeos antimicrobianos (incluindo a lectina do tipo C REGIII $\gamma$ ) que previnem a colonização por bactérias Gram-positivas. Além disso, vários estudos em camundongos demonstraram que produtos de bactérias comensais no intestino influenciam a função sistêmica de neutrófilos circulantes e macrófagos. Por exemplo, ácidos graxos de cadeia curta de bactérias intestinais atenuam as respostas inflamatórias de neutrófilos, ao passo que fragmentos de peptidoglicanos de bactérias intestinais aumentam a capacidade dos neutrófilos circulantes para matar bactérias Gram-positivas. Do mesmo modo, bactérias intestinais parecem ser necessárias para as funções antivirais sistêmicas de macrófagos, células dendríticas e células NK.

***Organismos comensais do intestino influenciam as respostas imunes adaptativas locais e sistêmicas.*** A produção de IgA na mucosa intestinal, que é o principal mecanismo imune adaptativo para a proteção contra a invasão microbiana através da barreira epitelial do intestino, é dependente da presença de flora luminal. Os antígenos bacterianos comensais ativam as respostas IgA dependentes de células T específicas para esses antígenos. Além disso, organismos comensais induzem a expressão de fatores de troca para a IgA, incluindo BAFF, APRIL e ácido retinoico, que são necessários para a troca de classe de células B para IgA, dependente e independente de células T (discutido anteriormente). Ao prevenir organismos comensais de alcançar a barreira epitelial, a IgA no intestino reduz as respostas inatas a esses organismos e também limita a ativação de células B e as respostas de anticorpos, ambas local ou sistemicamente. Por exemplo, níveis séricos de IgE, número de basófilos no sangue e reações alérgicas dependentes de mastócitos fora do intestino são elevados em camundongos livres de patógenos. Algumas espécies de organismos comensais no intestino também são necessárias para o acúmulo de células T<sub>H</sub>17 no intestino e a presença dessas espécies reduz a resistência a alguns patógenos intestinais, mas pode aumentar a suscetibilidade a doenças autoimunes fora do intestino. Outras espécies de organismos comensais contribuem para o

desenvolvimento de Treg.

Em humanos, o impacto da microflora intestinal nas respostas imunes locais e sistêmicas é aferido a partir de muitas observações clínicas e terapias experimentais. A flora normal parece ser necessária para prevenir as respostas inatas intestinais e a inflamação prejudicial induzida por bactérias patogênicas. Por exemplo, o tratamento com antibióticos para infecções fora do intestino invariavelmente alterará a composição da microflora intestinal e isso está associado a maior risco de infecções bacterianas patológicas no cólon, particularmente por *Clostridium difficile* (*C. difficile*). Pacientes com infecção crônica por *C. difficile* beneficiam-se de transplantes fecais administrados oralmente, que repopulam o intestino com a flora de indivíduos saudáveis. Pacientes com doença inflamatória intestinal (discutido posteriormente) têm flora intestinal anormal e tanto o tratamento com antibióticos quanto os transplantes fecais têm sido bem-sucedidos no tratamento de alguns desses pacientes.

O modo pelo qual a flora comensal do intestino humano influencia a saúde imunológica sistêmica é amplamente desconhecido. O risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas, incluindo asma, é relacionado a variações na microflora durante a primeira infância como consequência do modo de nascimento (parto vaginal *versus* cesariano), amamentação e uso de antibióticos. Atualmente, as microbiotas de várias populações normais e de pacientes estão sendo caracterizadas por abordagens genéticas e os dados gerados podem conduzir a uma melhor compreensão de como o sistema imune humano é regulado por bactérias intestinais.

## Doenças Relacionadas a Respostas Imunes no Intestino

Dadas a abundância de células imunes e sua constante atividade na mucosa intestinal, não é de surpreender que existam muitas doenças intestinais relacionadas a respostas imunes anormais. Essas doenças geralmente são causadas por respostas desreguladas a organismos comensais ou a antígenos alimentares. Abordaremos agora exemplos selecionados dessas doenças; elas são descritas de forma mais completa em livros-texto médicos.

### Doença Inflamatória Intestinal

***A doença inflamatória intestinal é um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por inflamação remittente crônica nos intestinos delgado e grosso, provavelmente em razão de respostas mal reguladas a bactérias comensais.*** Os dois principais tipos de doença inflamatória do intestino são a **doença de Crohn**, que pode afetar a espessura total do tecido da parede intestinal em qualquer parte do trato gastrointestinal, porém envolve com mais frequência o íleo terminal, e a **colite ulcerativa**, que é restrita à mucosa colônica. Sintomas incluem dor abdominal, vômitos, diarreia e perda de peso. Tratamentos incluem vários fármacos anti-inflamatórios, tais como sulfasalazina, corticosteroides, antagonistas de

TNF e antimetabólitos. Embora a etiologia da doença de Crohn e da colite ulcerativa seja muito pouco compreendida, vários tipos de evidências sugerem que esses distúrbios resultam de defeitos na regulação de respostas imunes a organismos comensais do intestino em indivíduos geneticamente suscetíveis. Inúmeras anormalidades podem contribuir para o desenvolvimento da doença inflamatória intestinal.

- **Defeitos na imunidade inata aos organismos comensais do intestino.**

Anteriormente discutimos a possibilidade que a doença inflamatória intestinal resulte de dois tipos de defeitos imunes inatos. Primeiro, pode haver a expressão deficiente de moléculas, tais como defensinas, conduzindo à invasão bacteriana comensal aumentada ao longo do epitélio intestinal. Segundo, pode haver regulação negativa inadequada de respostas imunes inatas a organismos comensais. Polimorfismos no gene codificador do sensor citoplasmático da imunidade inata, NOD2, estão associados a um subtipo de doença de Crohn e podem levar a ambos os tipos de anormalidades na imunidade inata.

- **Respostas  $T_H17$  e  $T_H1$  anormais.** A análise das respostas de células T em modelos animais e pacientes com doença inflamatória intestinal indica que existe uma resposta  $T_H17$  ativa nas partes acometidas do intestino. A doença de Crohn também é caracterizada pela inflamação granulomatosa conduzida por células  $T_H1$  produtoras de IFN- $\gamma$  (Cap. 19). Esses achados são a base para o tratamento de pacientes com doença inflamatória intestinal com um anticorpo monoclonal que se liga a um polipeptídeo (p40) compartilhado por IL-23 e IL-12. A IL-23 é necessária para as respostas imunes mediadas por  $T_H17$ , como mencionado anteriormente, e a IL-12 é requerida para as respostas  $T_H1$ . Ensaios clínicos utilizando tratamento com o antagonista de IL-17 para a doença inflamatória intestinal não demonstraram eficácia, sugerindo que a produção excessiva de IL-17 não pode, por si só, ser responsável por esses distúrbios.

- **Função defeituosa de células T regulatórias.** É possível que a doença inflamatória intestinal possa ser causada por supressão inadequada das respostas imunes mediada por Treg a organismos comensais. A evidência que sustenta essa hipótese vem de modelos murinos nos quais a ausência de Treg conduz à doença inflamatória intestinal. De fato, um dos primeiros experimentos que demonstraram a existência de Treg foi o desenvolvimento da inflamação gastrointestinal em camundongos imunodeficientes que receberam células T  $CD4^+CD25^-$  imaturas, que agora se sabe que contêm precursores de células T efetoras, mas não Treg  $CD4^+CD25^+$ . Camundongos deficientes em Treg, devido à deleção dos genes *Il2* ou *Il2r*, como já mencionado, ou deficientes do gene *Foxp3* também desenvolvem colite. Em humanos, mutações em *FOXP3* resultam em falha no desenvolvimento de Treg e causam a doença denominada síndrome de desregulação imune, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X (IPEX), que inclui inflamação intestinal

grave, bem como autoimunidade em muitos outros tecidos. Embora todas essas observações sejam consistentes com o papel da célula Treg em manter a homeostase intestinal, como discutido anteriormente, não se sabe se os defeitos em Treg são a base da maioria dos casos de doença inflamatória intestinal humana.

- ***Polimorfismos dos genes que estão associados à macroautofagia e à resposta de proteína não dobrada ao estresse do retículo endoplasmático são fatores de risco para a doença inflamatória intestinal.*** Evidências experimentais sugerem que a conexão entre doença inflamatória intestinal e variantes na resposta de proteína não dobrada e genes de autofagia relaciona-se à diminuição de secreção de enzimas antimicrobianas e defensinas pelas células de Paneth. A macroautofagia é um processo pelo qual as células sequestram organelas citoplasmáticas dentro dos autofagossomos, que então se fundem com lisossomos, promovendo a destruição das organelas. Variações genéticas dos genes de autofagia (incluindo *ATG16L1* e *IRGM*) que estão associadas à doença de Crohn prejudicam a autofagia nas células de Paneth e, por motivos não esclarecidos, isso reduz a secreção de lisozimas e defensinas para o lúmen intestinal. O estresse do retículo endoplasmático ocorre quando proteínas mal dobradas se acumulam no retículo endoplasmático. Isso leva à ativação de uma série de proteínas, incluindo o fator de transcrição XBP-1, que atua em conjunto no bloqueio da tradução proteica e também aumenta a expressão de chaperonas que promovem a adequada dobra de proteínas. As células de Paneth, como outras células secretórias, dependem da resposta de proteína não dobrada para manter a função secretora de proteínas.

## **Doença Celíaca**

***A doença celíaca (enteropatia sensível ao glúten ou espru não tropical) é uma doença inflamatória da mucosa do intestino delgado causada por respostas imunes contra proteínas do glúten ingeridas e presentes no trigo.*** A doença celíaca é caracterizada por inflamação crônica na mucosa do intestino delgado, levando a atrofia das vilosidades, má absorção e várias deficiências nutricionais que induzem manifestações extraintestinais. A doença é tratada por dietas com restrição a alimentos livres de glúten. Esses pacientes produzem anticorpos IgA e IgG específicos para o glúten, assim como autoanticorpos específicos para transglutaminase 2A, uma enzima que modifica a proteína gliadina do glúten. Acredita-se que esses autoanticorpos surgem quando células B específicas para transglutaminase endocitam a transglutaminase do hospedeiro, covalentemente ligada à gliadina, e apresentam peptídios da gliadina às células T auxiliares, que, por sua vez, ajudam na resposta de anticorpos antitransglutaminase. Não se sabe exatamente se esses anticorpos contribuem para o desenvolvimento da doença, mas são marcadores sensíveis de diagnóstico da doença. Há fortes evidências de que as respostas das

células T CD4<sup>+</sup> à gliadina estão envolvidas na patogênese da doença. Células T específicas para peptídeos da gliadina são encontradas em pacientes com a doença celíaca, e o processo inflamatório no intestino inclui a participação de células T e suas citocinas. Existe um alto risco relativo para o desenvolvimento da enteropatia pelo glúten entre pessoas que carregam os dois alelos HLA de classe II, HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Os peptídeos da gliadina ligam-se fortemente a moléculas MHC codificadas por esses alelos. Discutiremos a associação das doenças autoimunes aos alelos do MHC no [Capítulo 15](#). Além das respostas de células T CD4<sup>+</sup>, os linfócitos T citotóxicos (CTL) CD8<sup>+</sup> matam as células epiteliais, contribuindo também para a doença celíaca, embora as fontes dos peptídeos reconhecidos pelos CTLs não sejam conhecidas.

## **Outras Doenças**

***As alergias alimentares são causadas por respostas T<sub>H</sub>2 a muitas proteínas alimentares e provocam reações inflamatórias agudas localmente no intestino e sistemicamente com a ingestão dessas proteínas.*** As alergias resultam de respostas que passam pela produção de IgE, dependente de T<sub>H</sub>2, em reação a antígenos ambientais (alérgenos), os quais podem ser proteínas ou compostos químicos que modificam (haptenos) proteínas próprias. No caso de alergias alimentares, os antígenos ambientais são ingeridos e isso é outro exemplo de falha da tolerância imune adaptativa a antígenos alimentares. Os anticorpos antialérgenos ligam-se a receptores Fc de mastócitos, e a exposição subsequente ao alérgeno poderá induzir ligação cruzada dos receptores Fc, ativação de mastócitos e liberação de potentes mediadores lipídicos, aminas proinflamatórias e citocinas. Mastócitos são abundantes na lâmina própria do intestino. Portanto, a reingestão de um alérgeno alimentar por uma pessoa que previamente desenvolveu resposta T<sub>H</sub>2 e produção de IgE ao alérgeno induzirá a ativação de mastócitos, com consequências patológicas. As citocinas produzidas por células T<sub>H</sub>2 também estimulam diretamente o peristaltismo e podem levar a sintomas de alergias alimentares mesmo sem a participação da IgE. Essas reações podem causar sintomas gastrintestinais, como náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal. O alérgeno pode ser absorvido no sangue e acabar ativando os mastócitos em muitos tecidos diferentes, produzindo as manifestações sistêmicas. Discutiremos as reações alérgicas em mais detalhes no [Capítulo 20](#).

***As respostas imunes prolongadas aos microrganismos gastrintestinais podem levar ao desenvolvimento de tumores no trato gastrintestinal.*** O melhor exemplo documentado dessa manifestação são os chamados linfomas de MALT no estômago de indivíduos com infecção crônica por *Helicobacter pylori*. Esses linfomas são tumores que se originam de células B foliculares que sofreram transformações malignas nos folículos linfóides da lâmina própria gástrica. Acredita-se que o *H. pylori*



induza uma reação inflamatória que promova o desenvolvimento e crescimento de tumores induzidos por eventos oncogênicos intrínsecos de células B. Notavelmente, se os linfomas de MALT gástricos são diagnosticados antes de se disseminarem para além das paredes do estômago, os pacientes podem ser curados da infecção por *H. pylori* pelo tratamento com antibióticos.

## Imunidade em Outros tecidos das mucosas

De forma semelhante à mucosa gastrintestinal, as mucosas do sistema respiratório, do sistema geniturinário e da conjuntiva devem manter a barreira contra a invasão de diversos microrganismos ambientais e o balanço das respostas protetoras efetivas a microrganismos invasores, além de suprimir as respostas a organismos comensais. Muitas dessas características descritas para a imunidade gastrintestinal são compartilhadas pela imunidade das mucosas nesses diferentes locais. Esses aspectos compartilhados incluem as barreiras epiteliais secretoras de muco relativamente impermeáveis e de defensinas; locais localizados de tecidos linfoides logo abaixo do epitélio; constante exposição de antígenos localizados na parte externa das barreiras a células imunes do lado interno da barreira; constante integração dos sinais próinflamatórios e regulatórios gerados pela ligação de produtos microbianos aos TLRs epiteliais e de células dendríticas; forte atuação da imunidade humoral mediada por IgA para prevenir a invasão microbiana; e presença de populações de células dendríticas efetoras e reguladoras que estimulam tipos particulares de respostas efetoras e reguladoras provenientes de células T. Além dessas características comuns, cada tecido mucoso diferente tem seus aspectos singulares que refletem as funções e a anatomia distintas dos órgãos dos quais fazem parte, bem como os variados tipos de antígenos ambientais e microrganismos que estão presentes em cada local. Discutiremos alguns dos principais aspectos da imunidade de mucosas nesses órgãos, focando principalmente no sistema respiratório.

## Imunidade no Sistema Respiratório

A mucosa do sistema respiratório reveste as passagens nasais, a nasofaringe, traqueia e árvore brônquica. Os alvéolos e as terminações das vias aéreas brônquicas em forma de saco e revestidas por epitélio também podem ser considerados parte da mucosa respiratória. A inalação do ar expõe a mucosa respiratória a uma ampla variedade de substâncias estranhas, incluindo organismos infecciosos provenientes do ar, polens de plantas, partículas de poeira e vários outros antígenos ambientais. A flora microbiana das vias aéreas é bem menos densa e menos diversa do que a encontrada no intestino, e as vias aéreas inferiores e os alvéolos têm menos microrganismos do que as vias aéreas superiores. No entanto,

mecanismos similares foram desenvolvidos no sistema imune da mucosa respiratória para atingir um balanço entre a ativação imune para proteger contra patógenos e a regulação imune para evitar respostas desnecessárias ou excessivas capazes de prejudicar as funções fisiológicas. As falhas do sistema imune para controlar as infecções broncopulmonares e as respostas imunes ou inflamatórias excessivas às infecções são a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo inteiro.

## **Imunidade Inata no Sistema Respiratório**

O epitélio colunar ciliado, pseudoestratificado, que reveste a maior parte da mucosa respiratória, incluindo as fossas nasais, a nasofaringe e a árvore brônquica, realiza as funções de barreira física e química similares ao encontrado no epitélio intestinal, em virtude das junções de oclusão entre as células e da secreção de muco, defensinas e catelicidinas. O muco nas vias aéreas captura substâncias estranhas, incluindo microrganismos; os cílios movem o muco e os microrganismos capturados para cima e para fora dos pulmões. A importância do muco e dos cílios na proteção imune inata no pulmão é ilustrada pela frequência bastante aumentada de infecções broncopulmonares sérias em indivíduos com função ciliar reduzida, como fumantes crônicos, ou aqueles com produção alterada de muco, como pacientes com fibrose cística.

As respostas inatas em alvéolos possuem funções antimicrobianas, mas são rigorosamente controladas para prevenir a inflamação, que prejudicaria a troca gasosa. Os alvéolos são suscetíveis a infecções disseminadas por decorrência da broncopneumonia, e as células de revestimento alveolar podem ser diretamente infectadas por vírus. As proteínas surfactantes A (SP-A) e D (SP-D), secretadas nos espaços alveolares, são membros da família das colectinas ([Cap. 4](#)) que se ligam aos PAMPs de carboidratos na superfície de muitos patógenos. Esses surfactantes estão envolvidos na neutralização viral e eliminação de microrganismos dos espaços aéreos, mas também suprimem as respostas inflamatórias e alérgicas no pulmão. Por exemplo, a SP-A inibe a sinalização de TLR-2 e TLR-4 e a expressão de citocinas inflamatórias nos macrófagos alveolares. A SP-A também se liga ao TLR-4 e inibe a ligação de lipopolissacarídeos. A SP-A e a SP-D reduzem a atividade fagocítica de macrófagos alveolares.

Os macrófagos alveolares representam a maior parte das células livres dentro dos espaços alveolares. Essas células são funcionalmente distintas dos macrófagos existentes na maioria dos outros tecidos, mantendo um fenótipo anti-inflamatório. Eles expressam IL-10, óxido nítrico e TGF- $\beta$  e são fracamente fagocíticos quando comparados aos macrófagos residentes em outros tecidos, tais como baço e fígado. Os macrófagos alveolares inibem as respostas de células T, bem como a função de apresentação de antígenos de células dendríticas CD103<sup>+</sup> das vias aéreas.

## **Imunidade Adaptativa no Sistema Respiratório**

A imunidade humoral protetora nas vias aéreas é dominada pela IgA secretória, como em outros tecidos mucosos, embora a quantidade de IgA secretada seja muito menor do que no trato gastrointestinal. A IgA secretória tem um papel importante nas vias aéreas superiores. Os locais anatômicos de ativação e diferenciação de células B imaturas, bem como de troca de classe para IgA podem variar, mas incluem as tonsilas e adenoides na nasofaringe e os linfonodos no mediastino e adjacentes aos brônquios nos pulmões. Existem relativamente poucos folículos linfóides agregados ou isolados na lâmina própria das vias aéreas inferiores, se comparados ao intestino, e provavelmente menos respostas imunes humorais iniciadas nesses locais. O retorno de plasmócitos secretores de IgA para os tecidos das vias aéreas próximas ao epitélio da mucosa respiratória depende da quimiocina CCL28 secretada pelo epitélio respiratório e da expressão de seu receptor CCR10 nos plasmócitos. A IgA e a IgG são transportadas para o lúmen das vias aéreas pelo mesmo mecanismo de receptor poli-Ig e de FcRn de transporte transcelular observado no intestino. As respostas de IgE aos antígenos das vias aéreas ocorrem frequentemente e estão envolvidas em doenças alérgicas do sistema respiratório, incluindo febre do feno e asma. A IgE realiza suas funções efetoras inflamatórias quando ligada aos mastócitos, que são abundantes nas vias aéreas.

As respostas de células T no pulmão são iniciadas pela exposição de antígenos das vias aéreas às células dendríticas e apresentação desses antígenos às células T imaturas nos linfonodos peribrônquicos e do mediastino. Uma rede de células dendríticas está presente na mucosa das vias aéreas, sendo que um subtipo dessas células dendríticas brônquicas projeta seus dendritos entre as células epiteliais brônquicas para o lúmen das vias aéreas. Essas células dendríticas reconhecem os antígenos das vias aéreas, migram para os linfonodos drenantes, apresentam os antígenos processados às células T imaturas e têm a propensão de orientar a diferenciação dessas células T para a subpopulação T<sub>H</sub>2. As células T<sub>H</sub>2 retornam para a mucosa brônquica, onde podem ser reativadas por alérgenos apresentados pelas células dendríticas na lâmina própria. Essa via é considerada central para o desenvolvimento de asma alérgica (Cap. 20). Outras células dendríticas são encontradas na lâmina própria abaixo das células epiteliais.

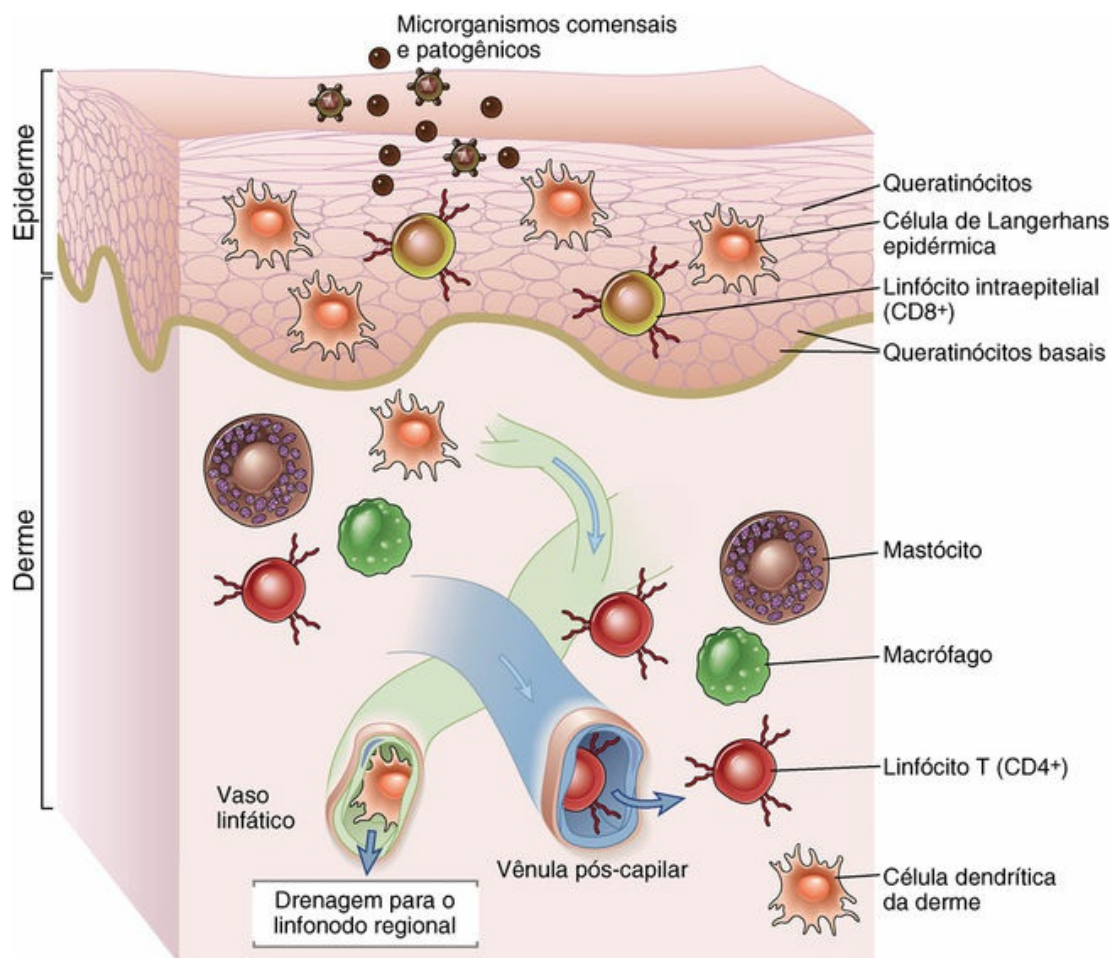
## Imunidade no Sistema Geniturinário

A defesa imune inata contra invasão e infecção microbiana na mucosa geniturinária depende principalmente do revestimento epitelial, como em outras barreiras mucosas. O epitélio escamoso estratificado reveste a mucosa vaginal e a uretra terminal masculina, além de uma única camada de epitélio colunar secretor de muco no trato genital superior feminino. O epitélio vaginal contém células de Langerhans e uma variedade de células dendríticas e macrófagos localizados abaixo do epitélio vaginal, endocérnix e uretra. Também existem células B e células T residentes na mucosa

vaginal. Diferenças entre o fenótipo das células dendríticas e dos macrófagos encontrado na mucosa genital feminina e no trato gastrointestinal podem ser a base para a maior suscetibilidade do primeiro à infecção pelo HIV. Existe pouca especialização regional do sistema imune adaptativo na mucosa geniturinária, que possui poucos tecidos linfóides associados à mucosa. Ao contrário de outras mucosas, nas quais a IgA é o isótipo de anticorpo dominante, a maioria dos anticorpos nas secreções genitais é de IgG, sendo aproximadamente metade deles produzida por plasmócitos na mucosa do trato genital; os demais são provenientes da circulação.

## Sistema imune cutâneo

A pele inclui duas principais camadas, a epiderme mais externa composta principalmente de células epiteliais e separada por uma fina membrana basal, a derme subjacente composta por tecido conjuntivo e estruturas anexas especializadas, tais como folículos pilosos e glândulas sudoríparas. No interior de ambas as camadas, uma variedade de tipos celulares distintos e seus produtos, compondo o sistema imune cutâneo (Fig. 14-9), fornece a barreira física e as funções de defesa imune ativa contra microrganismos. A pele de um adulto tem cerca de 2 m<sup>2</sup> de área e é a segunda maior barreira do corpo contra microrganismos ambientais e outros materiais estranhos. No entanto, dada a sua localização mais externa, a pele normalmente é colonizada por muitos microrganismos e é frequentemente rompida por trauma e queimaduras. Portanto, a pele é uma porta de entrada comum para uma ampla variedade de microrganismos e outras substâncias estranhas, e é o local de muitas respostas imunes.



**FIGURA 14-9** Componentes celulares do sistema imune cutâneo.

Os principais componentes do sistema imune cutâneo apresentados neste esquema ilustrativo incluem os queratinócitos, as células de Langerhans e os linfócitos intraepiteliais, todos localizados na epiderme, enquanto os linfócitos T, as células dendríticas e os macrófagos estão situados na derme.

## Respostas Imunes Inata e Adaptativa na Pele

**A epiderme fornece uma barreira física à invasão microbiana.** A epiderme consiste em múltiplas camadas de epitélio escamoso estratificado, composta quase que totalmente por células epiteliais especializadas denominadas queratinócitos. A camada basal de queratinócitos, ancorada à membrana basal, está em contínua proliferação, e suas células progenitoras em maturação estão dispostas acima e diferenciam-se para formar as diferentes camadas. Na camada superior, denominada estrato córneo, as células sofrem morte programada e, desse modo, formam uma barreira impermeável rica em lipídios e queratina, importante para a proteção contra

microrganismos, bem como agentes químicos e físicos prejudiciais.

***Além de formar uma barreira física, os queratinócitos respondem ativamente a patógenos e lesões a partir da produção de peptídeos antimicrobianos que matam os microrganismos, e de várias citocinas que promovem e regulam as respostas imunes.*** Os peptídeos antimicrobianos que os queratinócitos produzem incluem defensinas, S100 e catelicidinas (Cap. 4). As citocinas produzidas por queratinócitos incluem TNF, linfopoetina estromal tímica (TSLP), IL-1, IL-6, IL-18 e IL-33, que promovem inflamação; GM-CSF, que induz diferenciação e ativação de células dendríticas na epiderme, discutido posteriormente; e IL-10, que controla as respostas imunes. Os queratinócitos produzem a quimiocina CCL27, que atua no recrutamento de linfócitos que expressam CCR10. A expressão induzida de defensinas, citocinas e quimiocinas pelos queratinócitos depende de receptores imunes inatos, incluindo TLRs e NLRs. Os queratinócitos expressam a maioria dos TLRs e também NLRP3, que é um componente do inflamassoma que leva ao processamento da IL-1 (Cap. 4). Os queratinócitos presentes na pele normal sintetizam constitutivamente pró-IL-1 $\beta$  e pró-IL-18. Estímulos, tais como a radiação UV, ativam o inflamassoma a processar essas pró-citocinas para as formas ativas, o que explica a resposta inflamatória à queimadura solar. Quando as vias de transdução de sinal ligadas às respostas inflamatórias, tais como as vias NF- $\kappa$ B e STAT3, são geneticamente ativadas apenas nos queratinócitos, camundongos desenvolvem doenças cutâneas inflamatórias, demonstrando o potencial dos queratinócitos em atuar como componentes centrais das respostas imunes cutâneas.

***Várias populações de células dendríticas estão normalmente presentes na pele e contribuem tanto para as respostas imunes inatas quanto para o início das respostas de células T a antígenos microbianos e ambientais que entram no corpo através da pele.*** Na epiderme, as células dendríticas mais abundantes são as de Langerhans, que expressam um receptor de lectina tipo C denominado langerina (CD207), além de possuírem inúmeros grânulos de Birbeck no citoplasma (Fig. 6-4). Os dendritos das células de Langerhans formam uma densa malha entre os queratinócitos da epiderme. Na derme, existem relativamente poucas células dendríticas CD103<sup>+</sup> que expressam langerina, as quais representam uma linhagem distinta das células de Langerhans, e células dendríticas langerina-negativas, tais como células dendríticas plasmocitoides. Cada uma dessas populações de células dendríticas expressa receptores de reconhecimento padrão inato para PAMPs, expressos nos microrganismos, e para padrões moleculares associados a dano (DAMPs), expressos por células lesionadas. As células dendríticas respondem a esses ligantes secretando citocinas inflamatórias.

As células dendríticas da pele capturam proteínas estranhas, transportam-nas para os linfonodos drenantes e apresentam os peptídeos processados dessas proteínas às células T, ou passam os antígenos proteicos para outras células dendríticas residentes nos linfonodos. Quando as células de Langerhans encontram os

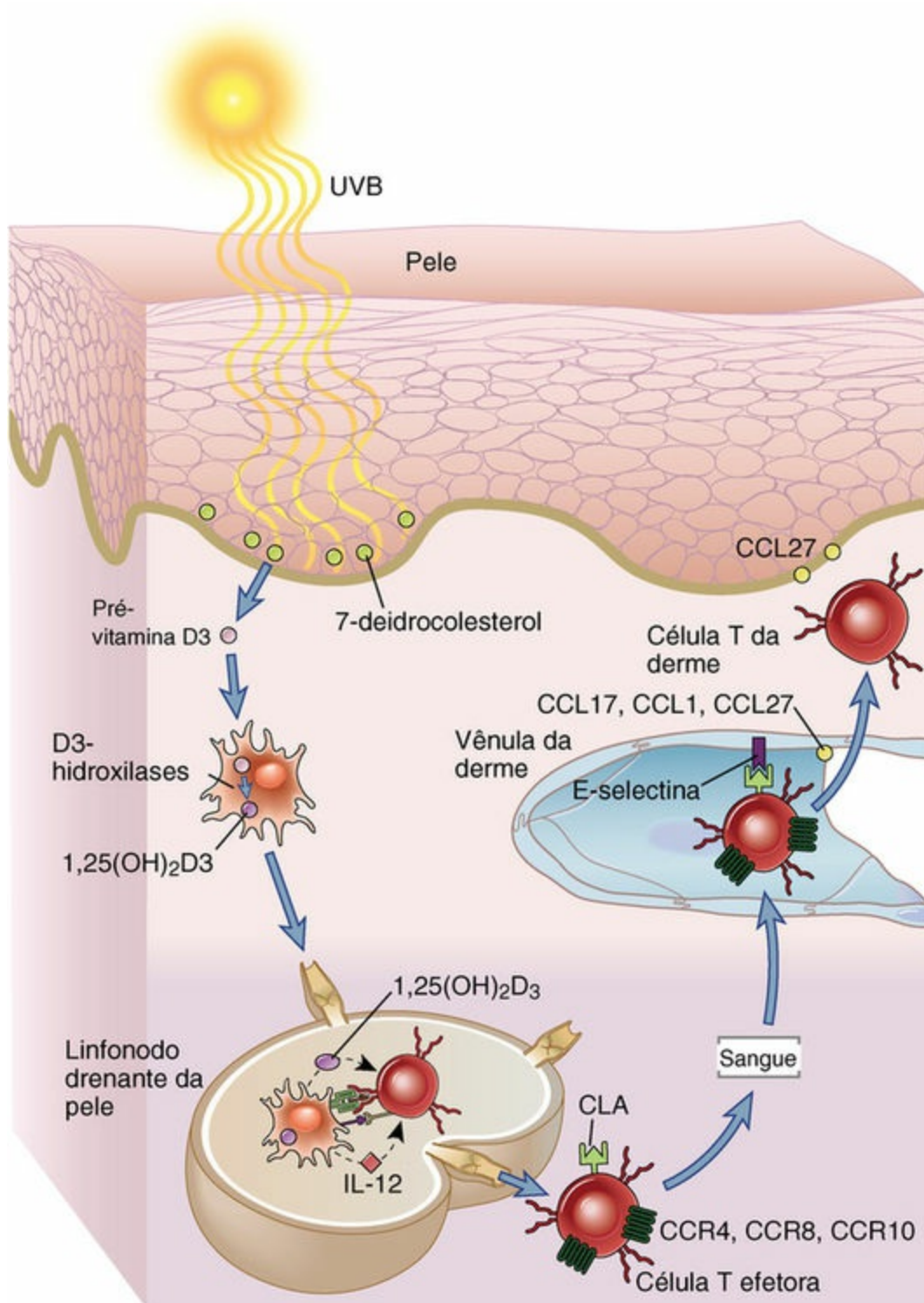


patógenos, são ativadas pela interação com receptores do tipo Toll e outros sensores microbianos (Cap. 6). Essas células perdem sua capacidade de adesão à epiderme, adentram os vasos linfáticos, começam a expressar o receptor de quimiocinas CCR7 e migram para as zonas de células T dos linfonodos drenantes em resposta a quimiocinas produzidas naquele local. As células de Langerhans também amadurecem para se tornarem células apresentadoras de antígenos. O que permanece incerto é a contribuição relativa das diferentes subpopulações de células dendríticas cutâneas para o início das respostas de células T. Em modelos murinos onde células dendríticas que expressam langerina foram seletivamente eliminadas, os camundongos ficam deficientes em células de Langerhans, mas possuem células dendríticas da derme. Usando esses modelos, os investigadores demonstraram que algumas dessas respostas de células T a proteínas próprias quimicamente modificadas (um modelo de hipersensibilidade de contato) ocorrem na ausência das células de Langerhans. Além disso, as respostas de células T a certos vírus, incluindo o vírus do herpes, dependem das células dendríticas CD103<sup>+</sup> langerina<sup>+</sup> da derme, mas não das células de Langerhans. As células de Langerhans parecem ser necessárias para as respostas T<sub>H</sub>2 que contribuem para a dermatite atópica (hipersensibilidade de contato e dermatite atópica discutidas posteriormente). O papel das diferentes populações de células dendríticas da pele pode variar conforme o tipo e a quantidade de antígeno, e provavelmente irá diferir entre camundongos e humanos.

***A pele humana normal contém muitas células T, 95% das quais possuem um fenótipo de memória.*** A pele humana contém cerca de 1 milhão de células T/cm<sup>2</sup>, que corresponde a aproximadamente  $2 \times 10^{10}$  do total de células T na pele. Cerca de 98% dessas células T estão presentes na derme e 2% são linfócitos intraepidérmicos. Os linfócitos T na derme (células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) estão localizados predominantemente em regiões perivasculares e perifoliculares, geralmente expressando marcadores fenotípicos típicos de células ativadas ou de memória. Não é claro se essas células residem permanentemente na derme ou estão somente em trânsito entre o sangue e os capilares linfáticos, como parte da recirculação de células T de memória. As células T CD4<sup>+</sup> de cada uma das principais subpopulações, células T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2, T<sub>H</sub>17 e Treg, são encontradas na pele. As células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17 são importantes para a defesa contra microrganismos intra e extracelulares, respectivamente, como em outros tecidos. As duas citocinas marcadoras da resposta T<sub>H</sub>17, IL-17 e IL-22, são conhecidas por induzirem a expressão de defensinas e catelicidinas por queratinócitos e a proliferação de células da epiderme. Por outro lado, as citocinas T<sub>H</sub>2, IL-4 e IL-13, suprimem a produção de defensinas e catelicidinas, o que pode resultar em infecções cutâneas de fundo T<sub>H</sub>2. As células T  $\gamma\delta$  da derme podem ser uma fonte de IL-17 em algumas doenças inflamatórias

crônicas cutâneas. As células T intraepidérmicas, grande parte constituída por células CD8<sup>+</sup>, podem expressar um conjunto mais restrito de receptores antigênicos do que os linfócitos T presentes na maioria dos tecidos extracutâneos. Em camundongos (e em algumas outras espécies), muitos linfócitos intraepidérmicos são células T que expressam receptores antigênicos de células  $\gamma\delta$  com diversidade limitada.

**As células T na pele expressam moléculas de homing que direcionam sua migração para fora dos microvasos da derme (Fig. 14-10).** A migração de células T efetoras ou de memória para a pele depende da expressão do antígeno de linfócitos cutâneos (CLA) pelas células T, que é uma porção carboidrato ligante de E-selectina, presente em várias glicoproteínas na membrana plasmática das células endoteliais. Além disso, a expressão de CCR4, CCR8 e CCR10 em células T, que se ligam às quimiocinas CCL17, CCL1 e CCL27, respectivamente, também é necessária para o tráfego de células T para a pele. As propriedades de *homing* na pele das células T são marcadas durante a ativação nos linfonodos drenantes da pele, por um processo análogo ao observado nas propriedades de *homing* intestinal das células T nos linfonodos mesentéricos, discutidos anteriormente neste capítulo. Quando as células T imaturas reconhecem antígenos apresentados por células dendríticas nos linfonodos drenantes da pele, as células T recebem sinais das células dendríticas que não apenas induzem a sua proliferação e diferenciação em células efetoras, mas também induzem a expressão de moléculas de *homing* da pele, como CLA, CCR4, CCR8 e CCR10. É interessante que a vitamina D e a luz solar parecem ter um papel importante na migração de células T para a pele, análogas ao papel da vitamina A e seu metabólito ácido retinoico na migração de linfócitos para o intestino. Os raios UVB na luz solar atuam sobre o 7-deidrocolesterol produzido pela camada basal da epiderme, convertendo-o para pré-vitamina D<sub>3</sub>. As células dendríticas da derme expressam hidroxilases da vitamina D<sub>3</sub> que convertem a pré-vitamina D<sub>3</sub> para sua forma ativa, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, que pode ser transportada na forma livre ou no interior das células dendríticas que estão migrando para os linfonodos drenantes da pele. No linfonodo, o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> entra nas células T que foram ativadas pelas células dendríticas apresentadoras de antígeno, transloca-se para o núcleo e induz a transcrição de CCR10. A IL-12 produzida por células dendríticas participa na indução de CLA. CCR4 e CCR8 também são reguladas positivamente e a integrina de *homing* intestinal  $\alpha_4\beta_7$  é inibida, por sinais desconhecidos, durante a ativação de células T nos linfonodos drenantes da pele. Portanto, células T imaturas ativadas nos linfonodos drenantes da pele serão diferenciadas em células T efetoras que preferencialmente retornarão para a pele. O 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> também pode atuar localmente na derme sobre as células T efetoras e de memória regulando positivamente a expressão de CCR10 e promovendo a migração das células T para a epiderme, pois o ligante de CCR10, CCL27, é produzido pelos queratinócitos.



**FIGURA 14-10** Propriedades de *homing* dos linfócitos cutâneos.

As propriedades de *homing* dos linfócitos efetores na pele são adquiridas nos linfonodos drenantes da pele, onde sofrem diferenciação a partir de precursores imaturos. Os raios ultravioletas da luz solar (UVB) estimulam a produção de vitamina D, que induz a expressão de CCR10; a IL-12 induz a

expressão do ligante de E-selectina, o antígeno de linfócito cutâneo (CLA); e outros sinais induzem a expressão de CCR4, CCR8 e CCR10. Essas moléculas de *homing* direcionam a migração de células T efetoras para a pele.

## Doenças Relacionadas a Respostas Imunes na Pele

Há muitas doenças inflamatórias distintas que são causadas por respostas imunes desreguladas ou inadequadamente direcionadas na pele. Discutiremos apenas dois exemplos ilustrativos dessas doenças. Além dessas doenças inflamatórias, existem vários linfomas malignos que primariamente afetam a pele. A maior parte deles é derivada de células T residentes na pele.

***Psoríase, um distúrbio inflamatório crônico da pele, é caracterizado por placas escamosas vermelhas, sendo causado por respostas imunes desreguladas, tanto as respostas inatas quanto as mediadas por células T, desencadeadas por vários estímulos ambientais.*** Há evidências de que a psoríase é iniciada quando o trauma ou a infecção induz produção de catelicidina LL-37 pelos queratinócitos, formando complexos com o DNA do hospedeiro e, assim, ativando as células dendríticas plasmocitoides na pele por meio do TLR9. As células dendríticas plasmocitoides ativadas produzem grandes quantidades de IFN- $\alpha$ ; logo, a pele psoriática tem um forte perfil interferon do tipo I (p. ex., expressão de muitos genes induzidos por interferon). Um dos efeitos do IFN- $\alpha$  é a ativação de outras células dendríticas que são induzidas a migrar para os linfonodos, ativar as células T auxiliares de especificidade antigênica desconhecida e induzir sua diferenciação em células efetoras residentes da pele. Essas células T circulam para a derme e, em seguida, promovem uma cascata inflamatória e a proliferação persistente de queratinócitos. As células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17 estão envolvidas nessa fase da doença. Ensaio clínico com antagonistas de IL-17 demonstraram eficácia notável na psoríase, como é observado com os inibidores de TNF. Uma questão central não esclarecida sobre essa doença é a identidade desses antígenos reconhecidos pelas células T.

***A dermatite atópica é uma doença crônica inflamatória da pele caracterizada por erupções pruriginosas,*** dirigida por respostas T<sub>H</sub>2 a antígenos ambientais em indivíduos geneticamente suscetíveis. Há evidências de que a dermatite atópica se desenvolva quando existem defeitos oriundos na função de barreira da epiderme, levando ao aumento na entrada de antígeno na pele e a respostas imunes acentuadas mediadas por células T<sub>H</sub>2 a antígenos inócuos. Mutações em uma proteína estrutural envolvida na diferenciação de queratinócitos e na função de barreira da pele, denominada filagrina, são frequentemente associadas à dermatite atópica. Secundariamente, as respostas T<sub>H</sub>2 estimulam a produção de

IgE específica para antígenos ambientais pelas células B, assim como a ativação dependente de IgE de mastócitos em resposta a esses antígenos (Cap. 20) contribui para as manifestações clínicas da doença.

## Tecidos imunologicamente privilegiados

As respostas imunes e a inflamação associada em certas partes do corpo, incluindo cérebro, olhos, testículos, placenta e feto, carregam um alto risco de disfunção orgânica letal ou falha reprodutiva. Esses tecidos desenvolvidos para estarem protegidos a um grau variável das respostas imunes são denominados **locais imunologicamente privilegiados**. Peter Medawar cunhou o termo *privilégio imunológico* na década de 1940 para descrever a falta de respostas imunes a tecidos transplantados no cérebro ou na câmara anterior do olho de animais em experimentação. Os antígenos estranhos que poderiam induzir uma resposta imune na maioria dos tecidos são frequentemente tolerados nesses locais imunologicamente privilegiados. Os mecanismos determinantes do privilégio imunológico variam entre esses tecidos e não são totalmente compreendidos. Alguns desses mecanismos são similares aos mecanismos de regulação no intestino e na pele (discutidos anteriormente) e aos mecanismos de autotolerância (discutido no Cap. 15). Nas seções a seguir, discutiremos algumas dessas características que distinguem o privilégio imunológico nos diferentes tecidos.

## Privilégio Imunológico no Olho, Cérebro e Testículo

### Olho

A visão, que é essencial para a sobrevivência da maioria dos mamíferos, pode ser facilmente prejudicada pela inflamação no olho. Os mecanismos desenvolvidos que minimizam a probabilidade das respostas imunes e da inflamação no olho foram inteiramente descritos na câmara anterior do olho, um espaço preenchido por fluido entre a córnea transparente à frente, e a íris e o cristalino atrás. A inflamação nessa câmara pode levar à opacidade da córnea transparente e do cristalino, com perda da visão. Pelo menos algumas das propriedades do privilégio imunológico estudado na câmara anterior do olho também se aplicam a outros locais oculares, tais como a cavidade vítrea e o espaço sub-retinal. As características anatômicas da câmara anterior do olho que contribuem para o privilégio imunológico incluem as junções de oclusão e a resistência ao extravasamento de líquido dos vasos sanguíneos para os tecidos adjacentes à câmara anterior (a tão conhecida barreira hemato-ocular), a natureza avascular da córnea e a ausência de vasos linfáticos drenantes da câmara anterior, que limita o acesso do sistema imune adaptativo aos antígenos no olho. Existem vários fatores solúveis com propriedades imunossupressoras/anti-inflamatórias presentes no humor aquoso que preenche a câmara anterior, incluindo



neuropeptídeos (hormônio estimulador de  $\alpha$ -melanócitos, peptídeos vasointestinais e somatostatina), TGF- $\beta$  e indolamina 2,3-dioxigenase. As células que revestem a câmara anterior, incluindo o epitélio da íris e o endotélio, constitutivamente expressam o ligante de Fas e PD-L1, que podem induzir morte ou a inativação de células T, respectivamente.

***O desvio imune associado à câmara anterior é um fenômeno no qual a introdução de antígenos proteicos estranhos na porção anterior do olho ativamente induz tolerância sistêmica àquele antígeno.*** Este fenômeno provavelmente reduz a chance de respostas imunes adaptativas serem geradas por antígenos estranhos que possam estar localizados no olho. A tolerância é detectável quando ocorre a redução da resposta inflamatória de células T ou de anticorpos ao mesmo antígeno, quando este é mais tardiamente introduzido em locais extraoculares, quando comparada à resposta em indivíduos que não foram expostos ao antígeno intraocular. O desvio imune associado à câmara anterior do olho pode ser mediado por Treg. Estudos em camundongos mostram que o antígeno introduzido na câmara anterior é transportado por macrófagos ou células dendríticas, através do olho, para o baço e apresentado por células B esplênicas a células T imaturas, induzindo a geração de células T regulatórias específicas para o antígeno.

Ao contrário da tolerância induzida por antígenos estranhos introduzidos na câmara anterior, antígenos próprios no olho são isolados pelo sistema imune e a tolerância sistêmica a esses antígenos não é induzida. Essa falta de tolerância torna-se um problema apenas quando o trauma no olho expõe os antígenos oculares ao sistema imune. Um exemplo impressionante disso é a oftalmia simpática, na qual o trauma em um olho causa a liberação de antígenos, levando à doença autoimune tanto no olho lesionado quanto no não lesionado. Presume-se que, embora os antígenos próprios no olho normal sejam inacessíveis ao sistema imune extraocular para induzir tolerância, as células efetoras imunes ativadas e os anticorpos que são gerados na periferia, quando um olho é lesionado, têm acesso ao olho normal e causam dano ao mesmo.

## **Cérebro**

A inflamação no cérebro pode levar à disfunção e morte dos neurônios, com consequências desastrosas. Aspectos anatômicos do cérebro que prejudicam o início da imunidade adaptativa aos antígenos incluem a ausência de drenagem linfática convencional e uma escassez de células dendríticas. A chegada de células imunes e de mediadores inflamatórios ao cérebro é prejudicada pela presença das junções de oclusão entre as células endoteliais microvasculares cerebrais (a chamada barreira hematoencefálica). Alguns dos mecanismos que operam no olho também podem se aplicar ao cérebro, incluindo a ação de neuropeptídeos. O cérebro é rico em macrófagos residentes, denominados micróglia, que se tornam ativados em resposta ao dano tecidual ou infecções no cérebro. O limiar para sua ativação,



contudo, pode ser maior que a de macrófagos em outros tecidos. Um mecanismo suposto para manter esse limiar de ativação alto é a sinalização inibitória mediada pelo receptor CD200, que é expresso pela micróglia. O CD200 serve como seu próprio ligante e é altamente expresso no cérebro, em neurônios e em outros tipos celulares.

Contraopondo-se a suposições prévias baseadas em experimentos clássicos, há evidências indicando que a vigilância imunológica contra microrganismos ocorre no sistema nervoso central. Por exemplo, a frequência de algumas infecções oportunistas no cérebro aumenta significativamente em pacientes imunossuprimidos. Pacientes tratados com determinados anticorpos monoclonais que bloqueiam a adesão de linfócitos e monócitos às células endoteliais têm risco significativamente aumentado, embora ainda pequeno, de ativação do vírus JC latente, conduzindo à doença do sistema nervoso central uniformemente fatal, denominada leucoencefalopatia multifocal progressiva. Esse achado sugere que o tráfego de células T ou de monócitos para o cérebro é necessário para manter o vírus latente sob controle, e argumenta-se que o cérebro não é um local estritamente privilegiado imunologicamente.

## Testículo

O privilégio imunológico no testículo serve para limitar a inflamação que pode prejudicar a fertilidade masculina. Muitos antígenos próprios no testículo humano são primeiramente expressos no período da puberdade, bem depois do desenvolvimento de um sistema imune competente, que pode incluir células precursoras de linfócitos T e B antígeno-específicas. Portanto, o privilégio imunológico no testículo também pode servir para prevenir a autoimunidade. O testículo, como o olho e o cérebro, tem uma barreira hematotécidual que limita a exposição de células e de moléculas para os locais de espermatogênese. Esta barreira não é formada pelas células endoteliais, mas por células de Sertoli que revestem a camada mais externa dos túbulos seminíferos, nos quais a espermatogênese acontece. O meio hormonal do testículo, que é rico em andrógenos, tem uma influência anti-inflamatória sobre os macrófagos. O TGF- $\beta$  é produzido por células de Leydig, de Sertoli e peritubulares e provavelmente contribui para a supressão imune local.

## Privilégio Imunológico no Feto de Mamíferos

***O feto de mamíferos expressa genes herdados paternamente que são alogênicos aos da mãe, mas os fetos não são normalmente rejeitados pela mãe.*** Em essência, o feto é um aloenxerto de ocorrência natural, mas que é protegido da rejeição ao enxerto (a rejeição ao aloenxerto é discutida no [Cap. 17](#)). É evidente que a mãe é exposta aos antígenos do feto durante a gravidez, pois os anticorpos maternos contra as moléculas MHC paternas são facilmente detectáveis. Obviamente,

houve intensa pressão seletiva que levou à evolução de mecanismos que protegem o feto do sistema imune materno, ainda que os mesmos permaneçam pouco compreendidos. Provavelmente diferentes aspectos moleculares e de barreira particulares da placenta, bem como a imunossupressão local contribuem para isso.

**Várias observações experimentais indicam que a localização anatômica do feto é um fator crítico na ausência de rejeição.** Por exemplo, animais gestantes são capazes de reconhecer e rejeitar aloenxertos singênicos ao feto, colocados em locais extrauterinos sem comprometer a sobrevivência fetal. Blastocistos fetais completamente alogênicos que perdem os genes maternos podem se desenvolver com sucesso em uma mãe gestante ou pseudogestante. Portanto, nem os genes maternos ou paternos específicos são necessários para a sobrevivência do feto. A hiperimunização da mãe com células que possuem antígenos paternos não compromete o crescimento do feto e da placenta.

A falha para rejeitar o feto é focada na região de contato físico entre a mãe e o feto. Os tecidos fetais da placenta que mais entram em contato íntimo com a mãe são compostos tanto por trofoblastos vasculares, que são expostos ao sangue materno com o propósito de mediar a troca de nutrientes, quanto por trofoblastos locais de implantação, que se infiltram difusamente no revestimento uterino (decídua) com a finalidade de ancorar a placenta à mãe.

Uma simples explicação para a sobrevivência do feto é que as células do trofoblasto falham em expressar moléculas MHC paternas. As moléculas MHC de classe II não foram detectadas nas células dos trofoblastos. Em camundongos, as células do trofoblasto de implantação, mas não do trofoblasto vascular, expressam moléculas MHC de classe I. Em humanos, a situação pode ser mais complexa naquelas células do trofoblasto que expressam somente uma molécula não polimórfica de classe IB denominada HLA-G. Essa molécula pode estar envolvida na proteção de células trofoblásticas da lise mediada por células NK maternas. Uma subpopulação especializada de células NK denominada células NK uterinas é o principal tipo de linfócito presente nos locais de implantação, sendo a produção de IFN- $\gamma$  por essas células essencial para o desenvolvimento decidual. O modo pelo qual as células NK uterinas são estimuladas e sua função nas respostas maternas aos aloantígenos fetais são desconhecidos. Mesmo se as células trofoblásticas expressam moléculas clássicas do MHC, elas podem perder as moléculas coestimulatórias e falham para atuar como células apresentadoras de antígenos.

**A decídua uterina pode ser um local no qual as respostas imunes são funcionalmente inibidas.** Essa ideia é sustentada pela observação de que a decídua murina é altamente suscetível à infecção com *Listeria monocytogenes* e não pode sustentar uma resposta de hipersensibilidade do tipo tardio. A base do privilégio imunológico não é evidentemente uma simples barreira anatômica, porque o sangue materno está em contato amplo com as células trofoblásticas. Mais ainda, é provável que a barreira seja criada por inibição funcional, atribuível a múltiplos mecanismos.

**A tolerância materna do feto pode ser mediada por Treg.** Evidências experimentais sugerem que as células T regulatórias previnem reações imunes contra antígenos paternos que não são expressos na mãe. Antígenos fetais induzem Treg FoxP3<sup>+</sup> de longa duração em camundongos, e a depleção dessas células resulta em perda fetal. Durante a gestação, Treg sistêmicas e decíduais aumentam nas mães e Treg em abundância são encontradas no feto. De fato, mamíferos eutérios (mamíferos com placenta) desenvolveram uma alteração mediada por transposon em uma sequência regulatória do gene *FoxP3* que permite a geração de Treg periféricas nesses mamíferos. Esta região regulatória do *FoxP3* não é encontrada nos primeiros vertebrados ou mesmo em mamíferos metatérios, tais como cangurus e *wallabies* (um animal semelhante ao canguru, porém menor) que carregam seus filhotes. A contribuição das Treg na gestação humana está sob investigação ativa, assim como a possibilidade de defeitos nas células Treg serem a base para os abortos espontâneos recorrentes.

**As respostas imunes ao feto podem ser reguladas por concentrações locais de triptofano e de seus metabólitos na decídua.** Sabe-se que a enzima indolamina 2,3-dioxigenase (IDO) cataboliza o triptofano e que a droga inibidora de IDO, 1-metil-triptofano, induz abortos em camundongos de maneira dependente de células T. Essas observações levaram à hipótese de que as respostas de células T ao feto sejam normalmente bloqueadas porque os níveis de triptofano da decídua são mantidos baixos, ou os níveis de metabólitos tóxicos produzidos por IDO são altos.

Diversos outros mecanismos também podem abater a resposta imune materna ao feto, incluindo a expressão de FasL por células trofoblásticas fetais que promovem apoptose de linfócitos maternos ativados que expressam Fas, a geração de células dendríticas tolerogênicas em resposta à galectina-1 expressa na decídua e o prejuízo na migração de células dendríticas do útero para os linfonodos.

Os trofoblastos e a decídua também podem ser resistentes ao dano mediado pelo complemento. Em camundongos, esses tecidos expressam um inibidor de C3 e de C4 denominado Crry. Os embriões deficientes em Crry morrem antes do nascimento e mostram evidência de ativação do complemento em células do trofoblasto. Portanto, esse inibidor pode bloquear o dano mediado pelo complemento e por aloanticorpos maternos. Entretanto, as moléculas Crry ou equivalentes não foram encontradas em humanos.

## Resumo

Os sistemas imunes regionais, incluindo aqueles localizados no trato gastrointestinal e na pele, são populações especializadas de células imunes inatas e adaptativas em locais anatómicos particulares, que realizam funções protetoras e reguladoras únicas naqueles locais.

O sistema imune gastrointestinal deve lidar com a presença de trilhões de bactérias

comensais no lúmen intestinal, prevenindo sua invasão e tolerando sua presença no lúmen, enquanto também identifica e responde aos organismos patogênicos numericamente raros.

A imunidade inata no sistema gastrointestinal é mediada por células de revestimento da mucosa epitelial, que impedem a invasão microbiana a partir das junções de oclusão intercelulares, secreção de muco e produção de moléculas antimicrobianas, tais como defensinas. Células efetoras imunes inatas na lâmina própria incluem macrófagos, células dendríticas e mastócitos. Os linfócitos intraepiteliais, incluindo as células T  $\gamma\delta$ , fornecem a defesa contra microrganismos comumente encontrados na barreira epitelial do intestino.

O sistema imune adaptativo no trato intestinal inclui conjuntos subepiteliais de tecido linfóide denominados tecidos linfóides associados ao intestino (GALT), tais como as tonsilas orofaríngeas, as placas de Peyer no íleo e estruturas similares no cólon. As células M no revestimento epitelial expõem os antígenos no lúmen e os transportam para as células apresentadoras de antígeno no GALT. As células dendríticas da lâmina própria estendem projeções citoplasmáticas através das células de revestimento epitelial do intestino entrando em contato com antígenos luminiais. Existem também linfócitos efetores difusos na lâmina própria do intestino e nos linfonodos mesentéricos.

Os linfócitos B e T, que se diferenciam a partir das células T imaturas no GALT ou nos linfonodos mesentéricos, entram na circulação e seletivamente migram de volta para a lâmina própria do intestino.

A imunidade humoral no trato gastrointestinal é dominada pela secreção de IgA para o lúmen, onde os anticorpos neutralizam potenciais patógenos invasores. As células B no GALT e nos linfonodos mesentéricos diferenciam-se em plasmócitos secretores de IgA, por meio de mecanismos dependentes e independentes de células T; e os plasmócitos migram para a lâmina própria abaixo da barreira epitelial e secretam IgA. A IgA dimerizada é transportada através do epitélio pelo receptor poli-Ig e liberada para o lúmen. Ela também é secretada no leite materno, sendo responsável por mediar a imunidade passiva no intestino de bebês lactentes.

As células T<sub>H</sub>17 no trato intestinal secretam IL-17 e IL-22, que aumentam a função de barreira epitelial. As células T<sub>H</sub>2 são importantes na defesa contra parasitas intestinais. Alterações na flora bacteriana influenciam o balanço entre diferentes respostas das subpopulações de células T auxiliares, tanto no intestino quanto sistemicamente.

As respostas imunes a organismos comensais e a antígenos alimentares no lúmen do trato intestinal são minimizadas por uma expressão seletiva de receptores de reconhecimento de padrões moleculares no citoplasma e nas superfícies basolaterais das células de revestimento epitelial, além da geração de células T regulatórias que suprimem as respostas imunes adaptativas. TGF- $\beta$ , IL-10 e IL-2

são essenciais para manter a homeostase imune na parede intestinal. A tolerância sistêmica a alguns antígenos pode ser induzida com a administração de antígenos na alimentação dos camundongos, um fenômeno denominado tolerância oral.

Várias doenças intestinais estão relacionadas a respostas imunes anormais, incluindo doenças inflamatórias intestinais (doença de Crohn e colite ulcerativa), nas quais as respostas imunes inata e adaptativa à flora normal do intestino não são adequadamente reguladas; e também a doença celíaca, na qual ocorrem respostas humorais e celulares ao glúten provenientes da dieta com trigo.

A imunidade das mucosas no sistema respiratório defende o hospedeiro de patógenos das vias aéreas e é a causa de doenças alérgicas das vias respiratórias, tais como asma. A imunidade inata na árvore brônquica depende do revestimento epitelial ciliado, produtor de muco, que move o muco com microrganismos capturados para fora dos pulmões. As defensinas e proteínas surfactantes, assim como macrófagos alveolares, têm funções antimicrobianas e anti-inflamatórias. As células Treg e as citocinas imunossupressoras são importantes para a prevenção de respostas prejudiciais a organismos não patogênicos ou outros antígenos inalados.

O sistema imune cutâneo defende o hospedeiro da invasão microbiana através da pele e suprime as respostas contra inúmeros organismos comensais. A camada epitelial escamosa queratinizada estratificada, denominada epiderme, realiza as funções de defesa imune inata, fornecendo uma barreira física à invasão microbiana. Os queratinócitos secretam defensinas e citocinas inflamatórias em resposta a produtos microbianos. A derme contém uma população mista de mastócitos, macrófagos e células dendríticas que respondem a microrganismos e lesões, mediando, desse modo, as respostas inflamatórias.

As células dendríticas da pele medeiam as respostas imunes inatas e também transportam antígenos microbianos e ambientais que entram através da pele para os linfonodos drenantes, onde iniciam as respostas de células T. As células T ativadas nos linfonodos drenantes da pele expressam receptores de quimiocinas e moléculas de adesão que favorecem o retorno e o *homing* dessas células na pele.

As células efetoras ou de memória CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> estão presentes na derme. As células TH1, TH2 e TH17 são importantes para a defesa contra diferentes tipos de patógenos invasores da pele e podem contribuir para dermatoses inflamatórias, como psoríase (células TH1 e TH17) e dermatite atópica (células TH2).

Os locais imunologicamente privilegiados, que são tecidos onde as respostas imunes não são prontamente iniciadas, incluem o cérebro, a câmara anterior do olho e o testículo. Os mecanismos de privilégio imunológico incluem a existência de junções de oclusão entre as células endoteliais dos vasos sanguíneos, a produção local de citocinas imunossupressoras e a expressão de moléculas de superfície que inativam ou matam os linfócitos.

A tolerância imunológica materna ao desenvolvimento do feto em mamíferos, que

expressa antígenos alogênicos paternos, depende de mecanismos que atuam localmente na interface materno-fetal placentária. Possíveis mecanismos incluem a ausência de expressão do MHC em trofoblastos fetais, as ações da Treg e a depleção local de triptofano necessário para o crescimento dos linfócitos, mediada pela ação da indolamina 2,3-dioxigenase.

## Leituras selecionadas

### Imunidade das Mucosas, Geral

- Brandtzaeg, P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2009; 70:505–515.
- Doss, M., White, M. R., Tecle, T., Hartshorn, K. L. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity. *Journal of Leukocyte Biology*. 2010; 87:79–92.
- Dubin, P. J., Kolls, J. K. Th17 cytokines and mucosal immunity. *Immunological Reviews*. 2008; 226:160–171.
- Sheridan, B. S., Lefrancois, L. Regional and mucosal memory T cells. *Nature immunology*. 2011; 12:485–491.

### Sistema Imune Gastrintestinal

- Abreu, M. T. Toll-like receptor signaling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:131–144.
- Barnes, M. J., Powrie, F. Regulatory T cells reinforce intestinal homeostasis. *Immunity*. 2009; 31:401–411.
- Brestoff, J. R., Artis, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nature Immunology*. 2013; 14:676–684.
- Brown, E. M., Sadarangani, M., Finlay, B. B. The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine. *Nature Immunology*. 2013; 14:660–667.
- Dommett, R., Zilbauer, M., George, J. T., Bajaj-Elliott, M. Innate immune defense in the human gastrointestinal tract. *Molecular Immunology*. 2005; 42:903–912.
- Duerkop, B. A., Vaishnava, S., Hooper, L. V. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity*. 2009; 31:368–376.
- Eberl, G., Lochner, M. The development of intestinal lymphoid tissues at the interface of self and microbiota. *Mucosal Immunology*. 2009; 2:478–485.
- Hooper, L. V., Macpherson, A. J. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:159–169.
- Johansson-Lindbom, B., Agace, W. W. Generation of gut-homing T cells and their



localization to the small intestinal mucosa. *Immunological Reviews*. 2007; 215:226–242.

Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D., Weaver, C. T. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 2012; 489:231–241.

Maynard, C. L., Weaver, C. T. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity*. 2009; 31:389–400.

Rescigno, M., Di Sabatino, A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2009; 119:2441–2450.

Varol, C., Zigmund, E., Jung, S. Securing the immune tightrope: mononuclear phagocytes in the intestinal lamina propria. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:415–426.

### **Produção de Anticorpos no Sistema Imune Gastrintestinal**

Cerutti, A., Rescigno, M. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*. 2008; 28:740–750.

Fagarasan, S., Kawamoto, S., Kanagawa, O., Suzuki, K. Adaptive immune regulation in the gut T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:243–273.

Macpherson, A. J., McCoy, K. D., Johansen, F. E., Brandtzaeg, P. The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunology*. 2008; 1:11–22.

Mora, J. R., von Andrian, U. H. Differentiation and homing of IgA-secreting cells. *Mucosal Immunology*. 2008; 1:96–109.

### **Sistema Imune Respiratório das Mucosas**

Chen, K., Kolls, J. K. T cell-mediated host immune defenses in the lung. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:605–633.

Holt, P. G., Strickland, D. H., Wikstrom, M. E., Jahnsen, F. L. Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:142–152.

Lambrecht, B. N., Hammad, H. Lung dendritic cells in respiratory viral infection and asthma: from protection to immunopathology. *Annual Reviews of Immunology*. 2012; 30:243–270.

Wissinger, E., Goulding, J., Hussell, T. Immune homeostasis in the respiratory tract and its impact on heterologous infection. *Seminars in Immunology*. 2009; 21:147–155.

### **Sistema Imune Cutâneo**

Clark, R. A. Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity. *Journal of Investigative Dermatology*. 2010; 130:362–370.

- DiMeglio, P., Perera, G. K., Nestle, F. O. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity*. 2011; 35:857–870.
- Heath, W. R., Carbone, F. R. The skin-resident and migratory immune system in steady state and memory: innate lymphocytes, dendritic cells and T cells. *Nature Immunology*. 2013; 14:978–985.
- Jabri, B., Sollid, L. M. Tissue-mediated control of immunopathology in coeliac disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:858–870.
- Kaser, A., Zeissig, S., Blumberg, R. S. Inflammatory bowel disease. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:573–621.
- Kaplan, D. H., Igyártó, B. Z., Gaspari, A. A. Early immune events in the induction of allergic contact dermatitis. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:570–580.
- Khor, B., Gardet, A., Xavier, R. J. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011; 474:307–317.
- Metz, M., Maurer, M. Innate immunity and allergy in the skin. *Current Opinion in Immunology*. 2009; 21:687–693.
- Nestle, F. O., Di Meglio, P., Qin, J. Z., Nickoloff, B. J. Skin immune sentinels in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:679–691.
- Romani, N., Clausen, B. E., Stoitzner, P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunological Reviews*. 2010; 234:120–141.
- Weaver, C. T., Elson, C. O., Fouser, L. A., Kolls, J. K. The Th17 pathway and inflammatory diseases of the intestines, lungs, and skin. *Annual Review of Pathology*. 2013; 24:477–512.

### **Outros Sistemas Imunes Especializados**

- Erlebacher, A. Mechanisms of T cell tolerance towards the allogeneic fetus. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:23–33.
- Streilein, J. W. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*. 2003; 74:179–185.
- von Rango, U. Fetal tolerance in human pregnancy—a crucial balance between acceptance and limitation of trophoblast invasion. *Immunology Letters*. 2008; 115:21–32.

## CAPÍTULO 15

# Tolerância Imunológica e Autoimunidade

### VISÃO GERAL DA TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA

#### TOLERÂNCIA DOS LINFÓCITOS T

Tolerância Central da Célula T

Tolerância Periférica da Célula T

Fatores que Determinam a Tolerogenicidade de Autoantígenos

#### TOLERÂNCIA DOS LINFÓCITOS B

Tolerância Central da Célula B

Tolerância Periférica da Célula B

#### TOLERÂNCIA INDUZIDA POR ANTÍGENOS PROTEICOS EXTERNOS

#### MECANISMOS DE AUTOIMUNIDADE

Características Gerais das Doenças Autoimunes

Anormalidades Imunológicas que Levam à Autoimunidade

Bases Genéticas da Autoimunidade

Papel das Infecções na Autoimunidade

Outros Fatores na Autoimunidade

#### RESUMO

Define-se tolerância imunológica como a não responsividade a um antígeno, conseguida por meio da exposição prévia ao mesmo. O termo “tolerância imunológica” surgiu a partir de observações experimentais de que animais que já haviam entrado em contato com um antígeno (em condições particulares) tolerariam, ou seja, não responderiam às exposições subsequentes ao mesmo antígeno. Quando linfócitos específicos encontram antígenos, estes podem ser ativados, induzindo respostas imunológicas; esses linfócitos também podem ser inativados ou eliminados, levando à tolerância. Formas diferentes de um mesmo antígeno podem levar à resposta imunológica ou à tolerância. Os antígenos que induzem a tolerância são chamados de tolerógenos, ou antígenos tolerogênicos, a fim de distingui-los dos imunógenos, que geram imunidade. Um único antígeno pode ser um imunógeno ou

um tolerógeno, dependendo da forma como é apresentado aos linfócitos específicos, seja na presença ou na ausência, respectivamente, de inflamação e respostas imunológicas inatas. A tolerância aos autoantígenos, também chamada de **autotolerância**, é uma propriedade fundamental do sistema imunológico normal; a falha na autotolerância resulta em reações imunológicas contra antígenos próprios (autoantígenos ou antígenos autólogos). Essas reações são conhecidas pelo nome de “**autoimunidade**”, e as doenças causadas pelas mesmas são denominadas **doenças autoimunes**. A importância da autotolerância para a saúde dos indivíduos foi investigada desde os primórdios da imunologia. No [Capítulo 1](#), introduziu-se o conceito de discriminação própria e não própria, que consiste na habilidade do sistema imunológico em reconhecer e responder a antígenos estranhos, mas não aos antígenos do próprio corpo. Macfarlane Burnet adicionou à sua hipótese de seleção clonal o corolário de que linfócitos específicos para autoantígenos são eliminados a fim de prevenir reações imunológicas do indivíduo contra seus próprios tecidos. A elucidação dos mecanismos de autotolerância é a chave para compreender a patogênese da autoimunidade.

Neste capítulo, será discutida a tolerância imunológica, principalmente no contexto da autotolerância, e como a autotolerância pode falhar, resultando em autoimunidade. Também serão considerados a tolerância a agentes externos e o potencial de indução à tolerância como uma estratégia terapêutica para as doenças alérgicas e autoimunes, bem como na prevenção da rejeição de células e órgãos transplantados.

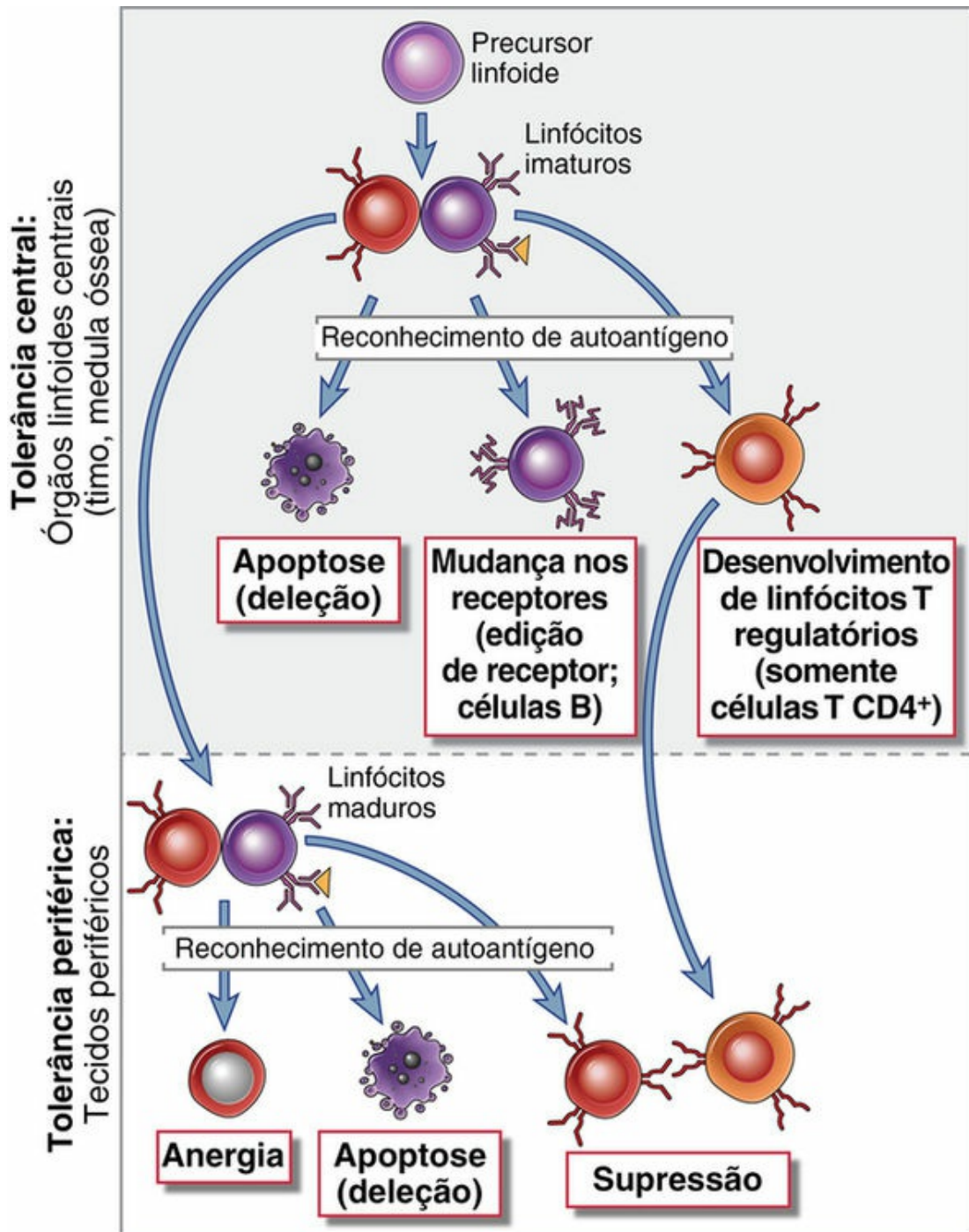
## Visão geral da tolerância imunológica

Há diversas características de tolerância nas populações de linfócitos T e B. É importante explorar os princípios gerais antes de discutir os mecanismos específicos de tolerância nesses linfócitos.

- **Indivíduos normais são tolerantes aos seus próprios antígenos porque os linfócitos responsáveis pelo reconhecimento dos autoantígenos estão eliminados ou inativados, ou a especificidade destes linfócitos encontra-se alterada.** Essencialmente, todos os indivíduos herdam os mesmos segmentos gênicos de receptor de antígeno, e estes são recombinados e expressos pelos linfócitos quando essas células surgem a partir de suas células precursoras. As especificidades dos receptores codificados pelos genes recombinados são aleatórias e não são influenciadas pelo que é externo ou próprio no organismo de cada indivíduo ([Cap. 8](#)). Não é de surpreender que, durante o processo de geração de um repertório grande e diversificado, algumas células T e B em desenvolvimento em todo indivíduo possam expressar receptores capazes de reconhecer moléculas normais daquele indivíduo (p. ex., autoantígenos). Portanto, existe um risco de os linfócitos reagirem contra as células e tecidos daquele

indivíduo, causando doença. Os mecanismos de tolerância imunológica evoluíram para prevenir essas reações.

- ***A tolerância resulta do reconhecimento dos antígenos por linfócitos específicos.*** Em outras palavras, a tolerância, por definição, é antígeno-específica. Isso contrasta com a imunossupressão terapêutica, que afeta linfócitos com muitas especificidades. O principal avanço que permitiu o estudo da tolerância pelos imunologistas foi a habilidade de induzir esse fenômeno em animais, mediante exposição a antígenos definidos sob condições variadas, para depois analisar a sobrevivência e o funcionamento dos linfócitos que encontraram seus antígenos. Peter Medawar e colaboradores mostraram, na década de 1950, que camundongos neonatos de uma determinada cepa, quando expostos às células de outras cepas, tornaram-se não responsivos a subseqüentes enxertos de pele oriundos da cepa dos doadores. Estudos posteriores mostraram que a tolerância poderia ser induzida não somente por células externas, mas também por proteínas e outros antígenos.
- ***A autotolerância pode ser induzida em linfócitos autorreativos imaturos nos órgãos linfoides centrais (tolerância central) ou em linfócitos maduros em locais periféricos (tolerância periférica) (Fig. 15-1).*** A tolerância central certifica-se de que o repertório de linfócitos maduros se torne incapaz de responder a autoantígenos que são expressos nos órgãos linfoides centrais (timo – para as células T; medula óssea – para os linfócitos B). Entretanto, a tolerância central não é perfeita e alguns linfócitos autorreativos acabam por completar sua maturação. Dessa maneira, os mecanismos de tolerância periférica são necessários para prevenir a ativação desses linfócitos potencialmente perigosos.



**FIGURA 15-1** Tolerância central e periférica a autoantígenos.

Linfócitos imaturos específicos para autoantígenos podem encontrar tais antígenos nos órgãos linfoides centrais e são deletados, mudam sua especificidade (somente células B) ou (no caso das células T CD4<sup>+</sup>) diferenciam-se em linfócitos regulatórios (tolerância central). Alguns linfócitos autorreativos podem amadurecer e entrar nos tecidos periféricos, onde podem ser inativados ou deletados ao encontrarem autoantígenos nesses tecidos, ou podem ser suprimidos



pelas células T regulatórias (tolerância periférica). Observe que as células T reconhecem antígenos apresentados por células apresentadoras de antígenos (*não mostrado*).

- ***A tolerância central ocorre durante um estágio de maturação dos linfócitos, no qual o encontro com um antígeno pode levar à morte celular ou à substituição de um receptor de antígeno autorreativo por outro que não apresente esta condição.*** Os órgãos linfoides centrais contêm, principalmente, autoantígenos e antígenos internos, porque os antígenos estranhos (p. ex., microrganismos) que entram a partir do ambiente externo costumam ser capturados e levados para os órgãos linfoides periféricos, como linfonodos, baço e tecidos linfoides associados às mucosas (não ficam concentrados no timo ou na medula óssea). Os antígenos normalmente presentes no timo e na medula óssea incluem autoantígenos amplamente disseminados, inclusive aqueles adquiridos através do sangue. Além disso, muitos antígenos periféricos tecido-específicos são expressos no timo através de um mecanismo especial que será descrito posteriormente. Portanto, nos órgãos linfoides centrais, os linfócitos imaturos que reconhecem especificamente antígenos são, tipicamente, células específicas para autoantígenos (e não para antígenos externos/estranhos). Os destinos dos linfócitos imaturos que reconhecem autoantígenos com alta afinidade serão descritos a seguir ([Fig. 15-1](#)).
- ***A tolerância periférica desencadeia-se quando linfócitos maduros reconhecem autoantígenos e morrem por apoptose ou quando se tornam incapazes de serem ativados pela reexposição àquele antígeno.*** A tolerância periférica é importante para a manutenção da não responsividade a autoantígenos que são expressos em tecidos periféricos (e não nos órgãos linfoides centrais) e para a tolerância a autoantígenos que somente são expressos na vida adulta, após a produção de muitos linfócitos maduros específicos para este antígeno. Conforme mencionado anteriormente, os mecanismos periféricos também podem servir como um suporte para os mecanismos centrais, caso não eliminem todos os linfócitos autorreativos.
- ***A tolerância periférica também é mantida pelas células T regulatórias (T<sub>reg</sub>) que suprimem ativamente os linfócitos autoantígeno-específicos.*** A supressão pelas células T<sub>reg</sub> ocorre nos órgãos linfoides secundários e nos tecidos não linfoides.
- ***Alguns autoantígenos são sequestrados do sistema imunológico e outros antígenos são ignorados.*** Antígenos podem ser capturados do sistema imunológico por barreiras anatômicas, como nos testículos e nos olhos, e assim, não podem encontrar seus receptores ([Cap. 14](#)). Em modelos experimentais, alguns autoantígenos encontram-se disponíveis para o reconhecimento pelos linfócitos, mas, por motivos desconhecidos, falham em suscitar qualquer resposta e

são funcionalmente ignorados. A importância deste fenômeno de ignorar o antígeno a fim de manter a autotolerância ainda não foi estabelecida.

- **Antígenos externos, na ausência de sinais coestimulatórios, podem inibir as respostas imunológicas por meio da indução da tolerância em linfócitos específicos.** Muitos dos mecanismos de tolerância a antígenos externos são similares àqueles da autotolerância em linfócitos maduros (tolerância periférica). Alguns microrganismos e tumores também escapam do ataque imunológico, induzindo a não responsividade em linfócitos específicos.

- **A indução da tolerância imunológica foi explorada como abordagem terapêutica para a prevenção de respostas imunológicas prejudiciais.** Grandes esforços estão sendo realizados no sentido de desenvolver estratégias para induzir a tolerância e ajudar no tratamento de doenças alérgicas e autoimunes, bem como para prevenir a rejeição nos transplantes de órgãos. A indução da tolerância também pode ser útil para prevenir reações imunológicas contra os produtos de novos genes expressos em protocolos de terapia gênica, para prevenir reações a proteínas injetadas em pacientes com deficiências proteicas (p. ex., hemofílicos tratados com fator VIII) e para promover a aceitação em transplantes de células-tronco.

Abordagens experimentais, em especial as que envolvem a criação de camundongos modificados geneticamente, forneceram modelos valiosos para a análise da autotolerância; muitos dos nossos conceitos atuais baseiam-se nos estudos com esses modelos. Além disso, por meio da identificação dos genes que podem estar associados à autoimunidade em camundongos e humanos, passou a ser possível deduzir alguns dos mecanismos críticos da autotolerância. Contudo, ainda não se sabe quais autoantígenos induzem tolerância central ou periférica (ou quais são ignorados). E mais importante, ainda não se sabe quais mecanismos de tolerância podem falhar nas doenças autoimunes humanas mais comuns; isso permanece como um desafio principal no entendimento da autoimunidade.

Nas seções a seguir, serão discutidas as tolerâncias central e periférica, primeiramente nas células T e depois nos linfócitos B, porém muitos aspectos desses processos são comuns a ambas as linhagens.

## Tolerância dos linfócitos T

A tolerância dos linfócitos T auxiliares CD4<sup>+</sup> é uma forma eficaz de prevenir tanto as respostas imunológicas mediadas por células quanto as respostas imunológicas humorais a antígenos proteicos, uma vez que as células T auxiliares são indutores necessários a todas essas respostas. Essa constatação serviu de ímpeto para uma grande quantidade de trabalhos a respeito dos mecanismos de tolerância nas células T CD4<sup>+</sup>. Imunologistas desenvolveram modelos experimentais para estudar a tolerância em células T CD4<sup>+</sup> que mostraram ser instrutivos. Além disso, muitas

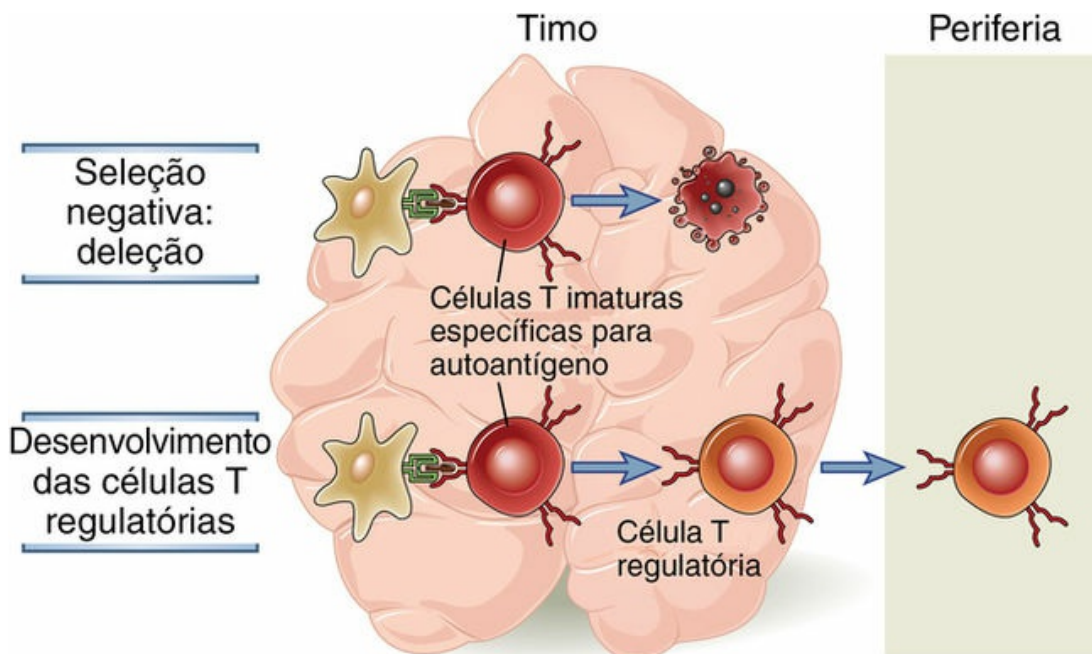
estratégias terapêuticas que estão sendo desenvolvidas a fim de induzir a tolerância a transplantes e autoantígenos têm como foco principal a inativação ou eliminação dessas células T. Por isso, a maior parte da discussão a seguir, especialmente sobre tolerância periférica, prioriza as células T CD4<sup>+</sup>. Sabe-se menos sobre tolerância periférica em células T CD8<sup>+</sup>, e o que já é senso comum encontra-se resumido ao final desta seção.

## Tolerância Central da Célula T

***Durante sua maturação no timo, muitas células T imaturas que reconhecem antígenos com grande avides são deletadas e algumas das células***

***sobreviventes na linhagem CD4<sup>+</sup> transformam-se em células T regulatórias***

(Fig. 15-2). O processo de **deleção** (ou **seleção negativa**) de linfócitos T no timo foi descrito anteriormente (Cap. 8), na discussão sobre maturação da célula T. Este processo afeta células T restritas ao compartimento MHC de classes I e II, sendo importante para a tolerância nas populações de linfócitos CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>. A seleção negativa de tímócitos é responsável pelo fato de que o repertório de células T maduras que deixam o timo e povoam os tecidos linfoides periféricos não responde a muitos autoantígenos que estão presentes no timo. Os dois principais fatores que determinam se um autoantígeno particular induzirá a seleção negativa de tímócitos autorreativos são: (1) a presença daquele antígeno no timo (por expressão local ou chegada através da corrente sanguínea) e (2) a afinidade dos receptores de célula T dos tímócitos (RCTs) que reconhecem o antígeno. Portanto, as questões que realmente são relevantes para a seleção negativa são: (1) quais são os autoantígenos presentes no timo e (2) de que forma as células T imaturas que reconhecem esses antígenos são deletadas.

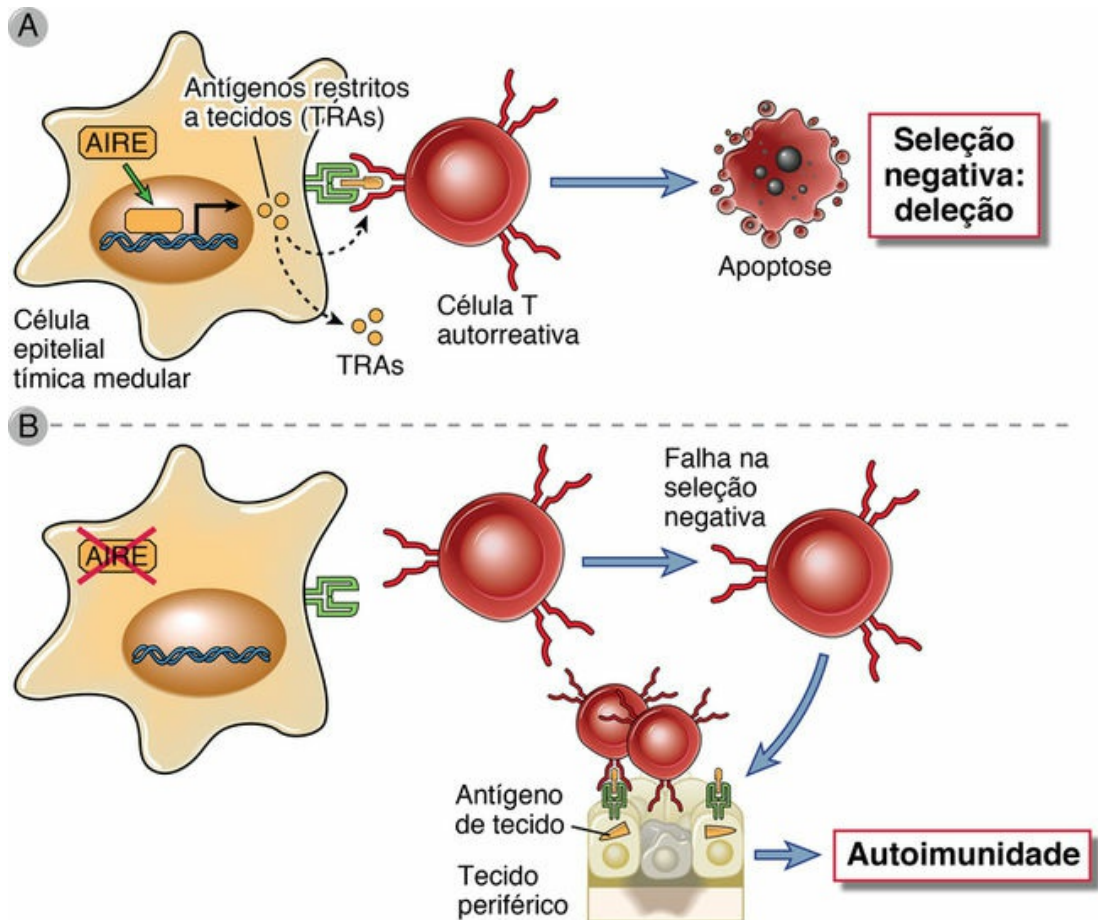


**FIGURA 15-2** Tolerância central da célula T. O reconhecimento de autoantígenos por células T imaturas no timo leva à morte dessas células (seleção negativa ou deleção) ou ao desenvolvimento de células T regulatórias que entram nos tecidos periféricos.

A seleção negativa ocorre em células T duplamente positivas no córtex tímico e em células T unicamente positivas produzidas na medula. Em ambas as localizações, timócitos imaturos com receptores de alta afinidade para autoantígenos, que encontram estes antígenos, morrem por apoptose. A sinalização por receptor de célula T (TCR) em células T imaturas dispara a via mitocondrial da apoptose. Os mecanismos de apoptose serão descritos mais adiante neste capítulo, quando discutirmos sobre a deleção enquanto mecanismo de tolerância de célula T periférica. Claramente, linfócitos imaturos e maduros interpretam de maneiras diferentes os sinais dos receptores de antígenos – os linfócitos imaturos morrem e os maduros são ativados. Não se sabe a base bioquímica dessa diferença.

Os antígenos que estão presentes no timo incluem muitas proteínas circulantes e proteínas associadas a células que estão amplamente distribuídas nos tecidos. O timo ainda conta com um mecanismo especial para expressar muitos antígenos de proteínas que, em geral, estão presentes somente em determinados tecidos periféricos, de modo que células T imaturas específicas para esses antígenos podem ser deletadas do repertório de células T em desenvolvimento. Esses antígenos de tecidos periféricos são expressos nas células epiteliais medulares tímicas sob o controle da **proteína reguladora autoimune** (AIRE, do inglês *autoimmune regulator*). Mutações no gene *AIRE* são a causa de uma doença autoimune que afeta diversos órgãos, chamada de **síndrome poliglandular autoimune tipo 1** (APS1, do inglês

*autoimmune polyendocrine syndrome type 1*). Este grupo de doenças caracteriza-se por lesões causadas por anticorpos e lesões mediadas por linfócitos que atingem diversos órgãos endócrinos, incluindo paratireoides, adrenais e ilhotas pancreáticas. Desenvolveu-se um modelo de camundongo para APS1 através da deleção do gene *AIRE*, recapitulando muitas características da doença humana. Estudos em camundongos mostraram que várias proteínas que são produzidas em órgãos periféricos (assim como a insulina pancreática) também são expressas em níveis baixos nas células epiteliais da medula tímica; além disso, células T imaturas que reconhecem esses antígenos são deletadas no timo. Na ausência de *AIRE* funcional (como em pacientes com APS1 e camundongos deficientes), esses antígenos não são exibidos no timo e as células T específicas para tais antígenos escapam da deleção, sofrem maturação e dirigem-se para a periferia, onde atacam os tecidos-alvo (nos quais os antígenos são expressos independentemente de *AIRE*) (Fig. 15-3). A proteína *AIRE* pode funcionar como um regulador transcricional para promover a expressão de antígenos restritos a tecidos selecionados, no timo. É um componente de um complexo multiproteico que está envolvido no alongamento transcricional e desdobramento e remodelagem da cromatina. Ainda não se sabe de que forma a *AIRE* dirige a expressão de uma vasta gama de antígenos de tecidos em uma única população celular no timo.



**FIGURA 15-3** Função de AIRE na deleção de células T no timo.

**A**, A proteína AIRE é parte de um complexo que regula a expressão de antígenos restritos a tecidos (TRAs, do inglês *tissue-restricted antigens*) nas células epiteliais da medula do timo (MTEC). Peptídeos derivados desses antígenos são mostrados nas MTEC e reconhecidos por células T antígeno-específicas imaturas, levando à deleção de muitas células T autorreativas. **B**, Na ausência de AIRE funcional, essas células T autorreativas não são eliminadas; elas podem entrar nos tecidos onde os antígenos continuam a ser produzidos e causar danos.

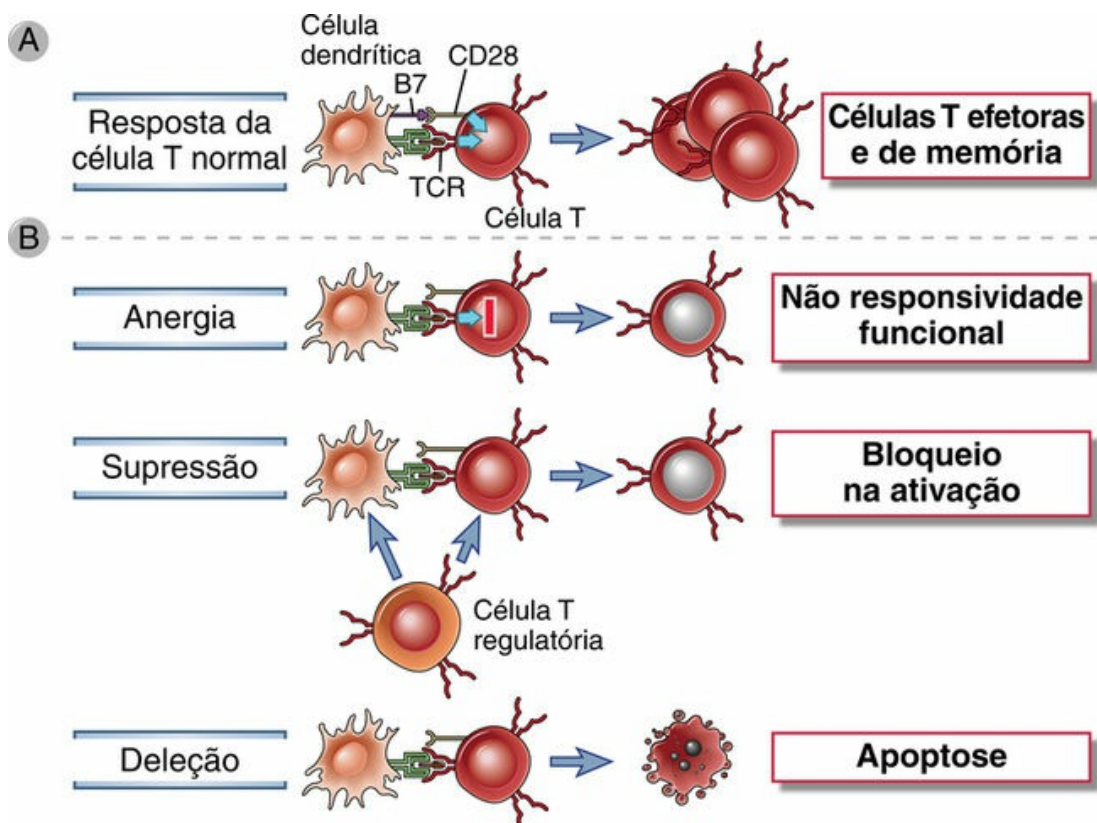
**Algumas células T CD4+ autorreativas que encontram autoantígenos no timo não são deletadas, mas, ao contrário disso, diferenciam-se em células T regulatórias específicas para esses antígenos (Fig. 15-2).** As células regulatórias deixam o timo e inibem as respostas contra autoantígenos na periferia. Também ainda não se sabe o que determina a escolha entre a deleção e o desenvolvimento das células T regulatórias. Possíveis fatores incluem a afinidade de reconhecimento do antígeno, os tipos de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen*



presenting cells) que apresentam o antígeno e a disponibilidade de certas citocinas localmente no timo. As funções e características das células T regulatórias serão descritas posteriormente, no contexto da tolerância periférica, porque essas células suprimem as respostas imunológicas na periferia.

## Tolerância Periférica da Célula T

Os mecanismos de tolerância periférica são (1) **anergia (não responsividade funcional)**, (2) **supressão pelas células T regulatórias** e (3) **deleção (morte celular)** (Fig. 15-4). Esses mecanismos podem ser responsáveis pela tolerância da célula T a autoantígenos tecido-específicos, especialmente aqueles que não são abundantes no timo. Não se sabe se a tolerância a diferentes autoantígenos é mantida por um ou outro mecanismo ou se todos esses mecanismos funcionam cooperativamente para prevenir a autoimunidade. Os mesmos mecanismos podem induzir não responsividade a formas tolerogênicas de antígenos externos.



**FIGURA 15-4** Mecanismos de tolerância periférica da célula T.

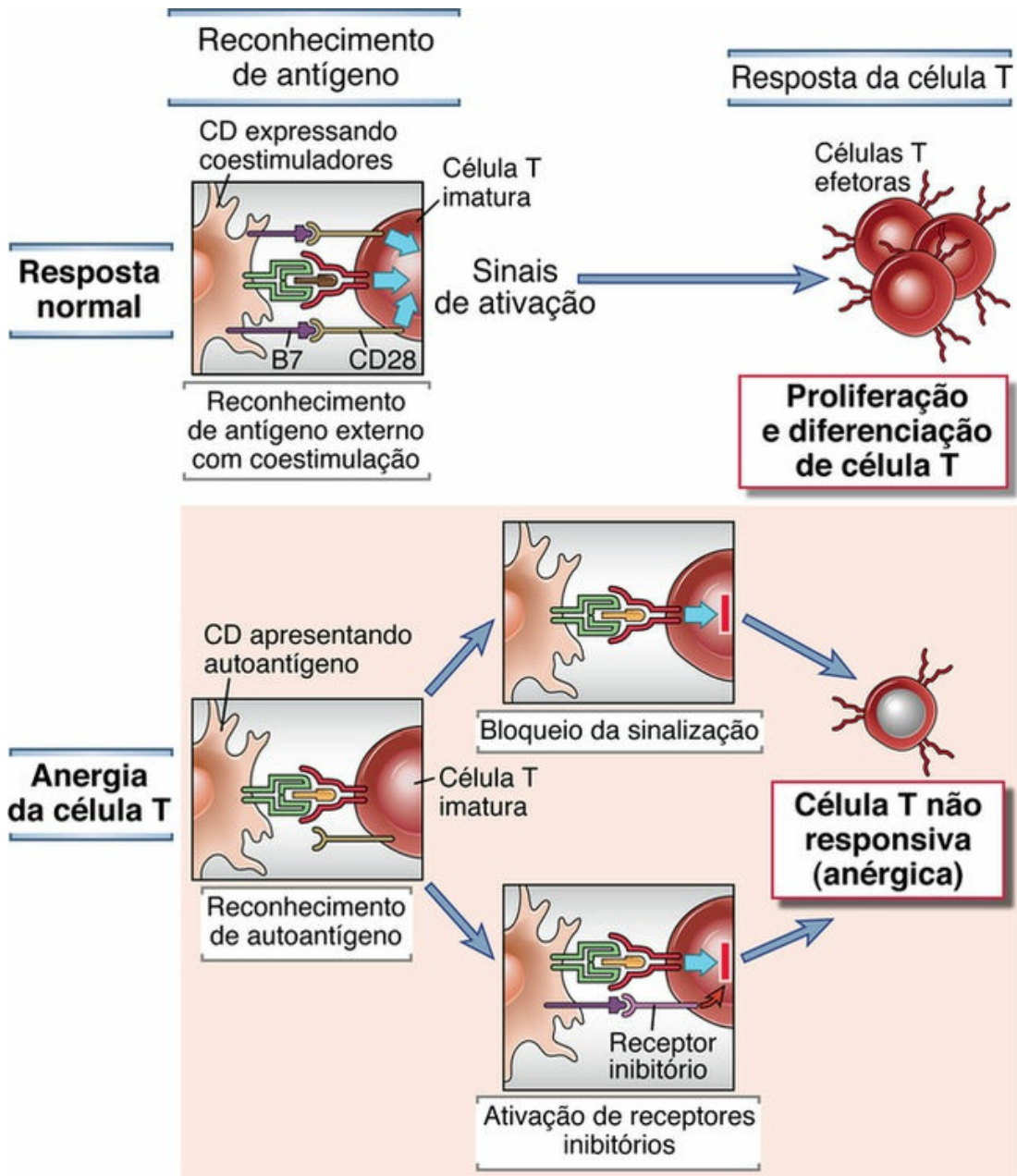
Os sinais envolvidos em uma resposta imunológica normal (A) e os três principais mecanismos de tolerância periférica da célula T (B) encontram-se ilustrados.

## Anergia (Não Responsividade Funcional)

**A exposição de células T CD4<sup>+</sup> maduras a um antígeno, na ausência de coestimulação ou imunidade inata, pode tornar as células incapazes de responder àquele antígeno.** Neste processo, conhecido como anergia, as células autorreativas não morrem, mas tornam-se não responsivas a um antígeno.

Anteriormente, introduziu-se o conceito de que a ativação total das células T requer o reconhecimento do antígeno pelo TCR (que fornece o sinal 1) e dos coestimuladores, principalmente B7-1 e B7-2, pelo CD28 (sinal 2) (Cap. 9). O sinal 1 prolongado, quando sozinho (p. ex., reconhecimento de antígeno), pode levar à anergia. Parece que os autoantígenos são exibidos continuamente às células T específicas, na ausência de imunidade inata e forte coestimulação. A anergia induzida por alérgeno foi demonstrada em uma grande variedade de modelos experimentais, incluindo (1) estudos com clones de células T expostos a antígenos *in vitro* (o que serviu de base para a definição original de anergia), (2) estudos nos quais antígenos foram administrados sem adjuvantes aos camundongos e (3) estudos com camundongos transgênicos, nos quais antígenos de proteínas específicas são expressos ao longo da vida e reconhecidos pelas células T na ausência de inflamação e de respostas imunológicas inatas que normalmente acompanham a exposição aos microrganismos. Em muitas destas situações, as células T que reconhecem os antígenos tornam-se funcionalmente não responsivas e sobrevivem por dias ou semanas em estado quiescente.

A anergia resulta de alterações bioquímicas que reduzem a habilidade dos linfócitos em responder aos sinais de seus receptores de antígenos (Fig. 15-5). Acredita-se que diversas vias bioquímicas cooperam para a manutenção desse estado não responsivo.



**FIGURA 15-5** Mecanismos de anergia da célula T. As respostas das células T são induzidas quando as células reconhecem um antígeno apresentado por uma célula apresentadora de antígeno profissional (APC) e os receptores de ativação nas células T (como o CD28) reconhecem coestimuladores nas APCs (como o B7). Se a célula T reconhece um autoantígeno sem coestimulação, a célula T torna-se não responsiva ao antígeno, por causa de um bloqueio na sinalização do complexo TCR ou do envolvimento de receptores inibitórios (como o CTLA-4 e o PD-1). O sinal de bloqueio pode ser resultado do recrutamento de fosfatases para o complexo TCR ou da

ativação de ubiquitina ligases que degradam proteínas de sinalização. A célula T permanece viável, mas não é capaz de responder ao autoantígeno. CD, célula dendrítica.

- **A transdução de sinal induzida pelo TCR é bloqueada em células anérgicas.** Os mecanismos deste sinal de bloqueio não são completamente conhecidos. Em diferentes modelos experimentais, atribui-se esse sinal à expressão diminuída de TCR (talvez em virtude da degradação aumentada; ver posteriormente) e ao recrutamento de moléculas inibitórias, como as tirosinofosfatases, para o complexo TCR.
- **O reconhecimento de autoantígenos pode ativar as ubiquitinas ligases celulares, que ubiquitinam as proteínas associadas ao TCR e as direcionam para a degradação proteolítica nos proteossomos ou lisossomos.** O resultado final é a perda dessas moléculas de sinalização e ativação defeituosa das células T (Cap. 7, Fig. 7-22). Uma ubiquitina ligase importante para as células T é chamada de Cbl-b. Camundongos deficientes para a proteína Cbl-b mostram proliferação espontânea de células T e manifestações de autoimunidade, sugerindo que essa enzima está envolvida na manutenção da não responsividade da célula T aos autoantígenos. Ainda não se sabe por que o reconhecimento de autoantígenos (que ocorre tipicamente sem forte coestimulação) ativa essas ubiquitina ligases, enquanto antígenos externos que são reconhecidos com coestimulação as ativam muito menos, ou simplesmente não o fazem.
- **Quando as células T reconhecem autoantígenos, estas podem engajar receptores inibitórios da família CD28, cuja função é inibir as respostas da célula T.** As funções dos receptores inibitórios de células T mais conhecidos encontram-se descritas na seção adiante.

## Regulação das Respostas das Células T por Receptores Inibitórios

Introduziu-se anteriormente o conceito geral de que o resultado do reconhecimento do antígeno pelas células T, particularmente as células CD4<sup>+</sup>, é determinado por um equilíbrio entre a atividade de receptores de ativação e de inibição. Embora tenham sido descritos muitos receptores de inibição, há dois destes cujos papéis fisiológicos estão mais bem estabelecidos na autotolerância: o CTLA-4 e o PD-1. Estudos sobre esses receptores inibitórios aumentaram o entendimento a respeito dos mecanismos de tolerância, levando a novas abordagens terapêuticas para a manipulação das respostas imunológicas. As funções e os mecanismos de ação desses receptores serão discutidos adiante.

**CTLA-4.** O CTLA-4 é um membro da família de receptores CD28 (Fig. 9-5) e, assim como o receptor de ativação CD28, liga-se às moléculas B7. Explica-se a importância do CTLA-4 na indução da tolerância através do achado de que camundongos deficientes para CTLA-4 desenvolvem ativação descontrolada dos

linfócitos, com linfonodos e baço maciçamente aumentados, além de infiltrados linfocíticos fatais em órgãos múltiplos (sugestivos de autoimunidade sistêmica). Em outras palavras, a eliminação deste único mecanismo de controle resulta na falha da tolerância periférica e em doença grave mediada por célula T. O bloqueio do CTLA-4 com anticorpos também potencializa as doenças autoimunes em modelos animais, tais como (1) a encefalomielite induzida por imunização com antígenos de mielina e (2) o diabetes induzido por células T reativas a antígenos das células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas. Os polimorfismos do gene *CTLA4* estão associados a diversas doenças autoimunes em humanos, incluindo diabetes tipo 1 e doença de Graves. Todos esses achados, bem como resultados de ensaios clínicos discutidos adiante, indicam que o CTLA-4 funciona continuamente para manter as células T autorreativas sob controle.

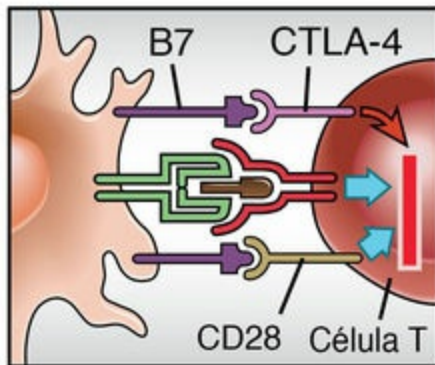
O CTLA-4 apresenta duas ações importantes:

- A expressão do CTLA-4 é baixa na maioria das células T até que as mesmas sejam ativadas por um antígeno; uma vez expresso, o CTLA-4 termina a ativação contínua dessas células T responsivas.
- O CTLA-4 é expresso nas células T regulatórias, descritas posteriormente, mediando a função supressiva dessas células por meio da inibição da ativação de células imaturas.

Acredita-se que o CTLA-4 seja capaz de mediar sua atividade inibitória por dois mecanismos principais ([Fig. 15-6](#)):

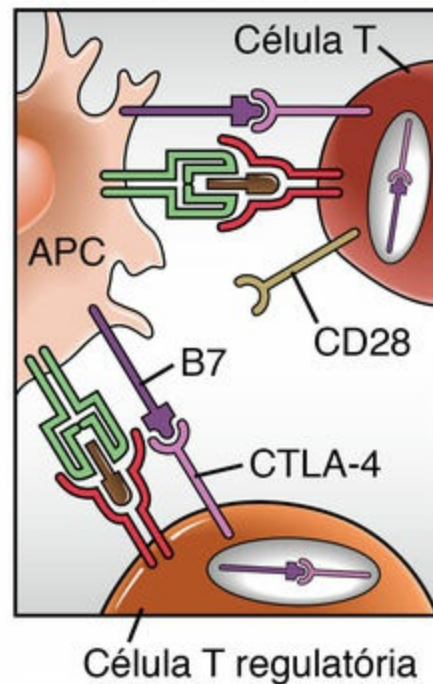


**A** Sinal inibitório intrínseco à célula



**Bloqueio de sinal: inibição da ativação da célula T**

**B** Bloqueio e remoção de B7 na APC



**Coestimulação de B7 reduzida ⇒ inibição da ativação da célula T**

**FIGURA 15-6** Mecanismos de ação do CTLA-4.

**A**, A ativação do CTLA-4 em uma célula T pode transmitir sinais inibitórios que extinguem ativações posteriores desta célula (função intrínseca celular do CTLA-4). **B**, O CTLA-4, em células T regulatórias ou células T responsivas, liga-se às moléculas B7 nas APCs ou remove essas moléculas da superfície das APCs, fazendo com que os coestimuladores B7 fiquem indisponíveis para o CD28, bloqueando a ativação da célula T. A inibição mediada por CTLA-4 através de células T regulatórias é uma ação deste receptor inibitório, extrínseca à célula (a partir do momento em que células T responsivas são suprimidas por outra célula).

- **Bloqueio de sinalização.** A ligação do CTLA-4 ao B7 (coestimulador) ativa a fosfatase, que remove fosfatos das moléculas de sinalização associadas ao TCR e ao CD28, terminando então as respostas.
- **Redução da disponibilidade de B7.** O CTLA-4, especialmente nas células T regulatórias, liga-se às moléculas B7 das APCs, impedindo-as de se ligarem ao



CD28. O CTLA-4 também captura e faz endocitose das moléculas B7, reduzindo a expressão destas nas APCs. O resultado final é que se reduz o nível de B7 nas APCs disponíveis para se ligarem ao CD28 e a deficiência de coestimulação leva à resposta diminuída da célula T.

Ainda não está claro o que determina se (1) o CD28 vai se ligar às moléculas B7 para ativar as células T (p. ex., tendo infecções ou imunizações como adjuvantes) ou se (2) o CTLA-4 vai se ligar a B7 para bloquear as respostas das células T (p. ex., quando autoantígenos são apresentados). No [Capítulo 9](#), discutiu-se a hipótese de que o CTLA-4 (que tem maior afinidade por B7 do que o CD28) está preferencialmente envolvido quando as APCs estão apresentando autoantígenos e manifestando baixa expressão de B7. Ao contrário, microrganismos aumentam a expressão de B7 e inclinam o equilíbrio da balança em direção ao recrutamento de CD28 e ativação de célula T. Outras possibilidades são de que o CD28 (expresso em células imaturas) se ligue a B7 no início da resposta da célula T e o CTLA-4 (expresso após a ativação das células T) contribua para o encerramento dessas respostas.

A percepção de que o CTLA-4 define pontos de controle nas respostas imunológicas levou à ideia de que a ativação do linfócito pode ser feita ao reduzir-se a inibição, processo conhecido como bloqueio de pontos de controle. O bloqueio de CTLA-4 com anticorpos resulta em respostas imunológicas aumentadas aos tumores ([Cap. 18](#)). Atualmente, o anticorpo anti-CTLA-4 está aprovado para o tratamento de melanomas avançados, sendo eficaz também em outros tipos de câncer. De forma previsível, alguns dos pacientes tratados desenvolvem manifestações de autoimunidade com inflamação em vários órgãos.

**PD-1.** O PD-1 é outro receptor inibitório da família CD28 (morte celular programada 1, do inglês *programmed cell death 1*; o PD-1 tem esse nome porque originalmente acreditava-se que estava envolvido na morte celular programada, mas agora já se sabe que o mesmo não tem nenhum papel na apoptose da célula T). O PD-1 reconhece dois ligantes, conhecidos como PD-L1 e PD-L2. O PD-L1 é expresso nas APCs e em muitas células de outros tecidos, ao passo que o PD-L2 se expressa principalmente nas APCs. O acoplamento de PD-1 com qualquer um dos seus ligantes leva à inativação das células T. Camundongos deficientes para PD-1 desenvolvem doenças autoimunes, incluindo doença renal semelhante ao lúpus e artrite em diferentes cepas puras. As doenças autoimunes em camundongos deficientes para PD-1 são menos graves que em animais deficientes para CTLA-4. O PD-1 inibe as respostas das células T à estimulação por antígeno, provavelmente mediante indução de sinais inibitórios nas células T. O bloqueio de pontos de controle com anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 vem mostrando ainda mais eficiência e menor toxicidade do que o anti-CTLA-4 em diversos tipos de câncer ([Cap. 18](#)).

Embora o CTLA-4 e o PD-1 sejam receptores inibitórios da mesma família, suas funções não se sobrepõem. O CTLA-4 pode ser mais importante no controle da

ativação inicial das células CD4<sup>+</sup> em órgãos linfoides, além de ser um mediador da função supressiva das células T regulatórias; por sua vez, o PD-1 é claramente importante no término das respostas periféricas das células T efetoras, especialmente as células CD8<sup>+</sup>, podendo não ser necessário para a função de células T regulatórias. Além do mais, muitos outros receptores inibitórios já foram identificados, incluindo alguns que pertencem à família de receptores TNF e outros que pertencem à família TIM. Há grande interesse em definir o papel desses receptores na autotolerância e na regulação das respostas imunológicas, com o potencial de transformar essas moléculas em alvos terapêuticos.

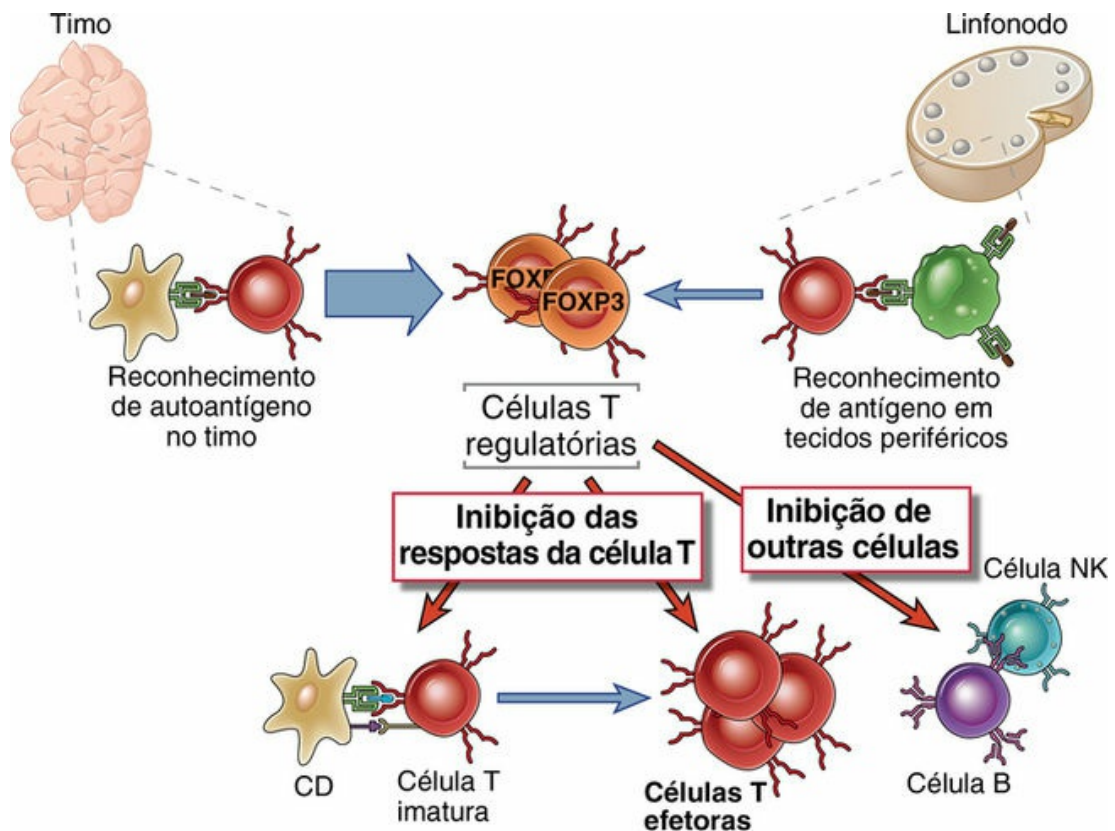
## Supressão pelas Células T Regulatórias

O conceito de que alguns linfócitos poderiam controlar as respostas de outros linfócitos foi proposta há vários anos atrás e, rapidamente, seguiram-se demonstrações experimentais de populações de linfócitos T que suprimiam respostas imunológicas. Esses resultados iniciais levaram a um grande interesse no assunto, fazendo com que as *células T supressoras* se tornassem um dos tópicos dominantes na área de pesquisa em imunologia na década de 1970. Entretanto, esse campo de estudo teve uma história um tanto confusa, principalmente porque as tentativas iniciais de definir as populações de células supressoras e seus mecanismos de ação foram muito malsucedidas. Mais de 20 anos depois, a ideia renasceu de uma forma impressionante, com a aplicação de melhores abordagens para definir, purificar e analisar populações de linfócitos T que inibiam respostas imunológicas. Estas células são chamadas de *linfócitos T regulatórios*; suas propriedades e funções encontram-se descritas adiante.

### ***Linfócitos T regulatórios são um subconjunto de células T CD4<sup>+</sup> cuja função é suprimir as respostas imunológicas e manter a autotolerância***

(Fig. 15-7). A maioria desses linfócitos T regulatórios CD4<sup>+</sup> expressam altos níveis da cadeia  $\alpha$  do receptor de interleucina-2 (IL-2), denominada CD25. Um fator de transcrição chamado FoxP3 (membro da família de fatores de transcrição *forkhead*) é crítico para o desenvolvimento e função da maioria das células T regulatórias. Camundongos com mutações espontâneas ou induzidas experimentalmente no gene *foxp3* desenvolvem uma doença autoimune multissistêmica associada à ausência de células T regulatórias CD25<sup>+</sup>. Uma doença autoimune rara em humanos, chamada síndrome de IPEX (desregulação imunológica, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X), é causada por mutações no gene *FOXP3* e está associada à deficiência das células T regulatórias. Essas observações estabeleceram a importância das células T regulatórias na manutenção da autotolerância. O aumento recente do interesse nas células T regulatórias ocorre em virtude da avaliação crescente de seus papéis fisiológicos, bem como da possibilidade de que defeitos nestas células possam resultar em várias doenças

autoimunes; em contrapartida, as células T regulatórias podem ser usadas para tratar doenças inflamatórias.



**FIGURA 15-7** Células T regulatórias.

As células T regulatórias são geradas a partir do reconhecimento de autoantígeno no timo (às vezes chamadas de células regulatórias naturais) e (talvez em menor extensão) pelo reconhecimento de antígeno nos órgãos linfoides periféricos (chamadas de células regulatórias indutíveis ou adaptativas). O desenvolvimento e a sobrevivência dessas células T regulatórias requerem IL-2 e o fator de transcrição FoxP3. Em tecidos periféricos, as células T regulatórias suprimem a ativação e as funções efetoras de outros linfócitos autorreativos e potencialmente patogênicos.

## Marcadores Fenotípicos e Heterogeneidade das Células T Regulatórias

Embora muitas populações de células T tenham sido descritas como tendo atividade supressora, o tipo celular cujo papel regulatório está mais bem estabelecido é o  $CD4^+$   $FoxP3^+$   $CD25^{high}$ . Tanto FoxP3 quanto CD25 são essenciais para a produção,

manutenção e função dessas células. Tipicamente, essas células apresentam baixos níveis de expressão de receptores de IL-7 (CD127) e, conforme previsto a partir do padrão de expressão de receptores, elas usam IL-2 (mas não IL-7) como fator de crescimento e sobrevivência. As células regulatórias FoxP3<sup>+</sup> normalmente expressam níveis altos de CTLA-4, o que também é necessário para o seu funcionamento (conforme discutido anteriormente). A desmetilação do locus do gene *FOXP3*, bem como de outros *loci* que contêm genes que são expressos nessas células, serve para manter um fenótipo estável de célula T regulatória. Atualmente, essas alterações epigenéticas são utilizadas para identificar células T regulatórias em pesquisa básica e pesquisa clínica.

## Produção e Manutenção de Células T Regulatórias

**Células T regulatórias são produzidas principalmente através do reconhecimento de autoantígenos no timo e através do reconhecimento de autoantígenos e antígenos externos em órgãos linfoides periféricos.** No timo, o desenvolvimento das células T regulatórias é um dos destinos das células T comprometidas com a linhagem CD4 que reconhece autoantígenos; essas células T regulatórias tímicas (tTreg) também vêm sendo chamadas de células T regulatórias naturais. Em órgãos linfoides periféricos, o reconhecimento do antígeno na ausência de fortes respostas imunológicas inatas favorece a produção de células regulatórias a partir de linfócitos T CD4<sup>+</sup> imaturos; células T regulatórias também podem se desenvolver depois de reações inflamatórias. Essas células T regulatórias periféricas (pTreg) vêm sendo chamadas de adaptativas ou induzidas, porque podem ser induzidas a se desenvolverem a partir de células T CD4<sup>+</sup> imaturas nos tecidos linfoides periféricos, como uma adaptação do sistema imunológico em resposta a certos tipos de exposição antigênica. Previsivelmente, as células regulatórias tímicas são específicas para autoantígenos porque estes são os antígenos mais encontrados no timo. As células regulatórias periféricas podem ser específicas para autoantígenos ou antígenos externos.

**A produção de algumas células T regulatórias necessita da citocina TGF- $\beta$ .** A cultura de células T imaturas com anticorpos ativadores anti-TCR, juntamente a TGF- $\beta$  (e IL-2, conforme explicado adiante), pode promover o desenvolvimento de células regulatórias *in vitro*. Em camundongos, a eliminação do TGF- $\beta$  ou o bloqueio da sinalização mediada por TGF- $\beta$  em células T levam a uma doença inflamatória sistêmica atribuída a ativação leucocitária descontrolada e deficiência de células T regulatórias funcionais. O TGF- $\beta$  estimula a expressão de FoxP3, o fator de transcrição necessário para o desenvolvimento e função das células T regulatórias.

**A sobrevivência e a competência funcional das células T regulatórias dependem da citocina IL-2.** Camundongos deficientes para o gene da IL-2 ou para a cadeia  $\alpha$  ou  $\beta$  do receptor de IL-2 desenvolvem autoimunidade manifestada por

doença inflamatória intestinal, anemia hemolítica autoimune e múltiplos autoanticorpos (incluindo anticorpos antieritrócitos e anti-DNA). Esses camundongos carecem de um conjunto inteiro de células T regulatórias CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup>; suas doenças podem ser corrigidas por meio da restauração dessas células. A IL-2 promove a diferenciação de células T em um subtipo regulatório, sendo também necessária para a manutenção dessa população celular. A IL-2 ativa o fator de transcrição STAT5, que pode aumentar a expressão de FoxP3, assim como outros genes que estão envolvidos na função das células T regulatórias. Esses resultados são a base para os ensaios clínicos em andamento, que testam a habilidade da IL-2 em estimular as células T regulatórias em humanos, para o controle de doença transplante *versus* hospedeiro, inflamação autoimune e rejeição ao transplante.

Populações particulares ou subtipos de células dendríticas podem ser especialmente importantes para estimular o desenvolvimento de células T regulatórias em tecidos periféricos. Há alguma evidência de que células dendríticas expostas ao ácido retinoico (o análogo da vitamina A) são indutoras das células T regulatórias, especialmente em tecidos linfoides associados às mucosas (Cap. 14).

## Mecanismos de Ação das Células T Regulatórias

As células T regulatórias parecem suprimir respostas imunológicas em múltiplos estágios – na indução da ativação da célula T nos órgãos linfoides, assim como na fase efetora dessas respostas nos tecidos. Elas também podem suprimir diretamente a ativação das células B e inibir a proliferação e diferenciação de células assassinas naturais (NK, do inglês *natural killer*). Embora diversos mecanismos de supressão tenham sido propostos, os mecanismos discutidos adiante são os que apresentam maior suporte de acordo com os dados disponíveis.

- **Produção das citocinas imunossupressoras IL-10 e TGF- $\beta$ .** A biologia dessas citocinas será descrita com mais detalhes adiante.
- **Habilidade reduzida das APCs em estimularem as células T.** Um mecanismo proposto que pode levar a essa ação depende da ligação do CTLA-4 (nas células regulatórias) às moléculas B7 (nas APCs), conforme descrito anteriormente (Fig. 15-6).
- **Consumo de IL-2.** Em virtude do alto nível de expressão do receptor de IL-2, essas células podem consumir IL-2, privando outras populações de células desse fator de crescimento, o que resulta na redução da proliferação e diferenciação de outras células dependentes de IL-2.

Ainda não está bem estabelecido se as células regulatórias trabalham por meio de todos esses mecanismos ou se há subpopulações que utilizam mecanismos diferentes para controlar as respostas imunológicas. De fato, existe alguma evidência (em humanos) de que duas diferentes populações de células T regulatórias podem ser distinguidas pela expressão de FoxP3 ou produção de IL-10, mas essa separação pode não ser absoluta.

## Citocinas Inibitórias Produzidas por Células T Regulatórias

O TGF- $\beta$  e a IL-10 estão envolvidos na produção e nas funções das células T regulatórias. Estas citocinas são produzidas e agem em muitos outros tipos celulares além das células regulatórias. Aqui serão descritas as propriedades e ações destas citocinas.

**Fator de Crescimento Transformador- $\beta$ .** O TGF- $\beta$  foi descoberto como um produto de tumor que promovia a sobrevivência das células tumorais *in vitro*. Na verdade, o TGF- $\beta$  constitui uma família de moléculas muito relacionadas codificadas por genes distintos, comumente designadas por TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 e TGF- $\beta$ 3. As células do sistema imunológico sintetizam principalmente TGF- $\beta$ 1. O TGF- $\beta$ 1 é produzido por células T regulatórias CD4<sup>+</sup>, macrófagos ativados e muitos outros tipos de células. O TGF- $\beta$ 1 é sintetizado sob a forma de um precursor inativo que é clivado proteoliticamente no complexo de Golgi, a fim de formar um homodímero. O TGF- $\beta$ 1 maduro é secretado em uma forma latente associado a outros polipeptídios, que devem ser removidos extracelularmente através de digestão enzimática antes que a citocina possa se ligar aos receptores e exercer seus efeitos biológicos. O receptor de TGF- $\beta$ 1 consiste em duas proteínas diferentes (TGF- $\beta$ RI e TGF- $\beta$ RII), ambas as quais fosforilam fatores de transcrição chamados de SMADs. Durante a ligação da citocina, um domínio quinase serina/treonina do TGF- $\beta$ RI fosforila o SMAD2 e o SMAD3 que, juntos ao SMAD4, formam um complexo que transloca para o núcleo, liga-se aos promotores dos genes alvo e regula a transcrição dos mesmos.

O TGF- $\beta$  tem muitos papéis importantes e bastante diversos no sistema imunológico.

- **O TGF- $\beta$  inibe a proliferação e as funções efetoras das células T e a ativação dos macrófagos.** O TGF- $\beta$  inibe a ativação clássica dos macrófagos, porém é uma das citocinas secretadas por macrófagos ativados (Cap. 10). O TGF- $\beta$  também suprime a ativação de outras células como neutrófilos e células endoteliais. Por meio dessas ações inibitórias, o TGF- $\beta$  atua no controle das respostas imunológica e inflamatória.
- **O TGF- $\beta$  regula a diferenciação de diferentes subtipos funcionais de células T.** Conforme descrito anteriormente, o TGF- $\beta$  estimula o desenvolvimento de células T regulatórias FoxP3<sup>+</sup> periféricas. Em combinação com citocinas produzidas durante respostas imunológicas inatas (como IL-1 e IL-6), o TGF- $\beta$  promove o desenvolvimento do subtipo T<sub>H</sub>17 de células T CD4<sup>+</sup>, em virtude de sua habilidade de induzir a transcrição do fator ROR $\gamma$ t (Cap. 10). A habilidade do TGF- $\beta$  de suprimir as respostas imunológicas e inflamatórias (em parte por meio da produção de células T regulatórias) e também de promover o desenvolvimento de células T<sub>H</sub>17 pró-inflamatórias, na presença de outras citocinas, é um exemplo interessante de como uma única citocina pode ter diversas ações (às vezes opostas), dependendo do contexto na qual é produzida. O TGF- $\beta$  também pode



inibir o desenvolvimento dos subtipos T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2.

- **O TGF- $\beta$  estimula a produção de anticorpos IgA, induzindo as células B a fazerem a troca para este isotipo.** A IgA é o principal isotipo de anticorpo necessário para a imunidade de mucosas (Cap. 14).
- **O TGF- $\beta$  promove o reparo tecidual após o término da reação imunológica local e da reação inflamatória.** Esta função é mediada, principalmente, pela habilidade do TGF- $\beta$  em estimular a síntese de colágeno e a produção de enzimas de modificação da matriz (por macrófagos e fibroblastos) e pela promoção da angiogênese. Esta citocina pode desempenhar um papel patológico em doenças nas quais a fibrose é um componente importante, como fibrose pulmonar e esclerose sistêmica.

**Interleucina-10.** A IL-10 é um inibidor de macrófagos ativados e células dendríticas, estando envolvida no controle das reações imunológicas inatas e da imunidade mediada por célula. É um membro da família de citocinas heterodiméricas que incluem IL-22, IL-27 e outras. O receptor de IL-10 pertence à família de receptores de citocina tipo II (similar aos receptores para interferons); consiste em duas cadeias que se associam às quinases da família Janus (JAK1 e TYK2) e ativam a STAT3. A IL-10 é produzida por muitas populações de células imunológicas, incluindo macrófagos ativados e células dendríticas, células T regulatórias e células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>2. A IL-10 atua como um regulador de retroalimentação negativa, já que é produzida por macrófagos e células dendríticas e também inibe a função dos mesmos. A IL-10 também é produzida por alguns linfócitos B, que já mostraram ter funções de supressão imunológica, sendo chamados de **células B regulatórias**.

Os efeitos biológicos da IL-10 resultam de sua habilidade em inibir muitas das funções dos macrófagos ativados e células dendríticas.

- **A IL-10 inibe a produção de IL-12 por células dendríticas ativadas e macrófagos.** Já que a IL-12 é um estímulo crítico para a secreção de IFN- $\gamma$ , que desempenha um papel importante nas reações imunológicas inatas e adaptativas mediadas por células contra microrganismos intracelulares, a IL-10 atua no sentido de suprimir todas essas reações. Inicialmente, a IL-10 foi identificada como uma proteína que inibia a produção de IFN- $\gamma$ .
- **A IL-10 inibe a expressão de coestimuladores e moléculas de MHC classe II em células dendríticas e macrófagos.** Por causa dessas ações, a IL-10 serve para inibir a ativação de células T e terminar as reações imunológicas mediadas por células.

Já foi descrita uma doença autoimune hereditária rara, na qual mutações no receptor de IL-10 levam à colite grave que se desenvolve precocemente (antes de 1 ano de idade). Camundongos deficientes para IL-10 (tanto em todas as células quanto somente nas células T regulatórias) também desenvolvem colite, provavelmente como resultado da ativação descontrolada dos linfócitos e macrófagos que reagem aos microrganismos entéricos. Por causa desses resultados, acredita-se

que essa citocina seja especialmente importante para o controle de reações inflamatórias em mucosas de tecidos, particularmente no trato gastrointestinal (Cap. 14).

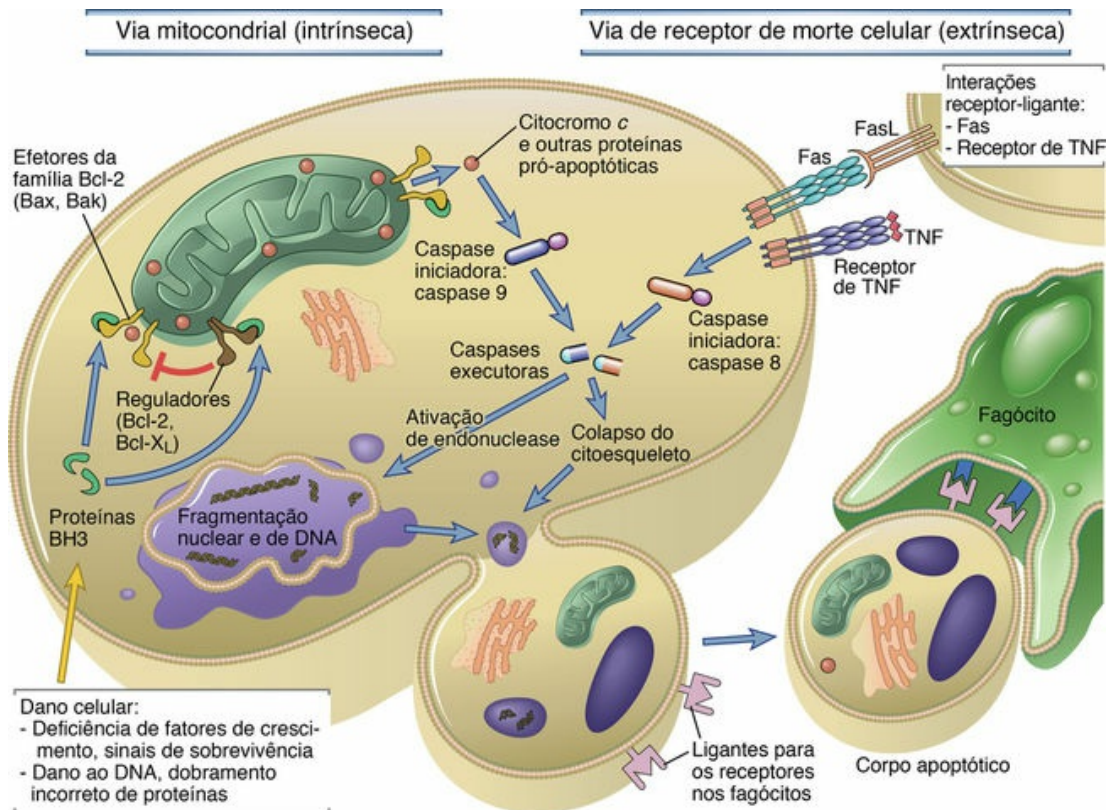
O vírus Epstein-Barr contém um gene homólogo à IL-10 humana; a IL-10 viral tem as mesmas atividades que a citocina natural. Isso aumenta a intrigante possibilidade de que a aquisição do gene semelhante à IL-10 durante a evolução do vírus tenha dado ao mesmo a habilidade de inibir a imunidade do hospedeiro, concedendo a ele a vantagem da sobrevivência nas pessoas infectadas.

## **Papéis das Células T Regulatórias na Autotolerância e Autoimunidade**

A elucidação das bases genéticas da síndrome IPEX e a doença similar em camundongos (causadas por mutações no gene *Foxp3*, descrito anteriormente) são provas convincentes da importância das células T regulatórias na manutenção da autotolerância e homeostase no sistema imunológico. Várias tentativas vêm sendo feitas para identificar defeitos no desenvolvimento ou função das células T regulatórias nas doenças autoimunes mais comuns em humanos, tais como doença inflamatória intestinal, diabetes tipo 1 e esclerose múltipla, bem como nas doenças alérgicas. Parece provável que defeitos nas células T regulatórias ou resistência das células efetoras à supressão contribuam para a patogênese das doenças autoimunes e alérgicas. Estudos também apontam que há potencial no processo de expansão do número de células regulatórias em cultura com posterior injeção das mesmas nos pacientes, a fim de controlar respostas imunológicas patológicas. Já existem ensaios clínicos de transferência de células T regulatórias em andamento, na tentativa de tratar a rejeição ao transplante, doença transplante *versus* hospedeiro e outras doenças autoimunes e inflamatórias. Outras tentativas também estão em andamento para induzir essas células em pacientes por meio da administração (1) de autopeptídeos que são alvos da autoimunidade ou (2) de baixas doses da citocina IL-2, separadamente ou em combinação.

## **Deleção de Células T Via Morte Celular por Apoptose**

***Linfócitos T que reconhecem autoantígenos com alta afinidade ou que são estimulados repetidamente por antígenos podem morrer por apoptose.*** Essas são duas vias principais da apoptose em diversos tipos celulares (Fig. 15-8), ambas as quais encontram-se implicadas na deleção periférica das células T maduras.



**FIGURA 15-8** Vias de apoptose.

A apoptose é induzida pelas vias mitocondrial e de receptores de morte celular, descritas no texto, que culminam na fragmentação da célula morta e fagocitose de corpos apoptóticos.

- A **via mitocondrial** (ou **intrínseca**) é regulada pela família de proteínas Bcl-2, que foi descoberta como um oncogene em um linfoma de célula B e mostrou inibir a apoptose. Alguns membros dessa família são pró-apoptóticos e outros são antiapoptóticos. Esta via inicia-se quando as proteínas citoplasmáticas da família Bcl-2, que pertencem à subfamília BH3 (assim chamadas porque contêm um domínio que é homólogo ao terceiro domínio conservado da Bcl-2), são ativadas em resposta à privação de fator de crescimento, estímulos nocivos, dano ao DNA ou certos tipos de sinalização mediada por receptor (p. ex., sinais fortes gerados por autoantígenos em linfócitos imaturos). As proteínas BH3 são sensores de estresse celular que se ligam a efetores e reguladores do processo de morte celular. Em linfócitos, o mais importante desses sensores é uma proteína chamada Bim. A Bim ativada liga-se a duas proteínas efetoras pró-apoptóticas da família Bcl-2, chamadas Bax e Bak, que se oligomerizam e se inserem na membrana mitocondrial externa, levando a um aumento da permeabilidade mitocondrial. Fatores de crescimento e outros sinais de sobrevivência induzem a expressão de membros antiapoptóticos da família Bcl-2, como a Bcl-2 e a Bcl-X<sub>L</sub>, que funcionam como inibidores da apoptose ao bloquearem as proteínas Bax e Bak; a inibição

dessas proteínas mantém a mitocôndria intacta. As proteínas BH-3 também antagonizam a Bcl-2 e a Bcl-X<sub>L</sub>. Quando as células são privadas de sinais de sobrevivência, a mitocôndria deixa extravasar material interno, por causa das ações das proteínas sensoras BH-3 e das proteínas efetoras Bax e Bak, além da deficiência relativa de proteínas antiapoptóticas como a Bcl-2 e a Bcl-X<sub>L</sub>. Como resultado, muitos componentes mitocondriais (incluindo o citocromo c) vazam da mitocôndria para dentro do citosol. Essas proteínas ativam as enzimas citossólicas chamadas **caspases**, inicialmente a caspase-9, que, por sua vez, cliva as caspases que estão abaixo na cascata; essas caspases levam à fragmentação do DNA e a outras alterações que culminam na morte celular por apoptose.

- Na **via do receptor de morte celular** (ou **extrínseca**), os receptores de superfície da célula (homólogos aos receptores de fator de necrose tumoral – TNF) são ativados por seus ligantes, que são homólogos à citocina TNF. Os receptores oligomerizam e ativam proteínas adaptadoras citoplasmáticas que recrutam a pró-caspase-8; quando oligomerizada, a pró-caspase-8 sofre autoclivagem, produzindo caspase-8 ativa. A caspase-8 ativa cliva outras caspases da cascata, resultando novamente em apoptose. Em muitos tipos celulares, a caspase-8 cliva e ativa uma proteína BH3, chamada Bid, que se liga às proteínas Bax e Bak, induzindo apoptose pela via mitocondrial. Portanto, a via mitocondrial pode servir para amplificar a sinalização da via do receptor de morte celular.

Células que estão em apoptose desenvolvem bolhas na membrana; fragmentos do núcleo e do citoplasma são segregados em estruturas ligadas à membrana, chamadas de corpos apoptóticos. Também há alterações bioquímicas na membrana plasmática, incluindo a exposição de lipídios como fosfatidilserina (que normalmente encontra-se na face interna da membrana plasmática). Essas alterações são reconhecidas por receptores nos fagócitos, e os corpos apoptóticos e células são engolfados e eliminados rapidamente, sem que tenham sequer suscitado qualquer resposta inflamatória.

A melhor evidência para o envolvimento de duas vias apoptóticas na eliminação de linfócitos maduros autorreativos é o fato de que, em camundongos, a ablação genética de ambas as vias resulta em autoimunidade sistêmica. Essas duas vias de morte celular podem funcionar de diferentes formas para manter a autotolerância.

- **Células T que reconhecem autoantígenos na ausência de coestimulação podem ativar a proteína Bim, resultando em apoptose pela via mitocondrial.**

Nas respostas imunológicas normais, os linfócitos responsivos recebem sinais dos TCR, coestimuladores e fatores de crescimento. Estes sinais estimulam a expressão de proteínas antiapoptóticas da família Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub>) e, assim, previnem a apoptose e promovem a sobrevivência das células, pré-lúdio necessário para a proliferação. Quando as células T reconhecem autoantígenos avidamente, elas podem ativar a Bim diretamente, o que dispara a morte celular pela via mitocondrial, conforme descrito anteriormente. Ao mesmo tempo, por

causa da relativa falta de coestimulação e fatores de crescimento, os membros antiapoptóticos da família Bcl-2 (Bcl-2 e Bcl-X<sub>L</sub>) são expressos em níveis baixos; dessa maneira, as ações das proteínas Bim, Bax e Bak não são combatidas. A via mitocondrial de apoptose Bim-dependente também está envolvida na seleção negativa de células T autorreativas no timo (descrito anteriormente) e na fase de declínio das respostas imunológicas depois de o antígeno inicial ter sido eliminado (Cap. 9).

• **A estimulação repetida das células T resulta na coexpressão de receptores de morte celular e seus ligantes, e a ativação dos receptores de morte**

**celular leva à morte por apoptose.** Em células T CD4<sup>+</sup>, o receptor de morte mais importante é o Fas (CD95), sendo seu ligante denominado ligante de Fas (FasL). O Fas é um membro da família de receptores TNF. O FasL é homólogo ao TNF. Quando as células T são ativadas repetidamente, o FasL é expresso na superfície celular, ligando-se ao Fas de superfície na mesma célula ou em outras células T adjacentes. Isso ativa uma cascata de caspases, que, por fim, causa a apoptose das células. A mesma via de apoptose pode estar envolvida na eliminação de linfócitos B autorreativos também na periferia (discutido adiante). Camundongos com mutações nos genes que codificam o Fas ou o ligante de Fas forneceram a primeira evidência clara de que a falha da morte celular por apoptose resulta em autoimunidade. Esses camundongos desenvolvem uma doença autoimune sistêmica com múltiplos autoanticorpos e nefrite, lembrando o lúpus eritematoso sistêmico humano (Cap. 19). A linhagem de camundongos lpr (para linfoproliferação) produz níveis baixos da proteína Fas, enquanto a linhagem gld (para doença linfoproliferativa generalizada) produz FasL com uma mutação pontual que interfere na sua sinalização. A causa da autoimunidade parece ser a deleção periférica defeituosa e o acúmulo de células B e células T auxiliares autorreativas. Já se identificaram crianças com doença fenotipicamente similar; elas carregam mutações no gene que codifica o Fas ou em genes que codificam proteínas na via de morte celular mediada por Fas. Esta doença é chamada de **síndrome linfoproliferativa autoimune** (ALPS, do inglês *autoimmune lymphoproliferative syndrome*).

## **Tolerância Periférica em Linfócitos T CD8<sup>+</sup>**

Grande parte de nosso conhecimento a respeito de tolerância periférica de célula T limita-se às células CD4<sup>+</sup> e pouco se sabe acerca de mecanismos de tolerância em células T CD8<sup>+</sup> maduras. Parece que, se as células T CD8<sup>+</sup> reconhecerem peptídeos associados à MHC de classe I sem coestimulação ou ajuda da célula T, as células CD8<sup>+</sup> tornam-se anérgicas. Nesta situação, as células CD8<sup>+</sup> encontrariam o sinal 1 (antígeno) sem sinais secundários, e o mecanismo de anergia seria essencialmente

o mesmo dos linfócitos T CD4<sup>+</sup>. Receptores inibitórios como o PD-1 suprimem a ativação das células CD8<sup>+</sup> e podem estar envolvidos no término das respostas das mesmas em um fenômeno chamado de exaustão (Cap. 11). Células T regulatórias CD25<sup>+</sup> podem inibir diretamente a ativação de células T CD8<sup>+</sup> ou suprimir células auxiliares CD4<sup>+</sup>, que são necessárias para respostas completas das células T CD8<sup>+</sup>. Células CD8<sup>+</sup> que são expostas a elevadas concentrações de autoantígenos também podem sofrer morte celular por apoptose.

## Fatores que Determinam a Tolerogenicidade de Autoantígenos

Estudos com uma variedade de modelos experimentais mostraram que muitas características dos antígenos proteicos determinam se tais antígenos induzirão a ativação da célula T ou se levarão à tolerância (Tabela 15-1). Os autoantígenos apresentam diversas propriedades que os tornam tolerogênicos. Esses antígenos são expressos em órgãos linfoides centrais, onde são reconhecidos por linfócitos imaturos. Em tecidos periféricos, os autoantígenos ligam-se aos receptores de antígenos de linfócitos específicos por períodos prolongados, sem inflamação ou imunidade inata.

**Tabela 15-1**

### Fatores que Determinam a Imunogenicidade e a Tolerogenicidade de Antígenos Proteicos

	Aspectos que Favorecem a Estimulação das Respostas Imunológicas	Aspectos que Favorecem a Tolerância
Persistência	Curta (eliminados por respostas imunológicas)	Prolongada
Porta de entrada; localização	Vias subcutânea e intradérmica; ausência nos órgãos centrais	Vias intravenosa e mucosa; presença nos órgãos centrais
Presença de adjuvantes	Antígenos com adjuvantes; estimulam células T auxiliares	Antígenos sem adjuvantes; não imunogênicos ou tolerogênicos
Propriedades das células apresentadoras de antígenos	Níveis altos de coestimuladores	Níveis baixos de coestimuladores e citocinas

**A natureza da célula dendrítica que apresenta antígenos para os linfócitos T é um determinante importante da resposta subsequente.** Células dendríticas que residem em órgãos linfoides e tecidos não linfoides podem apresentar autoantígenos para linfócitos T e manter a tolerância. Células dendríticas teciduais normalmente ficam em um estado de repouso (imaturas), com baixa ou nenhuma expressão de moléculas coestimulatórias. Tais APCs podem apresentar autoantígenos constantemente sem fornecerem sinais de ativação, e as células T que



reconhecem esses antígenos se tornam anérgicas ou se diferenciam em linfócitos T regulatórios, em vez de se diferenciarem em linfócitos efetores e de memória. Em contrapartida, células dendríticas que são ativadas por microrganismos constituem as principais APCs para iniciarem as respostas das células T (Cap. 6). Conforme discutiremos adiante, infecções locais e inflamação podem ativar células dendríticas residentes, levando à expressão aumentada de coestimuladores, falha da tolerância e reações autoimunes contra antígenos teciduais. As características das células dendríticas que as tornam tolerogênicas ainda não estão definidas, mas presumivelmente incluem baixa expressão de coestimuladores. Há grande interesse em manipular as propriedades das células dendríticas como forma de potencializar ou inibir as respostas imunológicas para fins terapêuticos.

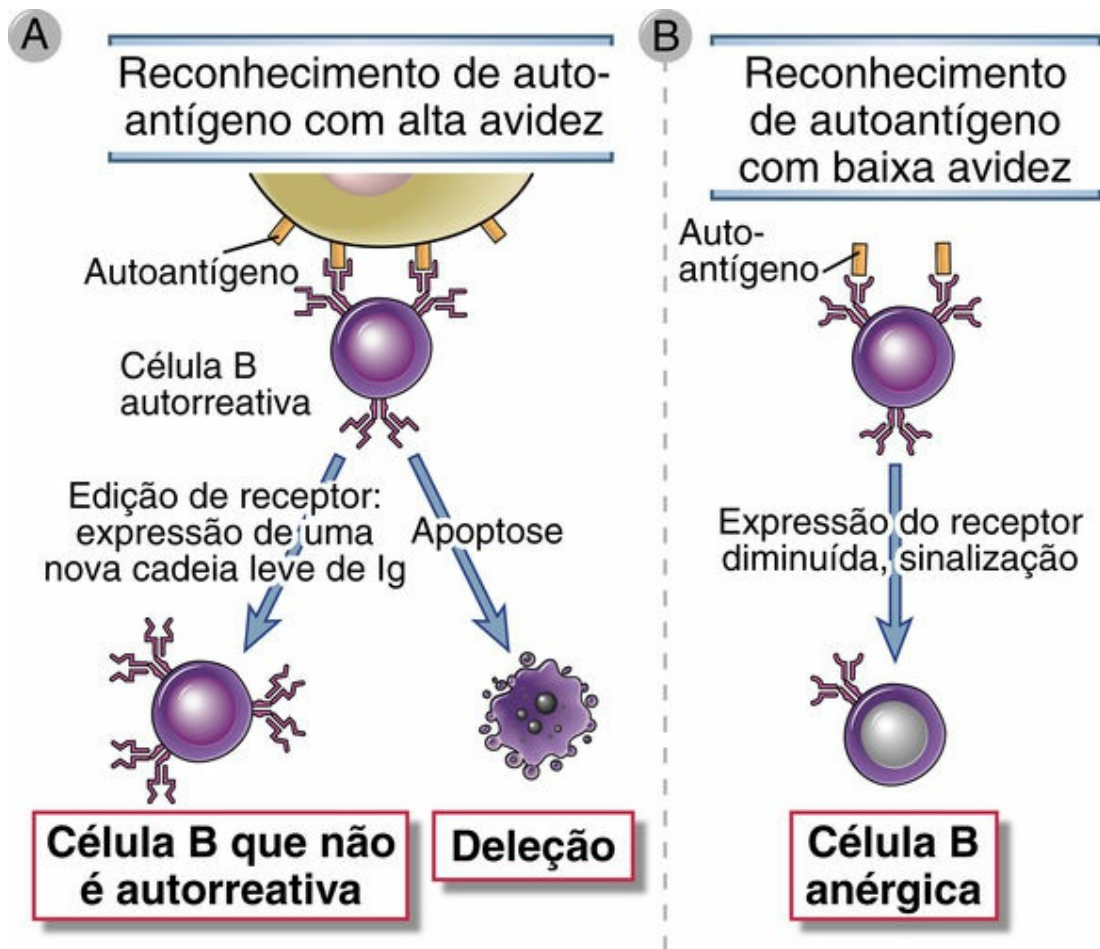
Ainda é incompleto o nosso entendimento sobre os mecanismos que ligam os sinais recebidos por uma célula T no momento do reconhecimento do antígeno com o destino desta célula T. Esses conceitos baseiam-se amplamente em modelos experimentais, nos quais antígenos são administrados aos camundongos ou são produzidos por transgenes expressos nesses animais. Um dos desafios contínuos neste campo é definir os mecanismos por meio dos quais vários autoantígenos expressos normalmente induzem tolerância, especialmente em humanos.

## Tolerância dos linfócitos B

A tolerância dos linfócitos B é necessária para manter a não responsividade dos autoantígenos timo-independentes, como polissacarídeos e lipídios. A tolerância dos linfócitos B também desempenha papel na prevenção de respostas dos anticorpos a antígenos de proteínas. Estudos experimentais revelaram múltiplos mecanismos pelos quais o encontro com os autoantígenos pode abortar a maturação e ativação da célula B.

## Tolerância Central da Célula B

***Linfócitos B imaturos que reconhecem autoantígenos na medula óssea com alta afinidade mudam sua especificidade ou são deletados.*** Os mecanismos da tolerância central da célula B já são bem descritos em modelos experimentais (Fig. 15-9).



**FIGURA 15-9** Tolerância central da célula B.

Células B imaturas que reconhecem autoantígenos na medula óssea com alta avidez (p. ex., matrizes polivalentes de antígenos nas células), morrem por apoptose ou alteram a especificidade de seus receptores de antígenos (edição de receptores). Um fraco reconhecimento de autoantígenos na medula óssea pode levar à anergia (inativação funcional) das células B.

- **Edição de receptores.** Se células B maduras reconhecem autoantígenos que estão presentes em alta concentração na medula óssea – especialmente se o antígeno é apresentado em forma multivalente (p. ex., superfícies celulares) –, muitos receptores de antígenos em cada célula B fazem ligações cruzadas, transmitindo fortes sinais para as células. Conforme discutido no [Capítulo 8](#), uma consequência desta sinalização é que as células B reativam seus genes *RAG1* e *RAG2* e iniciam uma nova rodada de recombinação VJ no locus do gene da cadeia leve da imunoglobulina (Ig)  $\kappa$ . Um segmento  $V_{\kappa}$  acima da cascata da unidade  $V_{\kappa}J_{\kappa}$  já rearranjada junta-se a um  $J_{\kappa}$  abaixo na cascata. Como resultado, o éxon  $V_{\kappa}J_{\kappa}$  reorganizado previamente na célula B imatura autorreativa é deletado

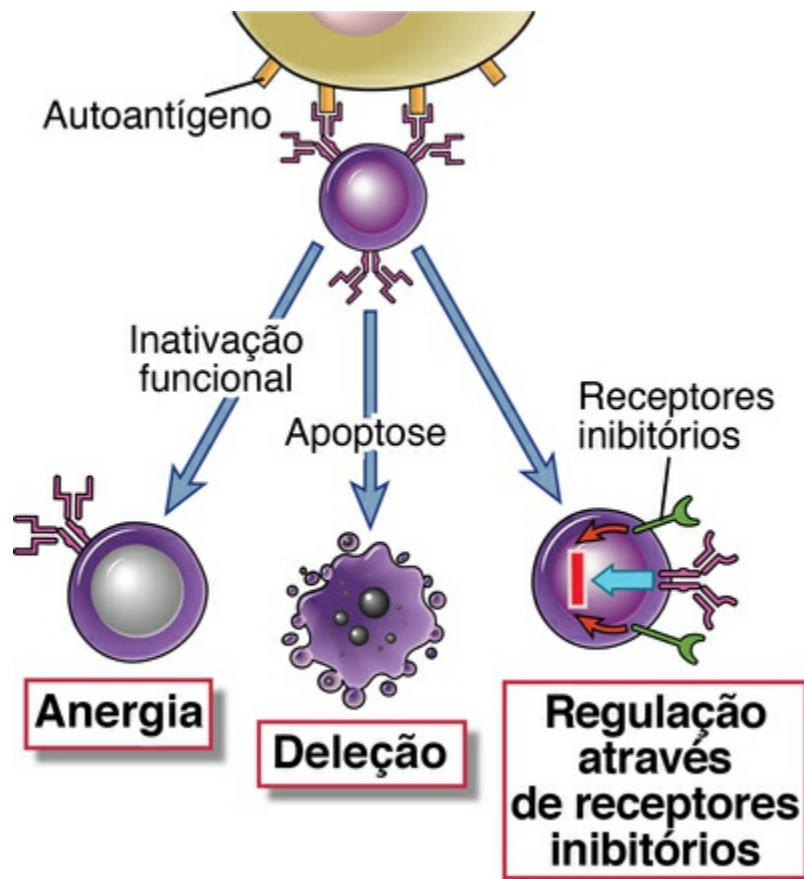
e uma nova cadeia leve de Ig é expressa, criando, assim, um receptor de célula B com uma nova especificidade. Este processo chama-se edição de receptor (Cap. 8) e consiste em um importante mecanismo para eliminação da autorreatividade do repertório de células B maduras. Se a reorganização da cadeia leve editada não for produtiva, rearranjos podem acontecer no locus  $\kappa$  em outro cromossomo; caso esta segunda reorganização não seja produtiva, podem ocorrer reorganizações subsequentes nos *loci* da cadeia leve  $\lambda$ . Uma célula B expressando uma cadeia leve  $\lambda$  frequentemente é uma célula que já passou pela edição de receptor.

- **Deleção.** Se a edição falhar, as células B imaturas podem morrer por apoptose. Os mecanismos de deleção não estão bem estabelecidos ainda.
- **Anergia.** Se células B em desenvolvimento reconhecerem autoantígenos fracamente (p. ex., se o antígeno é solúvel e não apresenta muitas ligações cruzadas com receptores de antígenos ou se os receptores da célula B reconhecem o antígeno com baixa afinidade), as células tornam-se funcionalmente não responsivas (anérgicas) e saem da medula óssea nesse estado de não responsividade. A anergia deve-se à regulação negativa da expressão do receptor de antígeno, assim como a um bloqueio na sinalização do mesmo.

## Tolerância Periférica da Célula B

***Linfócitos B maduros que reconhecem autoantígenos em tecidos periféricos na ausência de células T auxiliares específicas podem ser considerados funcionalmente não responsivos ou podem morrer por apoptose (Fig. 15-10).***

Os sinais das células T auxiliares podem estar ausentes se estas células T são deletadas ou estão anérgicas, ou se os autoantígenos são antígenos não proteicos. Uma vez que autoantígenos geralmente não suscitam respostas imunológicas inatas, as células B também não serão ativadas via receptores de complemento ou receptores de reconhecimento de padrões moleculares. Desse modo, assim como nas células T, o reconhecimento de antígeno sem estímulos adicionais resulta em tolerância. Os mecanismos de tolerância periférica também eliminam clones de células B autorreativos que podem ser gerados como uma consequência não intencional da mutação somática em centros germinativos.



**FIGURA 15-10** Tolerância periférica da célula B. Células B que encontram autoantígenos em tecidos periféricos tornam-se anérgicas ou morrem por apoptose. Em algumas situações, o reconhecimento de autoantígenos pode disparar receptores inibitórios que impedem a ativação da célula B.

- **Anergia e deleção.** Algumas células B autorreativas que são estimuladas repetidamente por autoantígenos tornam-se não responsivas a ativações subsequentes. Estas células requerem níveis altos de fator de crescimento BAFF/BLys para sua sobrevivência (Cap. 11); por esse motivo, não podem competir eficientemente pela sobrevivência com células B imaturas normais (menos dependentes de BAFF) nos folículos linfoides. Como resultado, as células B que já encontraram autoantígenos têm sobrevivência menor e são eliminadas mais rapidamente do que células que ainda não reconheceram autoantígenos. Células B que se ligam com grande avides aos autoantígenos na periferia também podem morrer por apoptose através da via mitocondrial. A alta taxa de mutação somática dos genes Ig que ocorre em centros germinativos apresenta o risco de produzir células B autorreativas (Cap. 12). Essas células B podem ser eliminadas ativamente por meio da interação do FasL de células T auxiliares com o Fas de células B ativadas. A mesma interação foi descrita

anteriormente como um mecanismo para a morte de células T autorreativas. A falha desta via de tolerância periférica da célula B pode contribuir para a autoimunidade causada por mutações nos genes *Fas* e *FasL* em camundongos, assim como em pacientes com ALPS, conforme discutido anteriormente.

- **Sinalização através de receptores inibitórios.** Células B que reconhecem autoantígenos com baixa afinidade podem ser impedidas de responder através do acoplamento de vários receptores inibitórios. A função desses receptores inibitórios é definir um limiar para ativação da célula B, o que permite respostas a antígenos externos com ajuda da célula T, mas não respostas a autoantígenos. Esse mecanismo de tolerância periférica foi revelado por estudos que mostravam que camundongos com defeitos na tirosinofosfatase SHP-1, na Lyn tirosinoquinase e no receptor inibitório CD22 desenvolviam autoimunidade. Domínios ITIM localizados na cauda citoplasmática do CD22 são fosforilados pela Lyn e, em seguida, esse receptor inibitório recruta a SHP-1, atenuando a sinalização do receptor de célula B. Entretanto, ainda não se sabe quando receptores inibitórios como o CD22 são envolvidos e quais ligantes eles reconhecem.

Muito se tem aprendido acerca dos mecanismos de tolerância em linfócitos T e B, principalmente pelo uso de modelos animais como camundongos geneticamente modificados. A utilização dessa ferramenta para compreender os mecanismos de tolerância a diferentes autoantígenos em indivíduos normais e para definir por que a tolerância falha, dando início a doenças autoimunes, é uma área de investigação ativa.

## Tolerância induzida por antígenos proteicos externos

***Antígenos externos podem ser administrados de maneira que induzam, preferencialmente, a tolerância em detrimento das respostas imunológicas.***

Entender como induzir a tolerância por meio da administração de antígeno é a chave para desenvolver a tolerância antígeno-específica como uma estratégia de tratamento para doenças imunológicas. Em geral, antígenos proteicos administrados por via cutânea com adjuvantes favorecem a imunidade, ao passo que doses altas de antígenos administradas sem adjuvantes tendem a induzir tolerância. A provável razão para isso é que os adjuvantes estimulam respostas imunológicas inatas e a expressão de coestimuladores nas APCs; na ausência desses sinais secundários, as células T que reconhecem o antígeno podem tornar-se anérgicas, morrer ou diferenciar-se em células regulatórias. Muitas outras características dos antígenos e a forma como são administrados podem influenciar o equilíbrio entre a imunidade e a tolerância ([Tabela 15-1](#)).

Frequentemente, a administração oral de um antígeno proteico leva à supressão das respostas imunológicas humorais e mediadas por célula para a imunização com esse mesmo antígeno. Este fenômeno, chamado de **tolerância oral**, foi discutido no

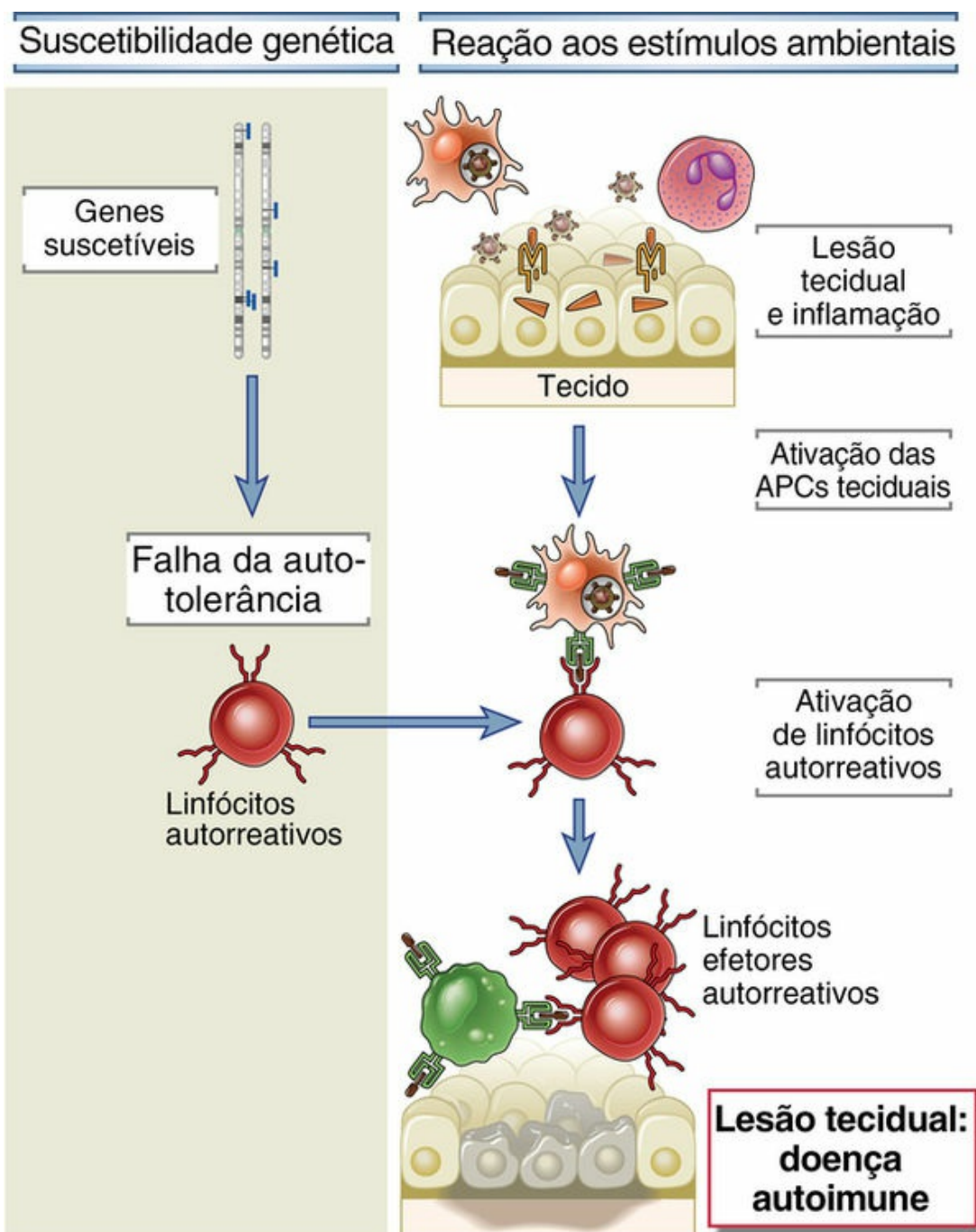
## Mecanismos de autoimunidade

A possibilidade de que o sistema imunológico de um indivíduo pudesse reagir contra antígenos autólogos e causar dano tecidual foi observada por imunologistas ao mesmo tempo que estes reconheceram a especificidade do sistema imunológico para antígenos estranhos. No início da década de 1990, Paul Ehrlich cunhou a expressão melodramática “horror autotóxico” para as reações imunológicas prejudiciais ao próprio indivíduo. A autoimunidade é uma causa importante de doenças em humanos, e estima-se que estas afetam, no mínimo, 2% a 5% da população dos Estados Unidos. Frequentemente, usa-se erroneamente o termo *autoimunidade* para qualquer doença na qual as reações imunológicas acompanham dano tecidual, embora seja muito difícil (ou quase impossível) estabelecer um papel para as respostas imunológicas contra autoantígenos como causa para esses distúrbios. Já que a inflamação é um componente importante nessas doenças, costuma-se agrupá-las como *doenças inflamatórias mediadas pela imunidade*, o que não implica que a resposta patológica seja direcionada contra autoantígenos (Cap. 19).

As questões fundamentais a respeito da autoimunidade são (1) como a autotolerância falha e (2) de que forma os linfócitos autorreativos são ativados. Precisa-se de respostas para essas perguntas, a fim de compreender a etiologia e a patogênese das doenças autoimunes, que consistem no desafio principal da Imunologia. Nosso entendimento sobre autoimunidade melhorou bastante durante as duas últimas décadas, principalmente por causa do desenvolvimento de modelos animais informativos dessas doenças, da identificação dos genes que podem predispor à autoimunidade e de métodos mais aprimorados para a análise das respostas imunológicas em humanos. Diversos conceitos gerais importantes surgiram a partir de estudos sobre autoimunidade.

**Os fatores que contribuem para o desenvolvimento da autoimunidade são a suscetibilidade genética e os gatilhos ambientais, como infecções e lesão local no tecido.** Genes de suscetibilidade podem prejudicar os mecanismos de autotolerância; a infecção ou necrose nos tecidos promovem o influxo de linfócitos autorreativos e a ativação dessas células, resultando em lesão tecidual (Fig. 15-11). Infecções e lesão tecidual também podem alterar a forma como os autoantígenos são apresentados para o sistema imunológico, levando à falha da autotolerância e à ativação dos linfócitos autorreativos. Os papéis desses fatores no desenvolvimento da autoimunidade serão discutidos posteriormente. Outros fatores como mudanças na microbiota do indivíduo e alterações epigenéticas nas células imunológicas podem desempenhar papéis importantes na patogênese, mas os estudos nesses tópicos ainda estão muito no início.





**FIGURA 15-11** Mecanismos propostos de autoimunidade. Neste modelo proposto de uma doença autoimune mediada por célula T órgão-específica, vários *loci* genéticos podem causar suscetibilidade à autoimunidade, em parte por influenciarem a manutenção da autotolerância. Fatores ambientais, como infecções e outros estímulos inflamatórios, promovem o influxo de linfócitos para dentro dos tecidos e a ativação de células T autorreativas, resultando em lesão tecidual.

## Características Gerais das Doenças Autoimunes

Doenças autoimunes apresentam diversas características gerais que são relevantes para a definição de seus mecanismos subjacentes.

- **Doenças autoimunes podem ser sistêmicas ou órgão-específicas, dependendo da distribuição dos autoantígenos que são reconhecidos.** Por exemplo, a formação de complexos imunológicos circulantes (compostos de autonucleoproteínas e anticorpos específicos) produz tipicamente doenças sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico (SLE, do inglês *systemic lupus erythematosus*). Ao contrário, respostas de autoanticorpos ou células T contra autoantígenos com distribuição tecidual restrita levam a doenças específicas dos órgãos, como miastenia grave, diabetes tipo 1 e esclerose múltipla.
- **Vários mecanismos efetores são responsáveis pela lesão do tecido em diferentes doenças autoimunes.** Esses mecanismos incluem complexos imunológicos, autoanticorpos circulantes e linfócitos T autorreativos e serão discutidos no [Capítulo 19](#). As características clínicas e patológicas da doença geralmente são determinadas pela natureza da resposta autoimune dominante.
- **Doenças autoimunes tendem a ser crônicas, progressivas e de autoperpetuação.** As razões para essas características são: (1) os autoantígenos que disparam essas reações são persistentes e, uma vez que a resposta imunológica se inicia, muitos mecanismos amplificadores que são ativados perpetuam essa resposta; (2) uma resposta iniciada contra um autoantígeno que lesiona tecidos pode resultar na liberação e alteração de outros antígenos teciduais, na ativação de linfócitos específicos para esses outros antígenos e na exacerbação da doença. Este fenômeno, conhecido como propagação de epítipo, pode explicar por que uma vez desenvolvida a doença autoimune, esta pode se prolongar ou se autoperpetuar.

## Anormalidades Imunológicas que Levam à Autoimunidade

A autoimunidade resulta da combinação de algumas das três aberrações imunológicas principais.

- **Tolerância ou regulação defeituosas. A falha dos mecanismos de autotolerância em células T ou B, levando ao desequilíbrio entre ativação e controle de linfócitos, é a causa subjacente de todas as doenças autoimunes.** O potencial para autoimunidade existe em todos os indivíduos, porque algumas especificidades de clones de linfócitos em desenvolvimento geradas aleatoriamente podem ser para autoantígenos, e muitos autoantígenos estão prontamente acessíveis aos linfócitos. Conforme discutido anteriormente, a tolerância a autoantígenos normalmente é mantida por meio de processos de

seleção que previnem a maturação de alguns linfócitos específicos para autoantígenos e de mecanismos que inativam ou deletam linfócitos autorreativos que amadurecem. A perda da autotolerância pode ocorrer se linfócitos autorreativos não forem deletados ou inativados durante ou após a sua maturação; também pode ocorrer se as APCs forem ativadas, de modo que autoantígenos sejam apresentados ao sistema imunológico de forma imunogênica. Modelos experimentais e estudos limitados em humanos mostram que qualquer um dos mecanismos a seguir pode contribuir para a falência da autotolerância:

- Defeitos na deleção (seleção negativa) de células T ou B ou na edição de receptores em células B durante a maturação dessas células nos órgãos linfoides centrais.
  - Defeitos no número e função de linfócitos T regulatórios
  - Apoptose defeituosa de linfócitos autorreativos maduros
  - Função inadequada de receptores inibitórios
- **Apresentação anormal de autoantígenos.** Essas anormalidades podem incluir expressão aumentada e persistência de autoantígenos que são normalmente degradados ou alterações estruturais nesses antígenos, resultantes de modificações enzimáticas ou de estresse ou lesão celular. Caso essas mudanças levem à apresentação de epítomos antigênicos que normalmente não estão presentes, o sistema imunológico não pode ser tolerante com esses epítomos, permitindo o desenvolvimento de autorrespostas.
  - **Inflamação ou resposta imunológica inata inicial.** Conforme abordado em capítulos anteriores, a resposta imunológica inata é um forte estímulo para a ativação subsequente de linfócitos e para a geração de respostas imunológicas adaptativas. Infecções ou danos à célula podem suscitar reações imunológicas inatas locais com inflamação. Essas reações podem contribuir para o desenvolvimento de doença autoimune, talvez pela ativação das APCs, que se sobrepõem aos mecanismos regulatórios, resultando em ativação excessiva da célula T.

Recentemente, grande foco tem sido colocado no papel das células T na autoimunidade por duas razões principais. A primeira razão é que as células T auxiliares são reguladores-chave de todas as respostas imunológicas às proteínas e muitos autoantígenos implicados nas doenças autoimunes são proteínas. A segunda razão é que diversas doenças autoimunes estão geneticamente ligadas ao MHC (o complexo HLA, em humanos), e a função das moléculas do MHC é a apresentação de antígenos peptídios para as células T. A falha da autotolerância em linfócitos T pode resultar em doenças autoimunes, nas quais o dano ao tecido é causado por reações imunológicas mediadas por células. Anormalidades nas células T auxiliares também podem levar à produção de autoanticorpo, porque essas células são necessárias para a produção de anticorpos de alta afinidade contra antígenos proteicos.

Serão descritos adiante os princípios gerais da patogênese das doenças autoimunes, com ênfase em suscetibilidade gênica, infecções e outros fatores que contribuem para o desenvolvimento da autoimunidade. No [Capítulo 19](#), serão abordadas a patogênese e as características de algumas doenças autoimunes ilustrativas.

## Bases Genéticas da Autoimunidade

A partir dos primeiros estudos de doenças autoimunes em pacientes e animais experimentais, observou-se que essas doenças têm um componente genético muito forte. Por exemplo, o diabetes tipo 1 mostra uma concordância de 35% a 50% em gêmeos monozigóticos e de 5% a 6% em gêmeos dizigóticos; outras doenças autoimunes mostram evidência similar de uma contribuição genética. Análise de histórico familiar, estudos de associação genômica e esforços de sequenciamento em grande escala estão revelando novas informações sobre os genes que podem estar na base do desenvolvimento da autoimunidade e de distúrbios inflamatórios crônicos. Vários aspectos gerais da suscetibilidade genética tornaram-se aparentes a partir desses estudos.

***A maioria das doenças autoimunes é consequência de características poligênicas complexas, nas quais os indivíduos afetados herdaram polimorfismos genéticos múltiplos que contribuem para a suscetibilidade da doença. Estes genes agem em conjunto com os fatores ambientais para causarem as doenças.*** Alguns destes polimorfismos estão associados a diversas doenças autoimunes, sugerindo que os genes causadores influenciam mecanismos gerais de regulação imunológica e autotolerância. Outros *loci* associam-se a doenças particulares, sugerindo que estes podem afetar o dano ao órgão ou linfócitos autorreativos de especificidades particulares. Cada polimorfismo genético faz uma pequena contribuição para o desenvolvimento de doenças autoimunes particulares. Esses polimorfismos também são encontrados em indivíduos saudáveis, porém em uma frequência mais baixa do que em pacientes que desenvolvem doenças. Sustenta-se a opinião de que, em pacientes individuais, tais polimorfismos múltiplos são co-herdados e, juntos, contribuem para o desenvolvimento da doença. Um dos desafios contínuos neste campo de estudo é compreender a interação dos múltiplos genes, uns com os outros e em conjunto com fatores ambientais.

A seguir, encontram-se os genes mais bem caracterizados associados às doenças autoimunes, assim como o entendimento atual sobre a forma como podem contribuir para a perda da autotolerância.

### Associação de Alelos de MHC com Autoimunidade

***Dentre os genes que estão associados à autoimunidade, as associações mais fortes são com os genes MHC.*** De fato, em muitas doenças autoimunes (como o

diabetes tipo 1), 20 a 30 genes associados à doença já foram identificados; na maioria dessas doenças, o locus do HLA sozinho contribui com metade ou mais da suscetibilidade genética. A genotipagem de HLA de grandes grupos de pacientes, com diversas doenças autoimunes, mostra que alguns alelos HLA ocorrem com maior frequência nesses pacientes do que na população geral. A partir destes estudos, pode-se calcular a probabilidade de desenvolvimento de uma doença em indivíduos que herdaram alelos HLA variados (frequentemente refere-se a essa chance como risco relativo) (Tabela 15-2). A associação mais forte ocorre entre a espondilite anquilosante (uma doença inflamatória nas articulações vertebrais, presumivelmente autoimune) e o alelo B27 HLA classe I. Indivíduos HLA-B27 positivos são 100 vezes mais propensos a desenvolverem espondilite anquilosante do que indivíduos HLA-B27 negativos. Não se sabe o mecanismo desta doença nem tampouco a base de sua associação com o HLA-B27. A associação dos alelos HLA-DR e HLA-DQ classe II com doenças autoimunes tem recebido muita atenção, principalmente porque as moléculas MHC classe II estão envolvidas na seleção e ativação das células T CD4<sup>+</sup>. As células T CD4<sup>+</sup> regulam as respostas imunológicas humorais e mediadas por célula a antígenos proteicos.

**Tabela 15-2****Associação dos Alelos HLA com Doença Autoimune**

Doença	Alelo HLA	Razão de Chances ( <i>Odds Ratio</i> ) <sup>1</sup>
Artrite reumatoide (Ab anti-CCP positivo) <sup>2</sup>	<i>DRB1</i> , alelo SE 1 <sup>3</sup>	4
	<i>DRB1</i> , alelo SE 2	12
Diabetes tipo 1	Haplótipo	4
	<i>DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201</i>	8
	Haplótipo	35
	<i>DRB1*0401-DQA1*0301-DQB1*0302</i> Heterozigotos <i>DRB1*0301/0401</i>	
Esclerose múltipla	<i>DRB1*1501</i>	3
Lúpus eritematoso sistêmico	<i>DRB1*0301</i>	2
	<i>DRB1*1501</i>	1,3
Espondilite anquilosante	<i>B*27</i> (principalmente <i>B*2705</i> e <i>B*2702</i> )	100-200
Doença celíaca	Haplótipo <i>DQA1*0501-DQB1*0201</i>	7

<sup>1</sup>As razões de chances (*odds ratio*) aproximam valores de risco aumentados de doença, associados à hereditariedade de alelos HLA particulares. Os dados são de populações europeias ancestrais. Alelos de genes MHC individuais (p. ex., *DRB1*) são indicados por 4 números (p. ex.. 0301), com base na tipagem sorológica e molecular.

<sup>2</sup>Ab anti-CCP, anticorpos direcionados contra peptídeos citrulinados cíclicos. Os dados são de pacientes que foram positivos para esses anticorpos no soro.

<sup>3</sup>SE refere-se a epítipo compartilhado (do inglês *shared epitope*), assim chamado porque consiste em uma sequência consensual na proteína *DRB1* (posições 70-74), presente em múltiplos alelos *DRB1*.

(Cortesia de Dra Michelle Fernando, Kings College, London.)

Diversas características da associação dos alelos HLA com doenças autoimunes são dignas de nota.

- Uma associação doença-HLA pode ser identificada pela tipagem sorológica de um locus de HLA, mas a associação real pode ocorrer com outros alelos que estão ligados ao alelo genotipado e que foram herdados juntos. Por exemplo, indivíduos com um alelo HLA-DR particular (hipoteticamente DR1) podem mostrar maior probabilidade de herdar um alelo HLA-DQ particular (hipoteticamente DQ2) do que estes alelos separados e aleatoriamente (p. ex., em equilíbrio) na população. Tal hereditariedade é um exemplo de desequilíbrio de ligação. Pode-se achar que uma doença está associada ao DR1 pela tipagem do HLA, mas a associação causal pode ser, na verdade, com o DQ2 co-herdado. Esta compreensão enfatizou o conceito de haplótipos de HLA estendidos, que se refere a conjuntos de genes ligados (tanto genes HLA-clássicos quanto genes adjacentes não HLA) que



tendem a ser herdados juntos, como uma única unidade.

- Em muitas doenças autoimunes, os polimorfismos de nucleotídios associados à doença codificam aminoácidos nas fendas de ligação de peptídeos das moléculas MHC. Esta observação não é de surpreender, porque os resíduos polimórficos das moléculas MHC localizam-se dentro e ao redor das fendas, e a estrutura das fendas é o determinante-chave de ambas as funções das moléculas MHC, que são a apresentação de antígeno e o reconhecimento pelas células T (Cap. 6).
- Sequências HLA associadas a doenças são encontradas em indivíduos saudáveis. De fato, se todos os indivíduos que carregam um alelo HLA particular associado à doença forem monitorados prospectivamente, a maioria deles nunca desenvolverá a doença. Portanto, a expressão de um gene HLA particular não é, por si só, a causa de qualquer doença autoimune, mas pode ser um dos diversos fatores que contribuem para a autoimunidade.

Os mecanismos subjacentes à associação de diferentes alelos HLA com várias doenças autoimunes ainda não estão claros. Nas doenças em que alelos MHC particulares aumentam o risco de doença, a molécula MHC associada à doença pode apresentar um autopeptídeo e ativar células T patogênicas, o que parece ter sido estabelecido em alguns casos. Quando um alelo em particular mostra ser protetor, a hipótese é que este alelo pode induzir seleção negativa de algumas células T potencialmente patogênicas ou que pode promover o desenvolvimento de células T regulatórias.

### **Polimorfismos em Genes Não HLA Associados à Autoimunidade**

Análises de ligação de doenças autoimunes identificaram poucos genes associados à doença e muitas regiões cromossômicas nas quais a identidade dos genes associados foi especulada, mas não estabelecida. Os estudos associativos de mapeamento genômico levaram à suposta identificação de polimorfismos de nucleotídios (variantes) de diversos genes que estão associados a doenças autoimunes; essa identificação vem ampliando-se bastante por meio dos recentes esforços no sequenciamento do genoma (Tabela 15-3). Antes de discutir sobre os genes que são mais claramente validados, é importante resumir algumas das características gerais desses genes.

**Tabela 15-3****Polimorfismos Genéticos Não HLA Seleccionados Associados às Doenças Autoimunes**

Gene de Interesse	Função	Doenças
Genes Envolvidos na Regulação Imunológica		
<i>PTPN22</i>	Proteína tirosinofosfatase; papel na sinalização de receptores de células T e B	DM1, AR, DII
<i>CD2/CD58</i>	Coestimuladores de células T	AR, EM
<i>IL23R</i>	Componente do receptor de IL-23; participa na produção e manutenção das células T <sub>H</sub> 17	DII, PS, EA
<i>IL10</i>	Regula negativamente a expressão de coestimuladores, moléculas MHC, IL-12 em células dendríticas; inibe as respostas T <sub>H</sub> 1	DII, SLE, DM1
<i>CTLA4</i>	Receptor inibitório de células T, molécula efetora de células T regulatórias	DM1, AR
<i>IL2/IL21</i>	Fatores de crescimento e diferenciação para células T; IL-2 está envolvida na manutenção de Tregs funcionais	DII, DCe, AR, DM1, EM
<i>IL12B</i>	Subunidade p40 da IL-12 (citocina indutora de T <sub>H</sub> 1) e IL-23 (citocina indutora de T <sub>H</sub> 17)	DII, PS
<i>BLK</i>	Tirosinquinase de linfócito B, envolvida na ativação da célula B	SLE, AR
<i>IL2RA</i>	Cadeia $\alpha$ de receptor de IL-2 (CD25); papel na ativação da célula T e na manutenção de células T regulatórias	EM, DM1
Genes Envolvidos nas Respostas a Microrganismos		
<i>NOD2</i>	Sensor citoplasmático de bactéria	DII
<i>ATG16</i>	Autofagia (destruição de microrganismos, manutenção da integridade das células epiteliais)	DII
<i>IRP5, IFIH1</i>	Respostas do interferon tipo I a vírus	SLE

EA, espondilite anquilosante; DCe, doença celíaca; DII, doença inflamatória intestinal; EM, esclerose múltipla; PS, psoríase; AR, artrite reumatoide; SLE, lúpus eritematoso sistêmico; DM1, diabetes tipo 1.

Dados de Zenewicz L, Abraham C, Flavell RA, Cho J: Unraveling the genetics of autoimmunity, Cell 140:791-797, 2010, com permissão do editor.

- Parece que combinações de múltiplos polimorfismos genéticos herdados, em interação com fatores ambientais, induzem as anormalidades imunológicas que levam à autoimunidade. Entretanto, há exemplos de variações genéticas raras que fazem contribuições individuais muito maiores para doenças particulares.
- Muitos dos polimorfismos associados a várias doenças autoimunes estão em genes que influenciam o desenvolvimento e a regulação das respostas imunológicas. Embora essa conclusão pareça previsível, ela serve para reforçar a utilidade das abordagens que estão sendo utilizadas na identificação de genes associados a doenças.
- Polimorfismos diferentes tanto podem proteger contra o desenvolvimento de uma doença quanto aumentar a incidência da mesma. Os métodos estatísticos usados nos estudos de associação genômica revelaram ambos os tipos de associações.
- Frequentemente, os polimorfismos associados a doenças localizam-se em regiões não codificáveis dos genes. Isso sugere que muitos dos polimorfismos podem afetar a expressão de proteínas codificadas.

Alguns dos genes associados a doenças autoimunes humanas, que foram definidos por análise de ligação, estudos associativos de mapeamento do genoma e sequenciamento genômico completo, encontram-se descritos adiante.

- ***PTPN22***. Uma variante da proteína tirosinofosfatase *PTPN22*, em que a arginina na posição 620 é substituída por um triptofano, está associada a artrite reumatoide,

diabetes tipo 1, tireoidite autoimune e outras doenças autoimunes. A variante associada à doença causa complexas alterações de sinalização em múltiplas populações de células imunológicas. Ainda não se sabe, precisamente, de que forma essas alterações levam à autoimunidade.

- **NOD2.** Polimorfismos neste gene associam-se à doença de Crohn, um tipo de doença inflamatória intestinal. O NOD2 é um sensor citoplasmático de peptidoglicanos de bactérias (Cap. 4), sendo expresso em diversos tipos celulares, incluindo as células epiteliais do intestino. Acredita-se que o polimorfismo associado à doença reduz a função do NOD2, que não pode fornecer defesa efetiva contra certos microrganismos intestinais. Como resultado, esses microrganismos são capazes de atravessar o epitélio e iniciar uma reação inflamatória crônica na parede intestinal, o que é o marco principal da doença inflamatória intestinal (Cap. 14).
- **Insulina.** Polimorfismos no gene da insulina, que codifica números variáveis de sequências repetidas, estão associados ao diabetes tipo 1. Esses polimorfismos podem afetar a expressão típica da insulina. Postula-se que, se a proteína é expressa em níveis baixos no timo por causa de um polimorfismo genético, as células T em desenvolvimento (específicas para insulina) não podem ser selecionadas negativamente. Estas células sobrevivem no repertório imunológico maduro e são capazes de atacar células  $\beta$  da ilhota produtora de insulina, causando diabetes.
- **CD25.** Polimorfismos que afetam a expressão ou função do CD25, a cadeia  $\alpha$  do receptor de IL-2, estão associados a esclerose múltipla, diabetes tipo 1 e outras doenças autoimunes. Estas mudanças no CD25 afetam de igual forma a produção ou função das células T regulatórias, embora não haja evidência definitiva para uma ligação causal entre a anormalidade do CD25, defeitos da célula T regulatória e a doença autoimune.
- **Receptor de IL-23 (IL-23R).** Alguns polimorfismos no receptor de IL-23 estão associados à suscetibilidade aumentada para doença inflamatória intestinal e para a psoríase (doença da pele), enquanto outros polimorfismos protegem contra o desenvolvimento dessas doenças. A IL-23 é uma das citocinas envolvidas no desenvolvimento das células  $T_H17$ , que estimulam reações inflamatórias (Cap. 10).
- **ATG16L1.** Um polimorfismo de perda de função neste gene, no qual a treonina na posição 300 é substituída por uma alanina, associa-se à doença inflamatória intestinal. O ATG16L1 é uma proteína (parte de uma família de proteínas) envolvida em autofagia, uma resposta celular a infecção, privação de nutrientes e outras formas de estresse. Neste processo, a célula que sofre estresse ingere suas próprias organelas, a fim de fornecer substratos para geração de energia e metabolismo; também pode ser o caso de uma célula infectada capturar microrganismos intracelulares e orientá-los para os lisossomos. A autofagia pode desempenhar papéis importantes como manter as células epiteliais intestinais

intactas ou destruir microrganismos que tenham entrado no citoplasma. Também é um mecanismo de entrega dos componentes do citosol para a via MHC classe II nas células apresentadoras de antígenos. Um alelo de suscetibilidade *ATG16L1* codifica uma proteína que é destruída mais rapidamente em condições de estresse, o que resulta em remoção autofágica defeituosa dos microrganismos intracelulares. Ainda não se sabe de que forma este polimorfismo contribui para a doença inflamatória intestinal.

Embora já tenham sido reportadas muitas associações genéticas com doenças autoimunes, a correlação dos polimorfismos genéticos com a patogênese das doenças continua sendo um desafio. Também é possível que mudanças epigenéticas possam regular a expressão gênica, contribuindo para o surgimento da doença. Esta possibilidade ainda precisa ser elucidada.

## **Anormalidades de Gene Único Herdadas (Mendelianas) que Causam Autoimunidade**

***Estudos em modelos de camundongo e pacientes identificaram diversos genes que influenciam fortemente a manutenção da tolerância a autoantígenos*** (Tabela 15-4). Ao contrário dos polimorfismos complexos descritos anteriormente, esses defeitos de gene único são exemplos de distúrbios mendelianos nos quais a mutação é rara, mas apresenta uma alta penetrância, de modo que muitos indivíduos que carregam a mutação são afetados. Muitos desses genes foram mencionados anteriormente no capítulo, quando foram discutidos os mecanismos de autotolerância. Embora esses genes estejam associados a doenças autoimunes raras, sua identificação forneceu informações valiosas a respeito da importância de várias vias moleculares na manutenção da autotolerância. Os genes conhecidos contribuem para os mecanismos estabelecidos de tolerância central (*AIRE*), produção de células T regulatórias (*FOXP3*, *IL2*, *IL2R*), anergia e função das células T regulatórias (*CTLA4*), e deleção periférica de linfócitos T e B (*FAS*, *FASL*). Adiante descreveremos dois outros genes que estão associados a doenças autoimunes em humanos.

**Tabela 15-4**

**Exemplos de Mutações de Gene Único que Causam Doenças Autoimunes**

Gene	Fenótipo de Camundongo Mutante ou Deficiente	Mecanismo de Falha da Tolerância	Doença Humana?
<i>AIRE</i>	Destruição de órgãos endócrinos por anticorpos, linfócitos	Falência da tolerância central	Síndrome poliendócrina autoimune (SPA)
<i>C4</i>	SLE	Remoção defeituosa dos complexos imunológicos; falha na tolerância da célula B	SLE
<i>CTLA4</i>	Linfoproliferação; infiltrados de células T em múltiplos órgãos, especialmente no coração; letal de 3 a 4 semanas	Falha na anergia de células T CD4 <sup>+</sup> ; função defeituosa das células T regulatórias	Polimorfismos de CTLA4 associados a várias doenças autoimunes
<i>FAS/FASL</i>	Anti-DNA e outros autoanticorpos; nefrite mediada por complexo imune; artrite; linfoproliferação	Deleção defeituosa de células B autorreativas anérgicas; deleção reduzida de células T CD4 <sup>+</sup> maduras	Síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS)
<i>FOXP3</i>	Infiltrados linfocíticos em órgãos múltiplos, deletério	Deficiência de células T regulatórias funcionais	IPEX
<i>IL2, IL2R<math>\alpha</math>/<math>\beta</math></i>	Doença inflamatória intestinal; autoanticorpos antieritrócitos e anti-DNA	Defeitos no desenvolvimento, sobrevivência ou função das células T regulatórias	Nenhuma conhecida
<i>SHP1</i>	Autoanticorpos múltiplos	Falha na regulação negativa de células B	Nenhuma conhecida

*AIRE*, gene regulador autoimune; *IL-2*, interleucina-2; *IPEX*, desregulação imunológica, poliendocrinopatia e enteropatia ligada ao X; *SHP-1*, fosfatase 1 contendo SH2; *SLE*, lúpus eritematoso sistêmico.

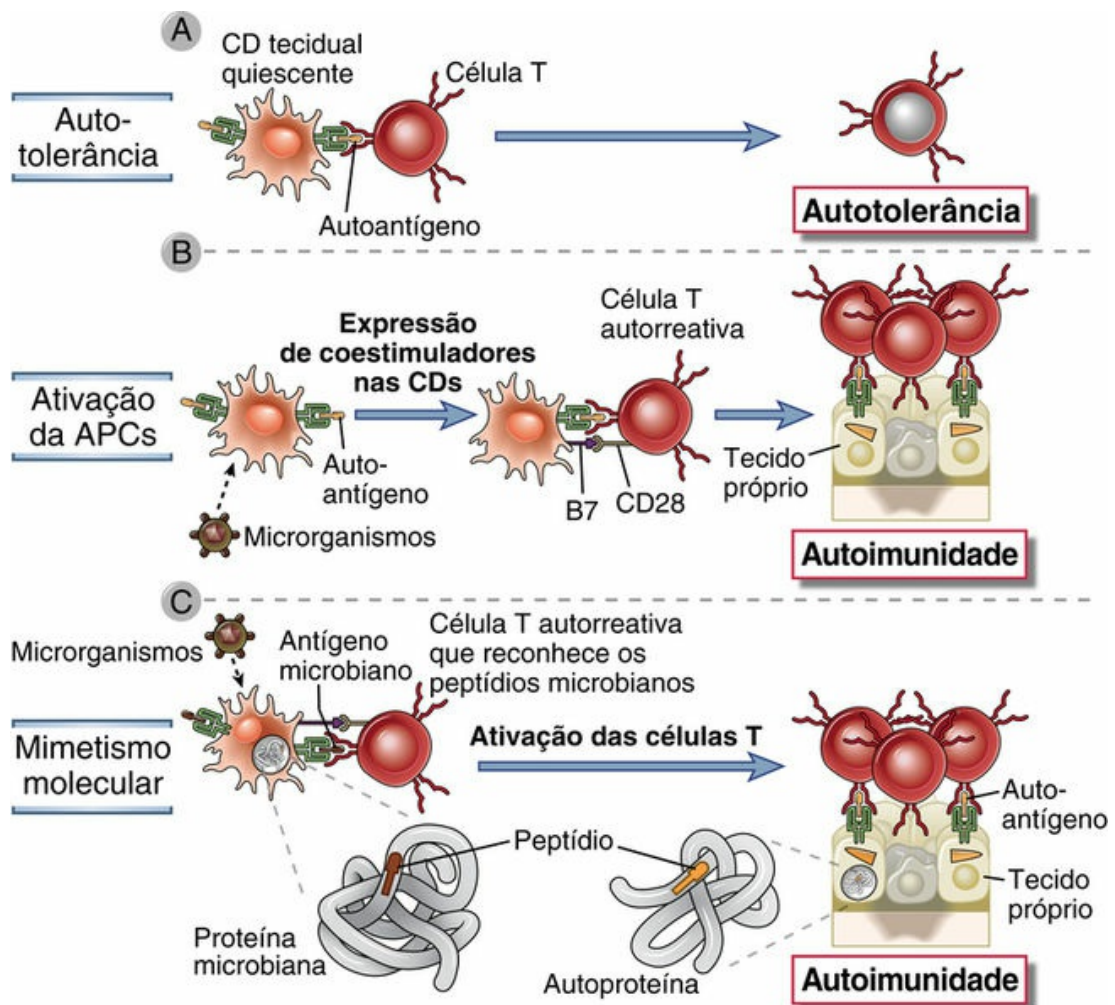
- **Genes que codificam proteínas do complemento.** Deficiências genéticas de diversas proteínas do complemento, incluindo C1q, C2 e C4 (Cap. 13), estão associadas a doenças autoimunes similares ao lúpus. O mecanismo proposto nesta associação é que a ativação do complemento promove a remoção dos complexos imunológicos circulantes e corpos celulares apoptóticos; na ausência de proteínas do complemento, esses complexos acumulam-se no sangue e são depositados nos tecidos, sendo que também há uma persistência dos antígenos das células mortas.
- **FcyRIIB.** Um polimorfismo que troca uma isoleucina por uma treonina no domínio transmembranar deste receptor Fc inibitório (Cap. 12) prejudica a sinalização inibitória, estando associado ao SLE em humanos. A deleção gênica deste receptor em camundongos também resulta em uma doença autoimune similar ao lúpus. O mecanismo provável da doença é uma falha no controle da retroalimentação negativa mediada por anticorpo das células B.

## Papel das Infecções na Autoimunidade

**Infecções virais e bacterianas podem contribuir para o desenvolvimento e exacerbação da autoimunidade.** Em pacientes e em alguns modelos animais, o surgimento das doenças autoimunes frequentemente está associado a infecções ou é precedido pelas mesmas. Na maioria desses casos, o microrganismo infeccioso não está presente em lesões nem mesmo é detectável no indivíduo quando a autoimunidade se desenvolve. Portanto, as lesões da autoimunidade não se devem ao agente infeccioso por si só, mas resultam das respostas imunológicas do indivíduo, que podem ser disparadas ou desreguladas pelo microrganismo.

As infecções podem promover o desenvolvimento da autoimunidade por meio de

dois mecanismos principais (Fig. 15-12).



**FIGURA 15-12** Papel das infecções no desenvolvimento da autoimunidade.

**A**, Normalmente, o encontro de uma célula T autorreativa madura com um autoantígeno apresentado por uma célula apresentadora de antígeno (APC) em estado quiescente com deficiência de coestimulador resulta em tolerância periférica por anergia. (Outros mecanismos possíveis de autotolerância não estão ilustrados.) **B**, Microrganismos podem ativar as APCs para que expressem coestimuladores; quando essas APCs apresentam autoantígenos, as células T autorreativas são ativadas em vez de se tornarem tolerantes. **C**, Alguns antígenos microbianos podem apresentar reação cruzada com autoantígenos (mimetismo molecular). Portanto, respostas imunológicas iniciadas por microrganismos podem ativar células T específicas para autoantígenos.



- Infecções de tecidos particulares podem induzir respostas imunológicas inatas locais que recrutam leucócitos para esses tecidos, resultando na ativação de APCs teciduais. Essas APCs começam a expressar coestimuladores e a secretar citocinas ativadoras de células T, resultando no colapso da tolerância da célula T. Sendo assim, a infecção resulta na ativação de células T que não são específicas para o patógeno infeccioso; esse tipo de resposta é denominada *bystander activation*. A importância da expressão aberrante de coestimuladores é sugerida pela evidência experimental de que a imunização de camundongos com autoantígenos (juntamente a fortes adjuvantes, que mimetizam microrganismos) resulta no colapso da autotolerância e no desenvolvimento de doença autoimune. Em outros modelos experimentais, antígenos virais expressos em tecidos como as células  $\beta$  das ilhotas induzem tolerância na célula T. Entretanto, a infecção sistêmica de camundongos com o vírus resulta em falência da tolerância e destruição das células produtoras de insulina.

Microrganismos podem encontrar receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*) em células dendríticas, levando à produção de citocinas ativadoras de linfócitos; microrganismos também podem encontrar células B autorreativas, levando à produção de autoanticorpo. Modelos murinos de SLE já demonstraram o papel da sinalização TLR na autoimunidade.

- Microrganismos infecciosos podem conter antígenos que têm reatividade cruzada com autoantígenos; então, respostas imunológicas a esses microrganismos podem resultar em reações contra autoantígenos. Este fenômeno chama-se **mimetismo molecular**, porque os antígenos do microrganismo mimetizam os autoantígenos. Um exemplo de reatividade imunológica cruzada entre antígenos microbianos e autoantígenos é a febre reumática que se desenvolve após infecções estreptocócicas, sendo causada por anticorpos antiestreptocócicos que têm reatividade cruzada com proteínas do miocárdio. Esses anticorpos são depositados no coração, causando miocardite. O sequenciamento molecular revelou numerosos trechos curtos de homologias entre proteínas miocárdicas e proteínas estreptocócicas. Contudo, a significância de homologias limitadas entre antígenos microbianos e autoantígenos em doenças autoimunes comuns ainda precisa ser estabelecida.

**Algumas infecções podem proteger contra o desenvolvimento da autoimunidade.** Estudos epidemiológicos sugerem que a redução de infecções aumenta a incidência de diabetes tipo 1 e esclerose múltipla. Estudos experimentais mostram que o diabetes em camundongos NOD passa a ser retardado se os animais estiverem com infecção. Parece paradoxal que as infecções possam funcionar como gatilhos da autoimunidade e, ao mesmo tempo, possam inibir doenças autoimunes. Ainda se desconhece a forma pela qual as infecções podem reduzir a incidência de doenças autoimunes.

**A microbiota intestinal e cutânea pode influenciar o desenvolvimento de**

**doenças autoimunes.** Conforme discutido no [Capítulo 14](#), há um grande interesse na ideia de que humanos são colonizados por microrganismos comensais que têm efeitos significativos na maturação e ativação do sistema imunológico. Não é de surpreender que alterações na microbiota também afetem a incidência e gravidade de doenças autoimunes em modelos experimentais. O modo pelo qual essa ideia pode ser explorada para tratar a autoimunidade é um tópico de grande interesse.

## Outros Fatores na Autoimunidade

O desenvolvimento da autoimunidade está relacionado com vários fatores, além de suscetibilidade genética e infecções.

- **Alterações anatômicas em tecidos, causadas por inflamação (possivelmente secundárias a infecções), lesão isquêmica ou trauma, podem levar à exposição de autoantígenos que normalmente são ocultados do sistema imunológico.** Tais antígenos isolados podem não ter induzido autotolerância. Portanto, se autoantígenos previamente ocultos são liberados, estes podem interagir com linfócitos imunocompetentes e induzir respostas imunológicas específicas. Exemplos de antígenos isolados anatomicamente incluem proteínas intraoculares e esperma. Pensa-se que a uveíte e a orquite pós-traumáticas se devem a respostas autoimunes contra autoantígenos que são liberados de suas localizações normais através de trauma.
- **Influências hormonais têm papel em algumas doenças autoimunes.** Muitas doenças autoimunes têm maior incidência em mulheres do que em homens. Por exemplo, o SLE afeta mulheres com 10 vezes mais frequência do que homens. A doença semelhante a lúpus em camundongos F<sub>1</sub> (NZB x NZW) desenvolve-se apenas em fêmeas, podendo ser retardada pelo tratamento com andrógenos. Não se sabe se essa predominância em fêmeas resulta da influência dos hormônios sexuais ou de outros fatores relacionados com o gênero.

As doenças autoimunes estão entre os problemas científicos e clínicos mais desafiadores em imunologia. O conhecimento atual dos mecanismos patogênicos permanece incompleto, então, teorias e hipóteses são mais numerosas que fatos. Espera-se que a aplicação de novas tecnologias e o conhecimento sobre autotolerância (que avança rapidamente) levem a respostas mais claras e definitivas sobre os enigmas da autoimunidade.

## Resumo

Tolerância imunológica é a não responsividade a um antígeno, induzida pela exposição de linfócitos específicos a este antígeno. A tolerância a autoantígenos é uma propriedade fundamental do sistema imunológico normal; a falha da autotolerância leva às doenças autoimunes. Pode-se administrar antígenos de

forma a induzir tolerância em vez de imunidade, o que pode ser explorado para a prevenção e tratamento de rejeição a transplante e doenças alérgicas e autoimunes.

A tolerância central é induzida nos órgãos linfoides centrais (timo e medula óssea), quando linfócitos imaturos encontram autoantígenos presentes nestes órgãos. A tolerância periférica ocorre quando linfócitos maduros reconhecem autoantígenos em tecidos periféricos em condições particulares.

Em linfócitos T, a tolerância central ocorre quando tímócitos imaturos com receptores de alta afinidade para autoantígenos reconhecem esses antígenos no timo.

Algumas células T imaturas que encontram autoantígenos no timo morrem (seleção negativa), enquanto outras desenvolvem-se em linfócitos T regulatórios

FoxP3<sup>+</sup> que têm função de controlar respostas a autoantígenos em tecidos periféricos.

Diversos mecanismos são responsáveis pela tolerância periférica em células T

maduras. Em células CD4<sup>+</sup>, a anergia é induzida pelo reconhecimento do antígeno sem coestimulação adequada ou por envolvimento de receptores inibitórios como o CTLA-4 e o PD-1. Células T regulatórias inibem respostas imunológicas através de mecanismos múltiplos. Células T que encontram autoantígenos sem outro estímulo ou que são estimuladas repetidamente podem morrer por apoptose.

Em linfócitos B, a tolerância central é induzida quando células B imaturas reconhecem autoantígenos polivalentes na medula óssea. O resultado é a aquisição de uma nova especificidade, chamada edição de receptor, ou a morte por apoptose das células B imaturas. Células B maduras que reconhecem autoantígenos na periferia (na ausência de ajuda de célula T) podem tornar-se anérgicas, morrendo por apoptose ou tornando-se funcionalmente não responsivas por causa da ativação de receptores inibitórios.

A autoimunidade resulta da falência da autotolerância. Em indivíduos geneticamente suscetíveis, reações autoimunes podem ser disparadas por estímulos ambientais como infecções.

A maioria das doenças autoimunes é poligênica, e numerosos genes suscetíveis contribuem para o desenvolvimento das mesmas. A maior contribuição é dos genes MHC; acredita-se que outros genes contribuam para influenciar a seleção ou regulação de linfócitos autorreativos.

Infecções podem predispor à autoimunidade através de diversos mecanismos, incluindo expressão elevada de coestimuladores nos tecidos e reações cruzadas entre antígenos de microrganismos e autoantígenos. Algumas infecções podem proteger indivíduos da autoimunidade através de mecanismos desconhecidos.

## Leituras selecionadas

## **Tolerância Imunológica, Mecanismos Gerais**

- Baxter, A. G., Hodgkin, P. D. Activation rules: the two-signal theories of immune activation. *Nature Reviews Immunology*. 2002; 2:439–446.
- Goodnow, C. C., Sprent, J., Fazekas de St Groth, B., Vinuesa, C. G. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*. 2005; 435:590–597.
- Mueller, D. L. Mechanisms maintaining peripheral tolerance. *Nature Immunology*. 2010; 11:21–27.
- Parish, I. A., Heath, W. R. Too dangerous to ignore: self-tolerance and the control of ignorant autoreactive T cells. *Immunology Cell Biology*. 2008; 86:146–152.
- Probst, H. C., Muth, S., Schild, H. Regulation of tolerogenic function of steady-state DCs. *European Journal of Immunology*. 2014; 44:927–933.
- Redmond, W. L., Sherman, L. A. Peripheral tolerance of CD8 T lymphocytes. *Immunity*. 2005; 22:275–284.
- Schwartz, R. H. Historical overview of immunological tolerance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 4, 2012.
- Shlomchik, M. J. Sites and stages of autoreactive B cell activation and regulation. *Immunity*. 2008; 28:18–28.
- Steinman, R. M., Hawiger, D., Nussenzweig, M. C. Tolerogenic dendritic cells. *Annual Review of Immunology*. 2003; 21:685–711.
- Von Boehmer, H., Melchers, F. Checkpoints in lymphocyte development and autoimmune disease. *Nature Immunology*. 2010; 11:14–20.

## **Tolerância Central**

- Hogquist, K. A., Baldwin, T. A., Jameson, S. C. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5:772–782.
- Kyewski, B., Klein, L. A central role for central tolerance. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:571–606.
- Laan, M., Peterson, P. The many faces of Aire in central tolerance. *Frontiers in Immunology*. 2013; 4:1–6.
- Mathis, D., Benoist, C. *Aire*. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:287–312.
- Nemazee, D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. *Nature Reviews Immunology*. 2006; 6:728–740.

## **Anergia; Receptores Inibitórios**

- Mueller, D. L. E3 ubiquitin ligases as T cell anergy factors. *Nature Immunology*. 2004; 5:883–890.

- Okazaki, T., Chikuma, S., Iwai, Y., Fagarasan, S., Honjo, T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical applications. *Nature Immunology*. 2013; 14:1212–1218.
- Walker, L. S., Sansom, D. M. The emerging role of CTLA-4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:852–863.
- Wells, A. D. New insights into the molecular basis of T cell anergy: anergy factors, avoidance sensors, and epigenetic imprinting. *Journal of Immunology*. 2009; 182:7331–7341.

## **Apoptose**

- Bidere, N., Su, H. C., Lenardo, M. J. Genetic disorders of programmed cell death in the immune system. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:321–352.
- Griffith, T. S., Ferguson, T. A. Cell death in the maintenance and abrogation of tolerance: the five Ws of dying cells. *Immunity*. 2011; 35:456–466.
- Strasser, A., Jost, P. J., Nagata, S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. *Immunity*. 2009; 30:321–326.
- Strasser, A., Puthalakath, H., O'Reilly, L. A., Bouillet, P. What do we know about the mechanisms of elimination of autoreactive T and B cells and what challenges remain. *Immunology and Cell Biology*. 2008; 86:57–66.

## **Células T Regulatórias**

- Bilate, A. M., Lafaille, J. J. Induced CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in immune tolerance. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:733–758.
- Burzyn, D., Benoist, C., Mathis, D. Regulatory T cells in nonlymphoid tissues. *Nature Immunology*. 2013; 14:1007–1013.
- Campbell, D. J., Koch, M. A. Phenotypic and functional specialization of FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:119–130.
- Curotto, M. A., Lafaille, J. L. Natural and adaptive Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells: more of the same or a division of labor? *Immunity*. 2009; 30:626–635.
- Hsieh, C.-S., Lee, M.-H., Lio, C.-W. J. Selection of regulatory T cells in the thymus. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:157–167.
- Josefowicz, S. Z., Lu, L.-F., Rudensky, Y. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:531–564.
- Li, M. O., Flavell, R. A. TGF- $\beta$ : a master of all T cell trades. *Cell*. 2008; 134:392–404.
- Liston, A., Gray, D. H.D. Homeostatic control of regulatory T cell diversity. *Nature Reviews Immunology*. 2014; 14:154–165.
- Liston, A., Piccirillo, C. A. Developmental plasticity of murine and human Foxp3<sup>+</sup>

- regulatory T cells. *Advances in Immunology*. 2013; 119:85–106.
- Ohkura, N., Kitagawa, Y., Sakaguchi, S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity*. 2013; 38:414–423.
- Riley, J. L., June, C. H., Blazar, B. R. Human T regulatory cell therapy: take a billion or so and call me in the morning. *Immunity*. 2009; 30:656–665.
- Sakaguchi, S., Miyara, M., Costantino, C. M., Hafler, D. A. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in the human immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:490–500.
- Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., Ono, M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008; 133:775–787.
- Tang, Q., Bluestone, J. A. The Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nature Immunology*. 2008; 9:239–244.
- Wing, K., Sakaguchi, S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nature Immunology*. 2010; 11:7–13.
- Ziegler, S. F. FoxP3: of mice and men. *Annual Review of Immunology*. 2006; 6:209–226.

### **Mecanismos de Autoimunidade: Fatores Genéticos**

- Cheng, M. H., Anderson, M. S. Monogenic autoimmunity. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:393–427.
- Deitiker, P., Atassi, M. Z. Non-MHC genes linked to autoimmune disease. *Critical Reviews of Immunology*. 2012; 32:193–285.
- Fernando, M. M., Stevens, C. R., Walsh, E. C., De Jager, P. L., Goyette, P., Plenge, R. M., Vyse, T. J., Rioux, J. D. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS Genetics*. 4, 2008. [e1000024].
- Gregersen, P. K., Olsson, L. M. Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:363–391.
- Pascual, V., Chaussabel, D., Banchereau, J. A genomic approach to human autoimmune diseases. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:535–571.
- Voight, B. F., Cotsapas, C. Human genetics offers an emerging picture of common pathways and mechanisms in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology*. 2012; 24:552–557.
- Zenewicz, L., Abraham, C., Flavell, R. A., Cho, J. Unraveling the genetics of autoimmunity. *Cell*. 2010; 140:791–797.

### **Mecanismos de Autoimunidade: Fatores Ambientais**

- Belkaid, Y., Hand, T. W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014; 157:121–141.



Chervonsky, A. Influence of microbial environment on autoimmunity. *Nature Immunology*. 2010; 11:28–35.

Fourneau, J. M., Bach, J. M., van Endert, P. M., Bach, J. F. The elusive case for a role of mimicry in autoimmune diseases. *Molecular Immunology*. 2004; 40:1095–1102.

Mathis, D., Benoist, C. Microbiota and autoimmune disease: the hosted self. *Cell Host Microbes*. 2011; 10:297–301.

## CAPÍTULO 16

# Imunidade aos Microrganismos

### VISÃO GERAL DAS RESPOSTAS IMUNES CONTRA MICRORGANISMOS

#### IMUNIDADE A BACTÉRIAS EXTRACELULARES

Imunidade Inata contra Bactérias Extracelulares

A Imunidade Adaptativa contra Bactérias Extracelulares

Efeitos Prejudiciais das Respostas Imunes a Bactérias Extracelulares

Evasão da Resposta Imunológica por Bactérias Extracelulares

#### IMUNIDADE CONTRA BACTÉRIAS INTRACELULARES

Imunidade Inata contra Bactérias Intracelulares

A Imunidade Adaptativa contra Bactérias Intracelulares

Evasão da Resposta Imunológica por Bactérias Intracelulares

#### IMUNIDADE CONTRA FUNGOS

Imunidade Inata e Adaptativa contra Fungos

#### IMUNIDADE CONTRA VÍRUS

Imunidade Inata contra Vírus

Imunidade Adaptativa contra Vírus

Evasão da Resposta Imunológica pelos Vírus

#### IMUNIDADE CONTRA PARASITAS

Imunidade Inata contra Parasitas

A Imunidade Adaptativa contra Parasitas

Evasão da Resposta Imunológica por Parasitas

#### ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Vacinas Bacterianas e Virais Atenuadas e Inativadas

Vacinas de Antígeno Purificado (Subunidade)

Vacinas de Antígenos Sintéticos

Vacinas de Vírus Vivos Envolvendo Vírus Recombinantes

Vacinas de DNA

Adjuvantes e Imunomoduladores

A Imunização Passiva

Nos capítulos anteriores, descrevemos os componentes do sistema imunológico e o desenvolvimento e as funções das respostas imunes. Durante todo o livro, temos feito referência à proteção contra infecções como a maior função fisiológica do sistema imunológico, e discutido as respostas imunes no contexto das respostas a microrganismos. Neste capítulo, vamos integrar esta informação e discutir as principais características da imunidade contra diferentes tipos de microrganismos patogênicos, assim como os mecanismos que os microrganismos usam para resistir às defesas do sistema imune.

O desenvolvimento de uma doença infecciosa em um indivíduo envolve interações complexas entre o microrganismo e o hospedeiro. Os principais eventos durante a infecção incluem entrada do microrganismo, invasão e colonização dos tecidos do hospedeiro, evasão de imunidade do hospedeiro, e lesão tecidual ou dano funcional. Microrganismos produzem doença através da morte de células do hospedeiro que infectam, ou liberando toxinas que podem causar dano tecidual e distúrbios funcionais nas células vizinhas de tecidos distantes que não estão infectadas. Além disso, microrganismos frequentemente causam doenças por estimulação da resposta imunológica que prejudica tanto os tecidos infectados quanto os tecidos normais. Muitas características dos microrganismos determinam sua virulência e muitos e diversos mecanismos contribuem para a patogênese das doenças infecciosas. O tópico da patogênese microbiana está além do escopo deste livro e não vai ser discutido aqui. Por outro lado, nossa discussão irá se concentrar nas respostas imunes aos microrganismos patogênicos.

## Visão geral das respostas imunes contra microrganismos

Embora as reações de defesa antimicrobiana do hospedeiro sejam numerosas e variadas, existem algumas importantes características gerais de imunidade aos microrganismos.

- **A defesa contra microrganismos é mediada pelos mecanismos efetores da imunidade inata e adaptativa.** O sistema imune inato fornece a defesa inicial e o sistema imune adaptativo proporciona uma resposta mais forte e sustentada. Muitos microrganismos patogênicos evoluíram para resistir à imunidade inata e a proteção contra essas infecções é criticamente dependente das respostas imunes adaptativas. Nas respostas adaptativas, um grande número de células efetoras e de moléculas de anticorpos são gerados a fim de eliminar os microrganismos e células de memória que protegem o indivíduo de infecções repetidas.
- **O sistema imunológico responde de maneira especializada e distinta a**

**diferentes tipos de microrganismos para combater esses agentes infecciosos da forma mais eficaz possível.** Diferentes microrganismos requerem diferentes mecanismos de eliminação, e o sistema imune adaptativo evoluiu para responder contra microrganismos da melhor forma. A geração dos subgrupos de células T CD4<sup>+</sup> efectoras T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 e T<sub>H</sub>17 e a produção de diferentes isotipos de anticorpos são excelentes exemplos da especialização da imunidade adaptativa. Ambas as respostas foram descritas nos capítulos anteriores; neste capítulo, discutiremos a sua importância na defesa contra diferentes tipos de microrganismos.

- **A sobrevivência e a patogenicidade dos microrganismos em um hospedeiro são criticamente influenciadas pela capacidade dos microrganismos para evadir-se ou resistir aos mecanismos efetores da imunidade.** Os microrganismos infecciosos e o sistema imunológico coevoluíram e estão engajados em uma luta constante para a sobrevivência. O equilíbrio entre a resposta imune do hospedeiro e estratégias microbianas para resistir à imunidade frequentemente determina o resultado de infecções. Como veremos mais adiante neste capítulo, os microrganismos desenvolveram uma variedade de mecanismos para sobrevivência em face das poderosas defesas imunológicas.
- **Muitos microrganismos estabelecem infecções latentes ou persistentes, nas quais a resposta imune controla, mas não elimina o microrganismo e, o microrganismo sobrevive sem propagar a infecção.** A latência é uma característica de infecções por vários vírus, especialmente vírus de DNA das famílias herpes e poxvírus e algumas bactérias intracelulares. Nas infecções virais latentes, o DNA viral pode ser integrado ao DNA das células infectadas, mas nenhum vírus infectante é produzido. Nas infecções bacterianas persistentes, tais como tuberculose, as bactérias podem sobreviver dentro das vesículas endossomais de células infectadas. Em todas essas situações, se o sistema imunológico do hospedeiro torna-se deficiente por qualquer motivo (p. ex., câncer ou tratamento de câncer, imunossupressão para o tratamento de rejeição de transplantes, ou infecção por HIV), o microrganismo latente pode ser reativado, resultando numa infecção que causa problemas clínicos significativos.
- **Em muitas infecções, as lesões teciduais e doenças podem ser causadas pela resposta do hospedeiro ao microrganismo mais do que pelo próprio microrganismo.** A imunidade é necessária para a sobrevivência do hospedeiro, mas também tem o potencial de causar danos ao hospedeiro.
- **Defeitos hereditários e adquiridos na imunidade inata e adaptativa são importantes causas de susceptibilidade a infecções.** Muitos deles são bem conhecidos, incluindo distúrbios como a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), e outras síndromes de imunodeficiência hereditárias menos comuns. Além disso, defeitos sutis e mal definidos em defesas do hospedeiro podem ser a base de muitas infecções

comuns. Descreveremos imunodeficiências em detalhes no [Capítulo 21](#).

Neste capítulo, vamos considerar as principais características da imunidade para as cinco principais categorias de microrganismo patogênicos: bactérias extracelulares, bactérias intracelulares, fungos, vírus e protozoários assim como parasitas multicelulares ([Tabela 16-1](#); ver também [Tabela 16-4](#)). Nossa discussão sobre respostas imunológicas a esses microrganismos ilustra a diversidade de imunidade antimicrobiana e a significância fisiológica das funções efetoras dos linfócitos discutidos nos capítulos anteriores.

**Tabela 16-1****Exemplos de microrganismos patogênicos**

Microrganismo	Exemplos de doenças humanas	Mecanismos de Patogenicidade
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infecções da pele e dos tecidos moles, abscesso pulmonar Sistêmica: síndrome de choque, intoxicação alimentar	Infecções da pele: inflamação aguda induzida por toxinas; morte celular causada por toxinas formadoras de poros Sistêmica: enterotoxina ("superantígeno") - a produção de citocinas por células T que causam necrose da pele, choque, diarreia
<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)	Faringite Infecções da pele; impetigo, erisipela, celulite Sistêmica: febre escarlatina	Inflamação aguda induzida por várias toxinas (p. ex., estreptolisina O lesiona as membranas celulares)
<i>Streptococcus pyogenes</i> (pneumococos)	Pneumonia, meningite	Inflamação aguda induzida por vários constituintes de parede celular; Pneumolisina é semelhante à estreptolisina O
<i>Escherichia coli</i>	Infecções do trato urinário, gastroenterite, choque séptico	As toxinas atuam sobre a secreção de cloreto e água no epitélio intestinal; a endotoxina (LPS) estimula a secreção de citocinas pelos macrófagos
<i>Vibrio cholerae</i>	Diarreia (cólera)	A toxina da cólera ADP ribosila a subunidade da proteína G, que leva ao aumento de AMP cíclico nas células epiteliais intestinais e resulta na secreção de cloreto e perda de água
<i>Clostridium tetani</i>	Tétano	A toxina tetânica se liga à placa motora terminal nas junções neuromusculares e causa contração muscular irreversível
<i>Neisseria meningitidis</i> (meningococos)	Meningite	Inflamação aguda e doença sistêmica causada por uma endotoxina potente
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Difteria	A toxina diftérica ADP ribosila o fator de alongação 2 e inibe a síntese proteica
<b>Bactérias Intracelulares</b>		
<i>Mycobacteria</i>	Tuberculose, hanseníase	Ativação de macrófagos resultando em inflamação granulomatosa e destruição tecidual
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriose	A listeriolisina destrói as membranas celulares
<i>Legionella pneumophila</i>	Doença dos legionários	Citotoxina causa lise nas células e lesão pulmonar e inflamação
<b>Fungos</b>		
<i>Candida albicans</i>	Candidíase	Inflamação aguda; ligação a proteínas do complemento
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergilose	Invasão e trombose dos vasos sanguíneos causando necrose isquêmica e danos celulares
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmose	Infecção pulmonar causada por inflamação granulomatosa
<b>Vírus</b>		
Pólio	Poliomielite	Inibe a síntese proteica das células do hospedeiro (tropismo por neurônios motores no corno anterior da medula espinal)
Influenza	Pneumonia por influenza	Inibe a síntese proteica das células do hospedeiro (tropismo para o epitélio ciliado)
Raiva	Encefalite rábica	Inibe a síntese proteica das células do hospedeiro (tropismo para os nervos periféricos)
Herpes simples	Várias infecções pelo herpes (pele, sistêmica)	Inibe a síntese proteica das células do hospedeiro; comprometimento funcional das células imunológicas
Hepatite B	Hepatites virais	Resposta de CTL do hospedeiro a hepatócitos infectados
Vírus Epstein-Barr	Mononucleose infecciosa; proliferação de células B, linfomas	Infecção aguda: lise celular (tropismo para linfócitos B) Infecção latente: estimula a proliferação de células B
Vírus da imunodeficiência humana (HIV)	Síndrome da imunodeficiência adquirida	Múltiplos: destruição de células T CD4 <sup>+</sup> , comprometimento funcional das células imunológicas (Cap. 20)

Exemplos de microrganismos patogênicos de diferentes classes estão listados, com breves resumos dos mecanismos conhecidos ou postulados de lesão tecidual e doença. Exemplos de parasitas estão listados na [Tabela 16-4](#).

*ADP*, difosfato de adenosina; *AMP*, monofosfato de adenosina; *CTL*, linfócito T citotóxico; *LPS*, lipopolissacarídeo.

Esta tabela foi compilada com o auxílio da Dra. Arlene Sharpe, Department of Pathology, Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital, em Boston, Massachusetts.



## Imunidade a bactérias extracelulares

As bactérias extracelulares são capazes de se replicar fora das células hospedeiras, por exemplo, no sangue, em tecidos conjuntivos, e nos espaços teciduais, como os lumens das vias aéreas e do trato gastrointestinal. Muitas espécies diferentes de bactérias extracelulares são patogênicas, e a doença pode ser causada por dois mecanismos principais. Em primeiro lugar, essas bactérias induzem inflamação, o que resulta na destruição dos tecidos no local da infecção. Em segundo lugar, as bactérias produzem toxinas, que têm diversos efeitos patológicos. As toxinas podem ser endotoxinas, que são componentes da parede celular bacteriana, ou exotoxinas, que são secretadas pelas bactérias. A endotoxina de bactérias Gram-negativas, também chamada de lipopolissacarídeo (LPS), foi mencionada no [Capítulo 4](#), como um potente ativador de macrófagos, células dendríticas e células endoteliais. Muitas exotoxinas são citotóxicas e outras causam doença por vários mecanismos. Por exemplo, a toxina da difteria desliga a síntese de proteínas em células infectadas, a toxina da cólera interfere no transporte de íons e de água, a toxina do tétano inibe a transmissão neuromuscular, e a toxina antraz interrompe várias vias bioquímicas de sinalização essenciais nas células infectadas. Outras exotoxinas interferem nas funções celulares normais sem destruir as células, outras exotoxinas ainda estimulam a produção de citocinas que podem causar doença.

## Imunidade Inata contra Bactérias Extracelulares

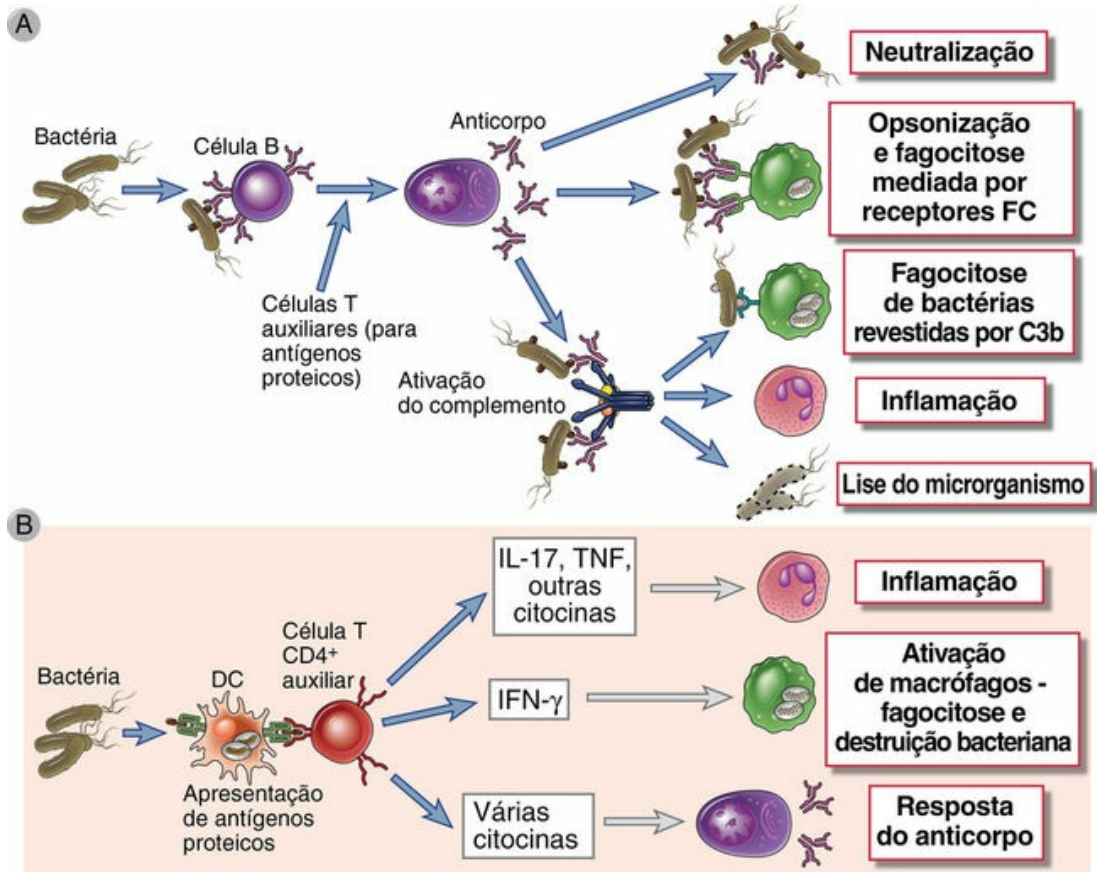
***Os principais mecanismos de imunidade inata contra bactérias extracelulares são a ativação do complemento, a fagocitose e a resposta inflamatória.***

- ***Ativação do complemento.*** Os peptídeoglicanos na parede celular das bactérias Gram-positivas e o LPS em bactérias Gram-negativas ativam o complemento da via alternativa ([Cap. 13](#)). As bactérias que expressam manose na sua superfície, podem se ligar à lectina de ligação a manose, que ativa complemento pela via das lectinas. Um resultado da ativação do complemento é opsonização e fagocitose aumentada de bactérias. Além disso, o complexo de ataque à membrana gerado pela ativação do complemento leva à lise de bactérias, em especial das espécies *Neisseria* que são particularmente suscetíveis à lise porque possui paredes celulares finas, e os subprodutos do complemento estimulam a resposta inflamatória, recrutando e ativando os leucócitos.
- ***Ativação de fagócitos e inflamação.*** Fagócitos (neutrófilos e macrófagos) utilizam receptores de superfície, incluindo os receptores de manose e receptores *scavenger* para reconhecer as bactérias extracelulares, e eles utilizam receptores Fc e receptores de complemento para reconhecer bactérias opsonizadas com anticorpos e proteínas do complemento, respectivamente. Os produtos microbianos ativam receptores do tipo Toll (TLRs) e vários sensores citoplasmáticos em fagócitos e em outras células. Alguns desses receptores funcionam

principalmente para promover a fagocitose dos microrganismos (p. ex., receptores de manose, receptores *scavenger*); outros estimulam as atividades microbicidas dos fagócitos (principalmente os TLRs); e outros ainda promovem tanto a fagocitose quanto a ativação dos fagócitos (Fc e receptores de complemento) (Cap. 4). Em adição, as células dendríticas e os fagócitos que são ativadas pelos microrganismos secretam citocinas que induzem a infiltração leucocitária nos locais de infecção (inflamação). Os leucócitos recrutados ingerem e destroem as bactérias.

## A Imunidade Adaptativa contra Bactérias Extracelulares

***A imunidade humoral é uma importante resposta imunológica protetora contra bactérias extracelulares, funciona para bloquear a infecção, para eliminar os microrganismos e para neutralizar suas toxinas (Fig. 16-1, A).*** As respostas dos anticorpos contra bactérias extracelulares são dirigidas contra antígenos de parede celular e toxinas segregadas e associados às células, que podem ser polissacarídeos ou proteínas. Os polissacarídeos são antígenos prototípicos T-independentes e a imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra bactérias encapsuladas ricas em polissacarídeo. Os mecanismos efetores utilizados pelos anticorpos para combater essas infecções incluem neutralização, opsonização e fagocitose e ativação do complemento pela via clássica (Cap. 13). A neutralização é mediada pela alta afinidade dos isotipos IgG, IgM, IgA, esta última principalmente nos lumens dos órgãos das mucosas. A opsonização é mediada por algumas subclasses de IgG e a ativação do complemento é iniciada pela produção de IgM e subclasses de IgG.



**FIGURA 16-1** Respostas imunológicas adaptativas a microrganismos extracelulares.

A resposta imune adaptativa a microrganismos extracelulares tais como bactérias e suas toxinas, consiste na produção de anticorpos (A) e na ativação das células T auxiliares  $CD4^+$  (B). Os anticorpos neutralizam e eliminam os microrganismos e toxinas por vários mecanismos. As células T auxiliares produzem citocinas que estimulam a inflamação, a ativação dos macrófagos e respostas de células B. DC, célula dendrítica.

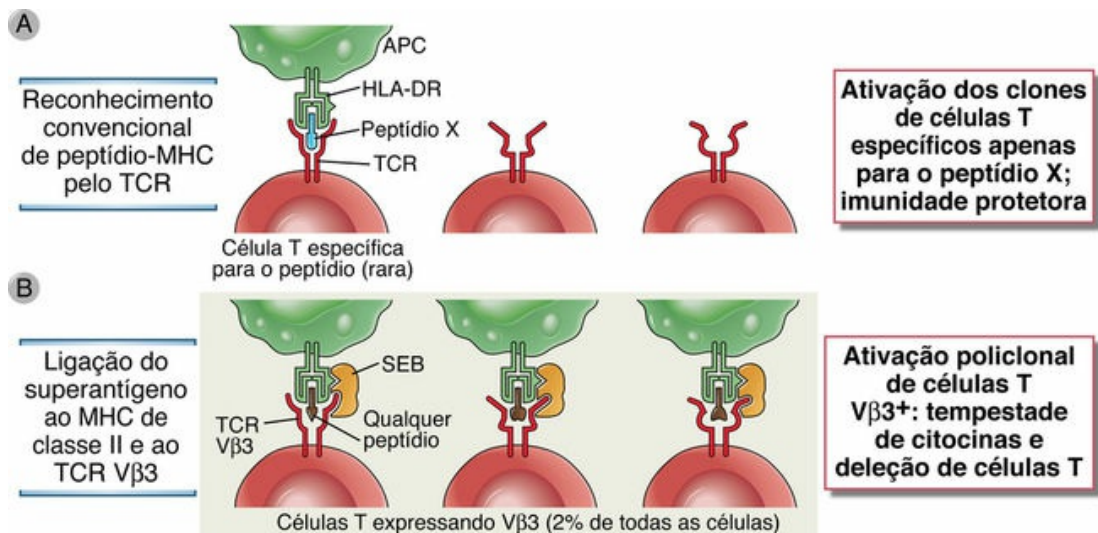
**Os antígenos proteicos de bactérias extracelulares também ativam as células T  $CD4^+$  auxiliares, que produzem citocinas que induzem inflamação local, aumentam as atividades fagocíticas e microbicidas de macrófagos e neutrófilos e estimulam a produção de anticorpos (Fig. 16-1, B).** As respostas  $T_H17$  induzidas por estes microrganismos recrutam neutrófilos e monócitos e, assim, promovem a inflamação local em locais de infecção bacteriana. Defeitos genéticos no desenvolvimento  $T_H17$  e pacientes que produzem autoanticorpos neutralizantes específicos para a interleucina-17 (IL-17) têm aumentado a susceptibilidade a infecções bacterianas e fúngicas, com a formação de múltiplos abscessos na pele. As

bactérias também induzem respostas  $T_H1$ , e o interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) produzido pelas células  $T_H1$  ativa os macrófagos para destruir os microrganismos fagocitados. Esta citocina também pode estimular a produção de isotipos de anticorpos opsonizantes e de ligação ao complemento.

## Efeitos Prejudiciais das Respostas Imunes a Bactérias Extracelulares

**As principais consequências prejudiciais da resposta do hospedeiro contra as bactérias extracelulares são a inflamação e choque séptico.** As mesmas reações de neutrófilos e macrófagos que agem para erradicar a infecção também causam danos teciduais através da produção local de espécies reativas de oxigênio e enzimas lisossomais. Estas reações inflamatórias geralmente são autolimitadas e controladas. As citocinas secretadas por leucócitos em resposta a produtos bacterianos também estimulam a produção de proteínas de fase aguda e causam as manifestações sistêmicas da infecção (Cap. 4). O **choque séptico** é uma consequência patológica grave da infecção disseminada por algumas bactérias Gram-negativas e bactérias Gram-positivas. É uma síndrome caracterizada pelo colapso circulatório e coagulação intravascular disseminada. A fase inicial do choque séptico é causada pelas citocinas produzidas por macrófagos, que são ativados pelos componentes da parede celular bacteriana, incluindo LPS e os peptidoglicanos. O fator de necrose tumoral (TNF), a IL-6 e IL-1 são as principais citocinas mediadoras de choque séptico, mas o IFN- $\gamma$  e a IL-12 também podem contribuir (Cap. 4). Esta explosão inicial de uma grande quantidade de citocinas, por vezes, é chamada de tempestade de citocinas. Há alguma evidência de que a progressão do choque séptico está associada às respostas imunológicas defeituosas, talvez relacionada à depleção ou supressão das células T, resultando em uma disseminação microbiana não controlada.

Determinadas toxinas bacterianas estimulam todas as células T num indivíduo que expressa genes para uma família particular de  $V\beta$  do receptor de células T (TCR). Essas toxinas são chamadas de **superantígenos** porque se assemelham a antígenos na medida em que eles se ligam aos TCRs e às moléculas MHC de classe II (embora não às fendas de ligação ao peptídeo), mas ativam muito mais células T do que antígenos peptídicos convencionais (Fig. 16-2). A sua importância reside na sua capacidade para ativar muitas células T, com a produção subsequente de grandes quantidades de citocinas que também podem causar uma síndrome inflamatória sistêmica.



**FIGURA 16-2** Ativação policlonal de células T por superantígenos bacterianos.

**A**, antígenos de células T microbianas convencionais, compostas de um peptídeo ligado à fenda de ligação do peptídeo de uma molécula de MHC, são reconhecidos por uma fração muito pequena de células T em qualquer indivíduo e apenas essas células T são ativadas para se tornarem células T efetoras que protegem contra o microrganismo. **B**, Em contraste, um superantígeno liga-se a moléculas do MHC de classe II fora da fenda de ligação ao peptídeo e simultaneamente liga-se à região variável de diferentes cadeias de TCR  $\beta$ , independentemente da especificidade dos peptídeos do TCR. Diferentes superantígenos ligam-se a diferentes famílias V $\beta$  de TCR. Uma vez que muitas células T expressam uma cadeia  $\beta$  de TCR a partir de uma família V $\beta$  específica, os superantígenos podem ativar um grande número de células T. No exemplo mostrado, o superantígeno de enterotoxina B de estafilococos (SEB), liga-se às regiões V de HLA-DR e de TCR que pertencem à família V $\beta$ 3. APC, célula apresentadora de antígeno.

Uma complicação tardia da resposta imune humoral contra a infecção bacteriana pode ser a geração de anticorpos produtores de doenças. Os exemplos mais definidos são duas sequelas raras de infecções estreptocócicas da garganta ou da pele que se manifestam semanas ou mesmo meses após as infecções serem controladas. A febre reumática é uma sequela da infecção faríngea com alguns tipos sorológicos de estreptococos  $\beta$ -hemolíticos. A infecção leva à produção de anticorpos contra uma proteína da parede celular bacteriana (proteína M). Alguns destes



anticorpos reagem cruzadamente com proteínas do miocárdio e são depositadas no coração, onde eles causam inflamação (cardite). A glomerulonefrite pós-estreptocócica é uma sequela de infecção da pele ou da garganta com outros sorotipos de estreptococos  $\beta$ -hemolíticos.

Os anticorpos produzidos contra essas bactérias formam complexos com o antígeno bacteriano, que pode ser depositado nos glomérulos renais e causar a nefrite.

## Evasão da Resposta Imunológica por Bactérias Extracelulares

A virulência de bactérias extracelulares tem sido associada a um número de mecanismos que possibilita aos microrganismos resistir à imunidade inata (Tabela 16-2). As bactérias com cápsulas ricas em polissacarídeos resistem à fagocitose e são, por conseguinte, muito mais virulentas do que cepas homólogas que não possuem a cápsula. As cápsulas de muitas bactérias patogênicas Gram-positivas e Gram-negativas contêm resíduos de ácido siálico que inibem a ativação do complemento pela via alternativa.

**Tabela 16-2**

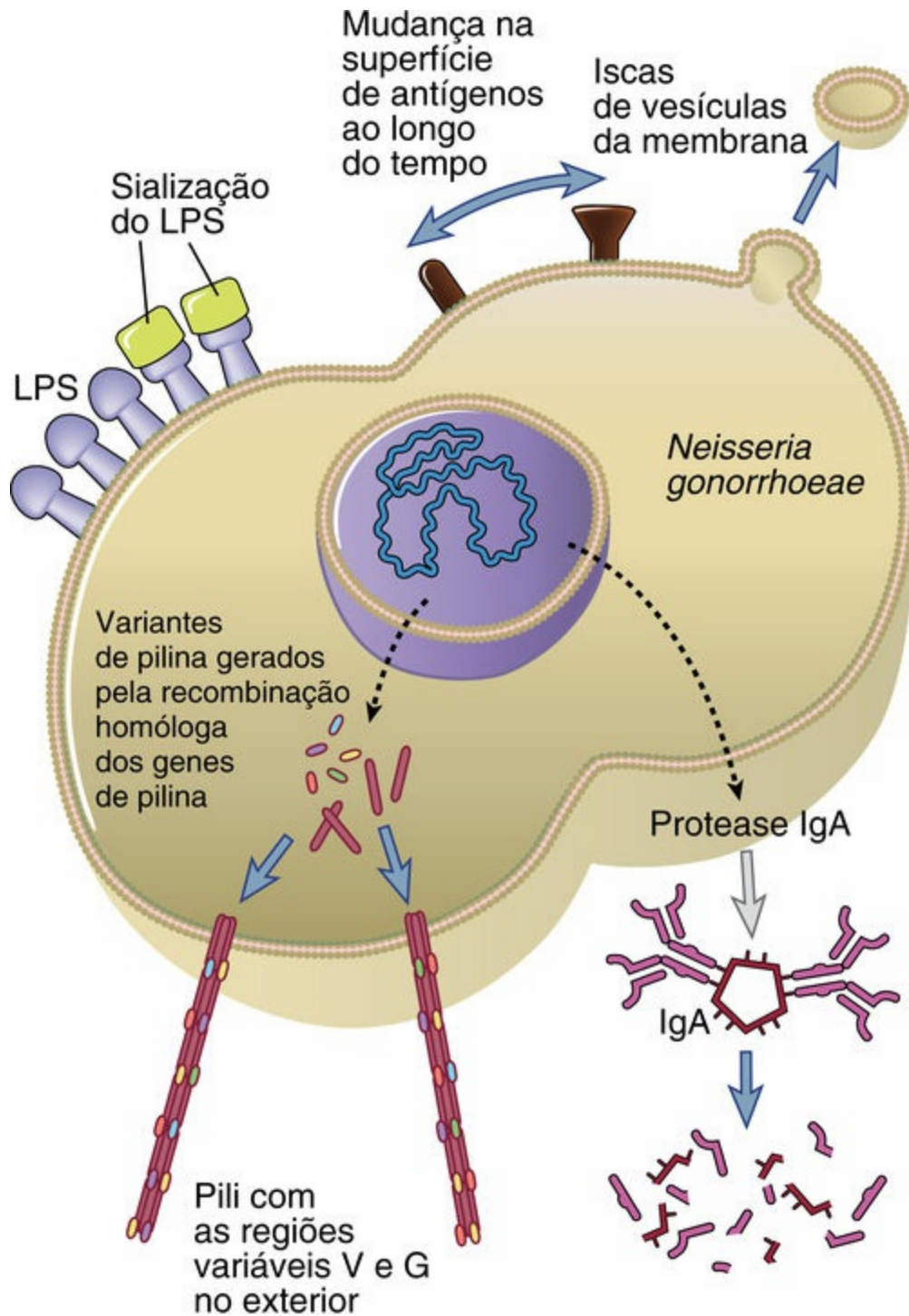
### Mecanismos de evasão da resposta imunológica por bactérias

Mecanismo de evasão da resposta imunológica	Exemplos
Bactérias Extracelulares	
Varição antigênica	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>
Inibição da ativação do complemento	Muitas bactérias
Resistência à fagocitose	Pneumococos, <i>Neisseria meningitidis</i>
Remoção das espécies reativas de oxigênio	Estafilococos catalase-positivos
Bactérias Intracelulares	
Inibição da formação do fagolisossomo	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Legionella pneumophila</i>
Inativação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio	<i>Mycobacterium leprae</i> (glicolípido fenólico)
Ruptura da membrana do fagossomos, escape para o citoplasma	<i>Listeria monocytogenes</i> (proteína hemolisina)

**Um mecanismo utilizado por bactérias para evadir a imunidade humoral é a variação de antígenos de superfície (Fig. 16-3).** Alguns antígenos de superfície das bactérias, tais como gonococos e *Escherichia coli* estão contidos em sua pili, que são as estruturas responsáveis pela adesão bacteriana às células do hospedeiro. O principal antígeno da pili é uma proteína chamada pilina. Os genes da pilina de



gonococos são submetidos a extensa conversão gênica, porque a progênie de um organismo pode produzir até  $10^6$  moléculas de pilina antígenicamente distintas. Esta capacidade para alterar antígenos ajuda a evasão das bactérias ao ataque por anticorpos específicos para pilina, embora seu principal significado para as bactérias possam ser a seleção dos pili que sejam mais aderentes às células hospedeiras, tornando as bactérias mais virulentas. Alterações na produção de glicosidases levam a alterações químicas na superfície do LPS e de outros polissacarídeos que possibilita às bactérias escapar das respostas imunes humorais contra estes antígenos. As bactérias também podem alterar a produção dos antígenos de superfície ao longo do tempo, ou liberar estes antígenos em vesículas de membrana.



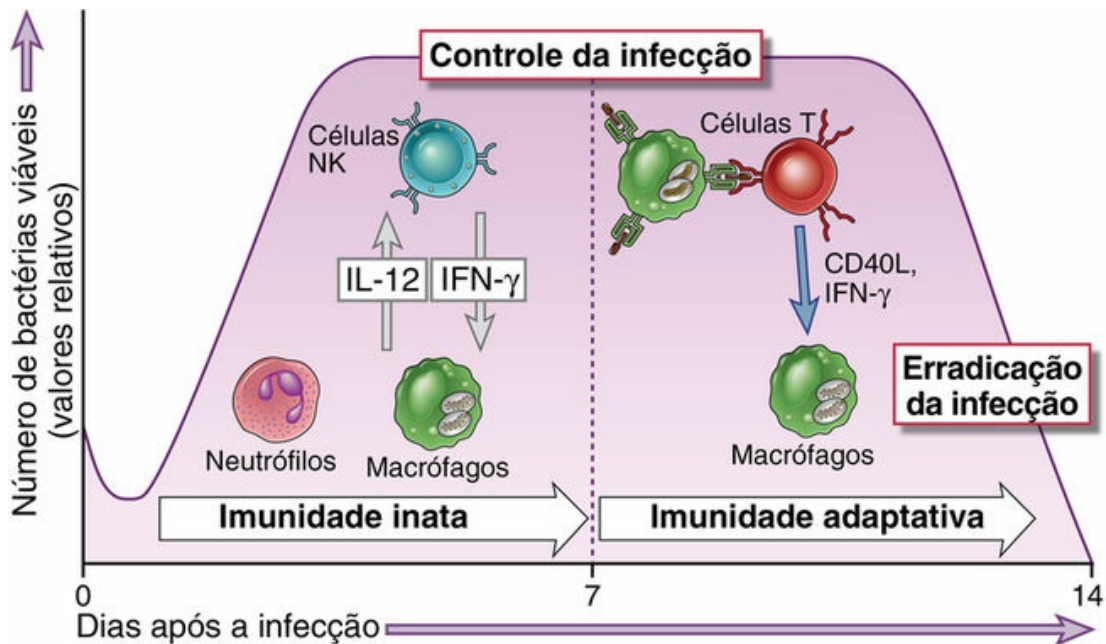
**FIGURA 16-3** Mecanismos de evasão da resposta imunológica em bactérias.

São mostrados os vários mecanismos utilizados pela espécie bacteriana *Neisseria*, para escapar da imunidade humoral.

## Imunidade contra bactérias intracelulares

Uma característica de bactérias intracelulares facultativas é a sua capacidade de

sobreviver e até mesmo de se replicar dentro de fagócitos. Uma vez que esses microrganismos são capazes de encontrar um nicho onde eles são inacessíveis a anticorpos circulantes, sua eliminação requer mecanismos de imunidade mediada pela célula (Fig. 16-4). Como discutiremos mais adiante nesta seção, em muitas infecções bacterianas intracelulares, a resposta do hospedeiro também causa lesão tecidual.



**FIGURA 16-4** Imunidade inata e adaptativa às bactérias intracelulares.

A resposta imunológica inata a bactérias intracelulares consiste em fagócitos e nas células NK, interações entre eles são mediadas por citocinas (IL-12 e IFN- $\gamma$ ). A resposta imune adaptativa típica para estes microrganismos é a imunidade mediada por células, em que as células T ativam os fagócitos para eliminar os microrganismos. A imunidade inata pode controlar o crescimento bacteriano, mas a eliminação das bactérias requer a imunidade adaptativa. Estes princípios são baseados fortemente na análise da infecção por *Listeria monocytogenes* em camundongos; os números de bactérias viáveis mostrados no eixo y são os valores relativos de colônias de bactérias que podem ser cultivadas a partir de tecidos de camundongos infectados.

## Imunidade Inata contra Bactérias Intracelulares

**A resposta imune inata contra bactérias intracelulares é mediada principalmente por fagócitos e células natural killer (NK).** Fagócitos, inicialmente neutrófilos e posteriormente macrófagos, ingerem e tentam destruir esses microrganismos, mas as bactérias intracelulares patogênicas são resistentes à degradação dentro de fagócitos. Os produtos destas bactérias são reconhecidos por TLR e por proteínas citoplasmáticas da família dos receptores do tipo NOD (NLR), resultando na ativação dos fagócitos (Cap. 4). O DNA bacteriano no citosol estimula as respostas do interferon tipo I através da via STING.

As bactérias intracelulares ativam as células NK por induzir a expressão de ligantes de ativação de células NK em células infectadas e pela estimulação da produção de IL-12 e IL-15 pelas células dendríticas e macrófagos e ambas são citocinas ativadoras da célula NK. As células NK produzem IFN- $\gamma$ , que por sua vez ativa os macrófagos e promove a morte da bactéria fagocitada. Assim, as células NK proporcionam uma defesa inicial contra estes microrganismos, antes do desenvolvimento da imunidade adaptativa. De fato, camundongos com severa imunodeficiência combinada, que apresentam deficiência de células T e B, são capazes de controlar transitóriamente a infecção pela bactéria intracelular *Listeria monocytogenes* pela produção de IFN- $\gamma$  derivado de células NK. No entanto, a imunidade inata geralmente não erradica essas infecções e a erradicação requer a imunidade adaptativa mediada por células.

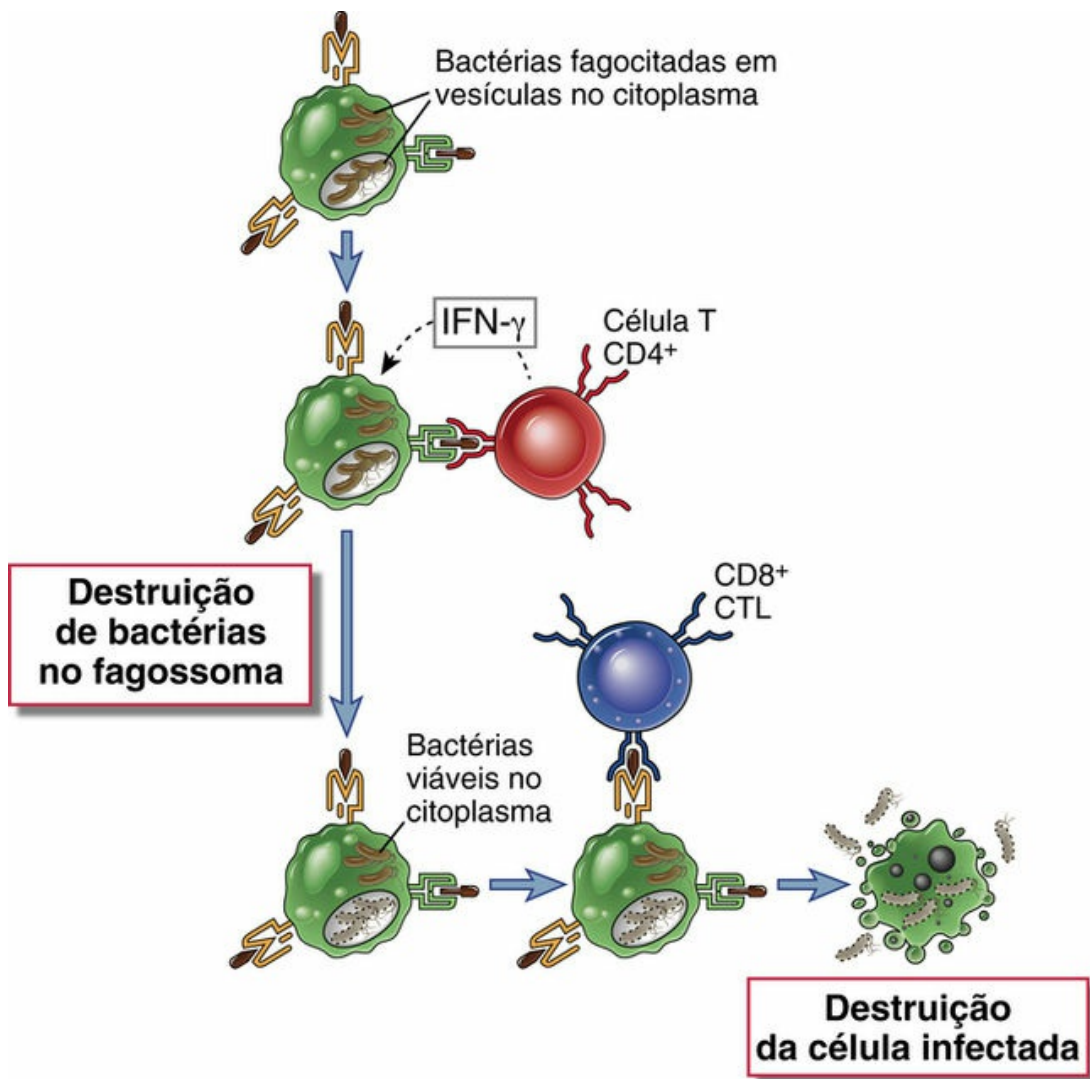
## A Imunidade Adaptativa contra Bactérias Intracelulares

**A principal resposta imunológica protetora contra bactérias intracelulares é o recrutamento e ativação de fagócitos mediados por células T (imunidade mediada por células).** Indivíduos com deficiência na imunidade mediada por células, tais como pacientes com AIDS, são extremamente suscetíveis a infecções por bactérias intracelulares (bem como fungos e vírus intracelulares). Muitas das características importantes da imunidade mediada por células foram estabelecidas na década de 1950 com base nos estudos das respostas imunológicas da bactéria intracelular *Listeria monocytogenes* em camundongos. Essa forma de imunidade poderia ser transferida adotivamente para animais imaturos com células linfoides, mas não com soro de animais infectados ou imunizados (Fig. 10-2).

Como foi discutido nos Capítulos 10 e 11, as células T fornecem defesa contra infecções por dois tipos de reações: células T CD4<sup>+</sup> ativam fagócitos através das ações do ligante de CD40 e IFN- $\gamma$ , resultando na morte de microrganismos que são ingeridos e sobrevivem dentro de fagócitos, e os linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> (CTLs) que destroem células infectadas, eliminam microrganismos que escapam aos mecanismos de morte dos fagócitos. Células T CD4<sup>+</sup> diferenciam-se em efetoras T<sub>H</sub>1 sob a influência da IL-12, que é produzida por macrófagos e células dendríticas. As células T expressam o ligante de CD40 e secretam IFN- $\gamma$ , e esses dois estímulos

ativam macrófagos, induzindo a produção de várias substâncias microbidas, incluindo espécies reativas de oxigênio, o óxido nítrico e enzimas lisossomais. Em camundongos, o IFN- $\gamma$  também estimula a produção de isotipos de anticorpos que ativam o complemento e opsonizam bactérias para fagocitose, auxiliando nas funções efetoras dos macrófagos. Os estímulos para a produção desses anticorpos em seres humanos não são tão bem definidos. A importância da IL-12 e IFN- $\gamma$  na imunidade contra bactérias intracelulares foi demonstrada em modelos experimentais e em imunodeficiências congênitas. Por exemplo, indivíduos com mutações hereditárias em receptores para IFN- $\gamma$  ou IL-12 são altamente susceptíveis às infecções por micobactérias atípicas.

As bactérias fagocitadas estimulam respostas de células T CD8<sup>+</sup> se os antígenos bacterianos forem transportados a partir de fagossomos para o citosol ou se as bactérias escaparem dos fagossomos e entrarem no citoplasma das células infectadas. No citosol, os microrganismos não são mais susceptíveis aos mecanismos microbidas de fagócitos, e para a erradicação da infecção, as células infectadas devem ser destruídas pelos CTLs. Assim, os efetores da imunidade mediada por células, isto é, células T CD4<sup>+</sup> que ativam macrófagos e CTLs CD8<sup>+</sup>, funcionam de forma cooperativa na defesa contra bactérias intracelulares (Fig. 16-5).



**FIGURA 16-5** Cooperação de células T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> na defesa contra microrganismos intracelulares.

As bactérias intracelulares tais como *L. monocytogenes*, são fagocitadas pelos macrófagos e podem sobreviver nos fagossomas e escapar para dentro do citoplasma. As células T CD4<sup>+</sup> respondem aos antígenos peptídicos associados ao MHC de classe II derivados das bactérias intravesiculares. Estas células T produzem IFN- $\gamma$ , que ativa os macrófagos a destruir os microrganismos nos fagossomas. As células T

CD8<sup>+</sup> respondem aos peptídios associados à classe I derivados de antígenos citosólicos e destroem as células infectadas.

**A ativação dos macrófagos, que ocorre em resposta aos microrganismos intracelulares é capaz de causar lesão tecidual.** Esta lesão pode ser resultado de reações de hipersensibilidade do tipo tardia (DTH) aos antígenos de proteína

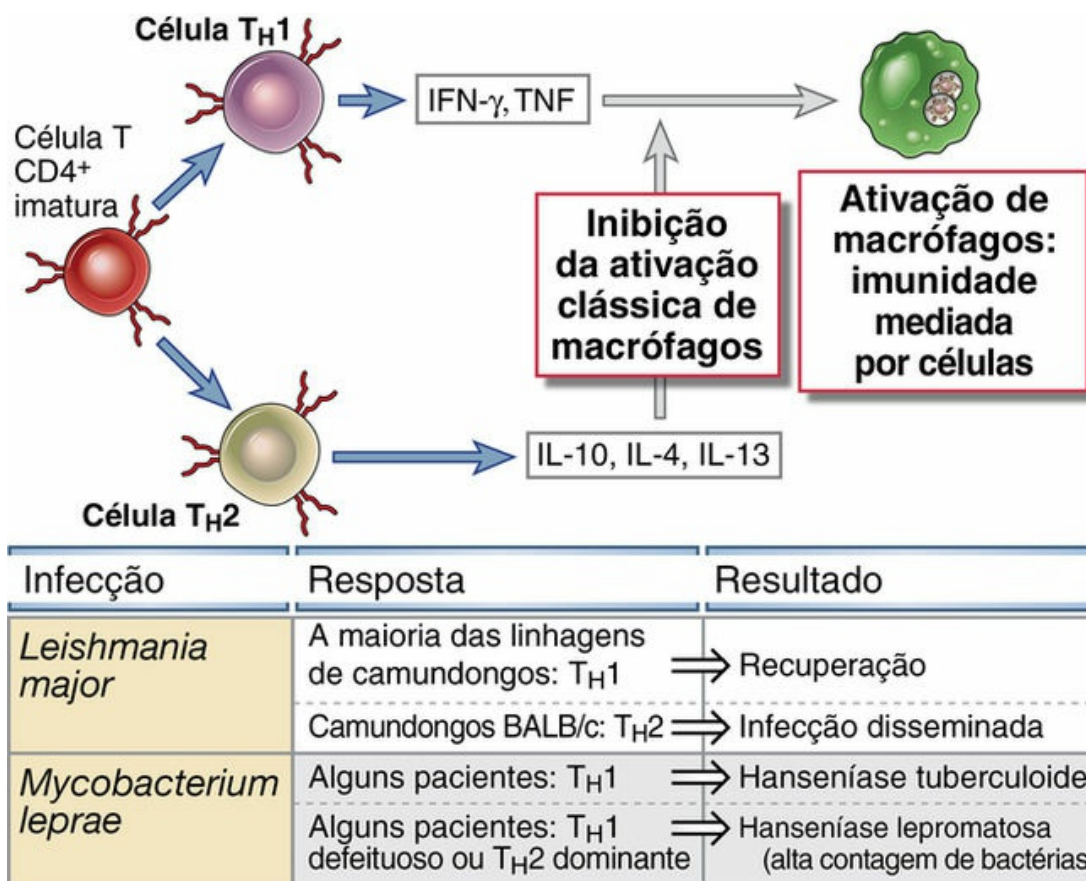


microbiana (Cap. 19). Devido à evolução das bactérias intracelulares para resistir à destruição dentro de fagócitos, elas muitas vezes persistem por longos períodos e causam estimulação antigênica crônica e a ativação das células T e de macrófagos, o que pode resultar na formação de granulomas em torno dos microrganismos (Fig. 19-8). A característica histológica da infecção por algumas bactérias intracelulares é a inflamação granulomatosa. Este tipo de reação pode servir para localizar e impedir a propagação dos microrganismos, mas está também associada ao comprometimento funcional grave causado pela necrose do tecido e pela fibrose.

A tuberculose é um exemplo de uma infecção por uma bactéria intracelular em que a imunidade protetora e a hipersensibilidade patológica coexistem e a resposta do hospedeiro contribui significativamente para a patologia. Em uma infecção primária por *M. tuberculosis*, os bacilos se multiplicam lentamente nos pulmões e causam apenas uma inflamação leve. A infecção é contida por macrófagos alveolares (e provavelmente células dendríticas). Mais de 90% dos pacientes infectados permanecem assintomáticos, mas as bactérias sobrevivem nos pulmões, principalmente em macrófagos. Cerca de 6 a 8 semanas após a infecção, os macrófagos atingiram os linfonodos de drenagem e as células T CD4<sup>+</sup> são ativadas; as células T CD8<sup>+</sup> podem também ser ativadas mais tarde. Essas células T produzem IFN- $\gamma$ , que ativa macrófagos e aumenta a sua capacidade de destruir bacilos fagocitados. O TNF produzido pelas células T e macrófagos também desempenha um papel na inflamação local e na ativação de macrófagos. A reação das células T é adequada para controlar a disseminação bacteriana. No entanto, o *M. tuberculosis* é capaz de sobreviver no interior dos macrófagos, pois os componentes de sua parede celular inibem a fusão dos vacúolos fagocíticos com os lisossomos. Como resultado, as bactérias continuam a provocar as respostas das células T. A ativação prolongada das células T leva à formação de granulomas, que podem cercar as bactérias e são frequentemente associados a necrose central, chamado de necrose caseosa, que é causada por produtos de macrófagos tais como enzimas lisossomais e espécies reativas de oxigênio. Os granulomas necrosantes e a fibrose (cicatrizes) que acompanham a inflamação granulomatosa são importantes causas de lesão tecidual e doença clínica na tuberculose. Pessoas previamente infectadas apresentam reações cutâneas de DTH ao desafio cutâneo com uma preparação de antígeno bacteriano (derivado proteico purificado, ou PPD). Os bacilos podem sobreviver durante muitos anos e estão contidos sem quaisquer consequências patológicas, mas podem ser reativados a qualquer momento, especialmente se a resposta imunológica se torna incapaz de controlar a infecção.

**As diferenças entre indivíduos nos padrões de respostas das células T a microrganismos intracelulares são determinantes importantes da progressão da doença e da evolução clínica (Fig. 16-6).** O papel das citocinas derivadas de TH1 e TH2 na determinação do resultado de infecção tem sido mais claramente demonstrado na infecção pelo protozoário *Leishmania major* em diferentes linhagens

de camundongos isogênicos (discutido mais adiante neste capítulo). Um exemplo desta relação entre o tipo de resposta das células T e a evolução da doença em seres humanos é a lepra, que é causada pelo *Mycobacterium leprae*. Existem duas formas polares da hanseníase, as formas lepromatosa e a tuberculoide, embora muitos pacientes caiam em grupos intermediários menos definidos. Na hanseníase lepromatosa, os pacientes têm alta titulação de anticorpos específicos, mas fracas respostas mediadas por células aos antígenos de *M. leprae*. As micobactérias proliferam no interior dos macrófagos e são detectáveis em grandes números. O crescimento bacteriano é persistente, mas inadequada ativação dos macrófagos resulta em lesões destrutivas na pele e no tecido subjacente. Em contraste, os pacientes com hanseníase tuberculoide têm uma forte imunidade mediada por células, mas níveis baixos de anticorpos. Este padrão de imunidade se reflete em granulomas que se formam em torno dos nervos e produzem defeitos nos nervos sensoriais periféricos e lesões traumáticas secundárias da pele, mas com menos destruição de tecidos e uma escassez de bactérias nas lesões. Uma possível razão para as diferenças nestas duas formas de doença causada pelo mesmo organismo pode ser a existência de diferentes padrões de diferenciação de células T e produção de citocinas nos indivíduos. Alguns estudos indicam que os pacientes com a forma tuberculoide da doença produzem IFN- $\gamma$  e IL-2 em lesões (indicativo de ativação da célula T<sub>H1</sub>), enquanto os pacientes com hanseníase lepromatosa produzem menos IFN- $\gamma$  e podem apresentar uma fraca imunidade mediada por células e incapacidade de controlar a propagação das bactérias.



**FIGURA 16-6** Papel das células T e das citocinas para determinar o resultado das infecções.

Linfócitos T CD4<sup>+</sup> imaturos podem diferenciar-se em células TH1, que ativam os fagócitos para destruir microrganismos ingeridos e células TH2, que inibem esta via clássica da ativação dos macrófagos. O equilíbrio entre estes dois subconjuntos de células T pode influenciar no resultado de infecções, como ilustrado pela infecção por *Leishmania* em camundongos e *Mycobacterium leprae* em seres humanos.

## Evasão da Resposta Imunológica por Bactérias Intracelulares

As bactérias intracelulares desenvolveram várias estratégias para resistir à eliminação pelos fagócitos (Tabela 16-2). Isso inclui a inibição da fusão do fagolisossomo ou escapar para o citosol, escondendo-se, assim, a partir dos mecanismos microbicidas dos lisossomos, e a eliminação direta ou inativação de substâncias microbicidas como as espécies reativas de oxigênio. O resultado de infecção por estes organismos, muitas vezes vai depender de as células T estimuladas por mecanismos

antimicrobianos de macrófagos ou a resistência à morte levarem vantagem. A resistência à eliminação mediada por fagócitos também é a razão pela qual estas bactérias tendem a causar infecções crônicas que podem durar anos, muitas são recorrentes após cura aparente e são difíceis de erradicar.

## Imunidade contra fungos

As infecções fúngicas, também chamadas de micoses, são importantes causas de morbidade e mortalidade em seres humanos. Algumas infecções fúngicas são endêmicas e estas infecções são normalmente causadas por fungos presentes no ambiente e cujos esporos penetram nos humanos. Outras infecções fúngicas são chamadas de oportunistas, pois os agentes causadores causam doenças brandas ou não manifestam doença em indivíduos saudáveis, mas podem infectar e causar doença grave em pessoas imunodeficientes. A imunidade comprometida é o fator predisponente mais importante para infecções fúngicas clinicamente significativas. A deficiência de neutrófilos como um resultado da supressão ou de dano na medula óssea é frequentemente associada a tais infecções. Infecções por fungos oportunistas também estão associadas à imunodeficiência causada pelo HIV e à terapia para o câncer disseminado e rejeição ao transplante. Uma infecção fúngica oportunista grave associada à AIDS é a pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, mas muitos outros contribuem para a morbidade e mortalidade causada pelas imunodeficiências.

Diferentes fungos infectam os seres humanos e podem viver em tecidos extracelulares e dentro de fagócitos. Portanto, as respostas imunológicas a estes microrganismos são frequentemente combinações das respostas a bactérias extracelulares e intracelulares. No entanto, pouco se sabe sobre a imunidade antifúngica quando comparada à imunidade contra bactérias e vírus. Esta falta de conhecimento é em parte devido à escassez de modelos animais para micoses e em parte devido ao fato de que estas infecções ocorrem normalmente em indivíduos que são incapazes de oferecer respostas imunológicas eficazes.

## Imunidade Inata e Adaptativa contra Fungos

Os principais mediadores da imunidade inata contra fungos são os neutrófilos e macrófagos. Os pacientes com neutropenia são extremamente suscetíveis a infecções por fungos oportunistas. Os fagócitos e células dendríticas reconhecem os organismos fúngicos através dos TLRs e dos receptores do tipo lectina chamados dectinas (Cap. 4). Os neutrófilos presumivelmente liberam substâncias fungicidas, tais como as espécies reativas de oxigênio e enzimas lisossomais e fagocitam os fungos para a morte intracelular. As cepas virulentas de *Cryptococcus neoformans* inibem a produção de citocinas, tais como o TNF e a IL-12 por macrófagos e estimulam a produção de IL-10, inibindo assim a ativação dos macrófagos.

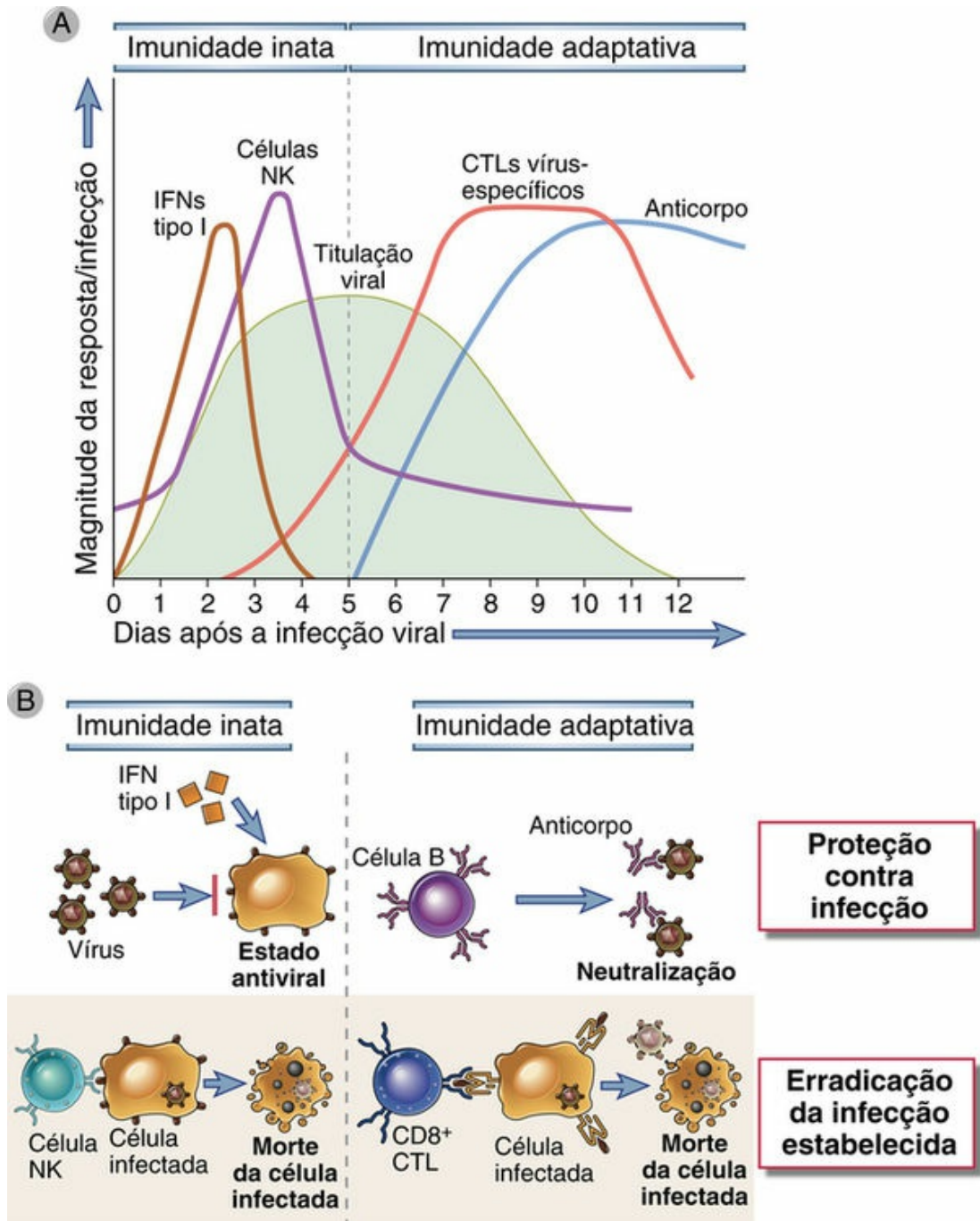
A imunidade celular é o principal mecanismo de imunidade adaptativa contra infecções fúngicas. *Histoplasma capsulatum*, um parasita intracelular facultativo que vive em macrófagos, é eliminado pelos mesmos mecanismos celulares que são eficazes contra bactérias intracelulares. As células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> cooperam para eliminar a forma de levedura de *C. neoformans*, que tendem a colonizar os pulmões e o cérebro de hospedeiros imunodeficientes. *Pneumocystis jirovecii* é outro fungo que causa infecções graves em indivíduos com a imunidade celular defeituosa.

Muitos fungos extracelulares provocam fortes reações T<sub>H</sub>17, impulsionadas em parte pela ativação de células dendríticas, pela ligação de glucanas fúngicas à dectina-1, um receptor para este polissacarídeo fúngico. As células dendríticas ativadas através deste receptor de lectina produzem citocinas indutoras de T<sub>H</sub>17, como IL-6 e IL-23 (Cap. 10). As células T<sub>H</sub>17 estimulam a inflamação e os neutrófilos e monócitos recrutados destroem os fungos. Os indivíduos com respostas T<sub>H</sub>17 defeituosas são suscetíveis a infecções por *Candida* mucocutânea crônica. As respostas T<sub>H</sub>1 são protetoras em infecções fúngicas intracelulares, como a histoplasmose, mas estas respostas podem provocar a inflamação granulomatosa, que é uma importante causa de lesão tecidual no hospedeiro nessas infecções. Fungos também induzem respostas específicas de anticorpos que podem ser protetoras.

## Imunidade contra vírus

Os vírus são os microrganismos intracelulares obrigatórios que utilizam os componentes do ácido nucleico e a maquinaria da síntese de proteínas do hospedeiro para se replicar e se espalhar. Os vírus tipicamente infectam diversos tipos de células, utilizando moléculas de superfície de células normais como receptores para entrar nas células. Depois de entrar nas células, os vírus podem causar lesão tecidual e doença por uma série de mecanismos. A replicação viral interfere na síntese de proteína e função de células normais e leva à lesão e por fim à morte da célula infectada. Este resultado é um tipo de efeito citopático do vírus e a infecção é dita lítica porque a célula infectada é lisada. Os vírus também podem causar infecções latentes, que serão discutidas mais tarde.

Respostas imunes inatas e adaptativas contra os vírus têm como objetivo bloquear a infecção e eliminar as células infectadas (Fig. 16-7). A infecção é prevenida por interferons do tipo I como parte da imunidade inata e os anticorpos neutralizantes contribuem para a imunidade adaptativa. Uma vez que a infecção é estabelecida, as células infectadas são eliminadas pelas células NK na resposta inata e pelos CTL na resposta adaptativa.



**FIGURA 16-7** Respostas imunológicas inata e adaptativa contra vírus.

**A**, cinética das respostas imunológicas inata e adaptativa para uma infecção viral. **B**, Mecanismos pelos quais a imunidade inata e adaptativa previne e erradica as infecções de vírus. A imunidade inata mediada por interferons do tipo I, que impedem a infecção e pelas células NK, que eliminam as células infectadas. A imunidade adaptativa é mediada por anticorpos e pelos CTLs, que bloqueiam a infecção e destroem as células infectadas, respectivamente.



## Imunidade Inata contra Vírus

**Os principais mecanismos de imunidade inata contra os vírus são a inibição da infecção por interferons do tipo I e a destruição das células infectadas mediada pelas células NK.** A infecção por diversos vírus está associada à produção de interferons tipo I por células infectadas, especialmente por células dendríticas do tipo plasmocitoide (Cap. 4). Várias vias bioquímicas desencadeiam a produção de interferon (Fig. 4-16). Estas vias incluem o reconhecimento de RNA e DNA viral pelos TLRs endossomais e ativação de receptores citoplasmáticos tipo RIG e da via de STING pelo RNA e DNA virais, respectivamente. Estas vias convergem para a ativação de proteínas quinases o que por sua vez ativa os fatores de transcrição de IRF que estimulam a transcrição do gene de interferon tipo I. Os interferons tipo I têm a função de inibir a replicação viral em ambas as células infectadas e não infectadas. Os mecanismos pelos quais os interferons bloqueiam a replicação viral foram discutidos no Capítulo 4 (Fig. 4-17).

As células NK destroem outras células infectadas por uma variedade de vírus e são um importante mecanismo de imunidade contra os vírus no início do curso da infecção, antes das respostas imunes adaptativas terem se desenvolvido. A expressão do de MHC de classe I é muitas vezes desligada nas células infectadas por vírus como um mecanismo de fuga dos CTLs. Isso permite que as células NK destruam as células infectadas porque ausência da molécula de classe I libera as células NK de um estado normal de inibição (Fig. 4-7).

## Imunidade Adaptativa contra Vírus

**A imunidade adaptativa contra as infecções virais é mediada pelos anticorpos, que bloqueiam a ligação do vírus e entram nas células hospedeiras, e por CTLs, que eliminam a infecção matando as células infectadas (Fig. 16-7).** Os anticorpos mais eficazes são anticorpos de alta afinidade produzidos nas reações do centro germinativo dependente de célula T (Cap. 12). Os anticorpos são eficazes contra os vírus apenas durante a fase extracelular das vidas desses microrganismos. Os vírus podem ser extracelulares no início do curso da infecção, antes que eles infectem as células hospedeiras, ou quando são liberados de células infectadas por vírus por brotamento ou se as células infectadas morrerem. Os anticorpos antivirais ligam-se ao envelope viral ou aos antígenos do capsídeo e funcionam principalmente como anticorpos neutralizantes para impedir a fixação e a entrada do vírus nas células hospedeiras. Assim, os anticorpos evitam tanto a infecção inicial quanto a disseminação célula a célula. Os anticorpos secretados do isotipo IgA são importantes para a neutralização dos vírus no trato respiratório e intestinal. A imunização oral contra o vírus da poliomielite funciona através da indução de imunidade das mucosas.

Além da neutralização, os anticorpos podem opsonizar partículas virais e promover a sua depuração por fagócitos. A ativação do complemento também pode participar da imunidade viral mediada por anticorpos, principalmente através da promoção de fagocitose e possivelmente pela lise direta de vírus com envoltórios lipídicos.

A importância da imunidade humoral na defesa contra infecções virais é sustentada pela observação de que a resistência a um vírus em particular, induzida por infecção ou pela vacinação, é muitas vezes específica para o tipo sorológico de vírus (definido pelo anticorpo). Um exemplo é do vírus da influenza, em que a exposição a um tipo sorológico não confere resistência a outros sorotipos do vírus. Os anticorpos neutralizantes bloqueiam a infecção viral de células e a disseminação de vírus de célula a célula, mas uma vez que os vírus entram nas células e começam a replicar intracelularmente, eles se tornam inacessíveis aos anticorpos. Por isso, a imunidade humoral induzida por infecção ou vacinação prévia é capaz de proteger as pessoas contra a infecção viral, mas não pode, por si só erradicar uma infecção estabelecida.

***A eliminação dos vírus que residem dentro das células é mediada por CTL, que matam as células infectadas.*** Conforme mencionamos nos capítulos anteriores, a principal função fisiológica dos CTLs é a vigilância contra infecção viral. A maioria dos CTLs específicos para vírus são células T CD8<sup>+</sup> que reconhecem peptídeos virais, citosólicos, geralmente sintetizados endogenamente e que são apresentados por moléculas de classe I do MHC. Se a célula infectada é uma célula de tecido e não uma célula apresentadora de antígenos profissional (APC), tais como células dendríticas, a célula infectada pode ser fagocitada pelas células dendríticas, que processa os antígenos virais e os apresenta para as células T CD8<sup>+</sup> imaturas. Descrevemos este processo de apresentação cruzada ou preparação cruzada no [Capítulo 6 \(Fig. 6-20\)](#). A diferenciação completa de CTLs CD8<sup>+</sup> muitas vezes requer as citocinas produzidas pelas células T CD4<sup>+</sup> auxiliares ou os coestimuladores expressos nas células infectadas ([Cap. 11](#)). Como discutido nos [Capítulos 9 e 11](#), as células T CD8<sup>+</sup> sofrem uma proliferação maciça durante a infecção viral e a maioria das células em proliferação são específicas para alguns peptídeos virais. Algumas das células T ativadas diferenciam-se em CTL efetores, que podem matar qualquer célula nucleada infectada. Os efeitos antivirais de CTLs são principalmente devidos à morte de células infectadas, mas outros mecanismos incluem a ativação de nucleases dentro de células infectadas que degradam genomas virais e a secreção de citocinas, tais como IFN- $\gamma$ , que ativa fagócitos pode apresentar alguma atividade antiviral.

A importância de CTLs na defesa contra as infecções virais é demonstrada pelo aumento da susceptibilidade a tais infecções observadas em pacientes e animais deficientes em linfócitos T e pela observação experimental de que camundongos podem ser protegidos contra algumas infecções por vírus através da transferência adotiva de CTLs restritos de classe I, específicos para vírus. Além disso, muitos vírus são capazes de alterar seus antígenos de superfície, tais como as glicoproteínas do

envelope, e assim escapar do ataque por anticorpos. No entanto, as células infectadas podem produzir algumas proteínas virais que são invariantes, de modo que a defesa mediada por CTLs continua a ser eficaz contra esses vírus.

**Em infecções latentes, o DNA viral persiste nas células do hospedeiro, mas o vírus não se replica ou destrói as células infectadas.** A latência é frequentemente um estado de equilíbrio entre a infecção e a resposta imune. Os CTLs são produzidos em resposta ao vírus que pode controlar a infecção, mas não erradicá-la. Como resultado, o vírus persiste nas células infectadas, por vezes, durante toda a vida do indivíduo. Qualquer deficiência na resposta imune do hospedeiro pode resultar na reativação da infecção latente, com a expressão de genes virais que são responsáveis pelos efeitos citopáticos e pela propagação do vírus. Estes efeitos citopáticos podem incluir a lise de células infectadas ou a proliferação descontrolada das células. Tais infecções latentes são comuns com o vírus de Epstein-Barr, e vários outros vírus de DNA da família dos herpes-vírus.

**Em algumas infecções virais, a lesão no tecido pode ser causada por CTLs.** Um modelo experimental de uma doença na qual a patologia é decorrente da resposta imune do hospedeiro é a infecção em camundongos pelo vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV), que induz a inflamação das meninges da medula espinhal. O LCMV infecta as células meníngeas, mas isso não é citopático e não fere as células infectadas diretamente. O vírus estimula o desenvolvimento de CTLs específicos para vírus que destroem células meníngeas infectadas durante uma tentativa fisiológica de erradicar a infecção. Portanto, meningite se desenvolve em camundongos normais com sistemas imunológicos intactos, mas os camundongos deficientes em células T não desenvolvem a doença e, em vez disso, tornam-se portadores do vírus. Esta observação parece contradizer a situação normal, na qual os indivíduos imunodeficientes são mais suscetíveis a doenças infecciosas do que os indivíduos normais. A infecção pelo vírus da hepatite B em humanos mostra algumas semelhanças com o LCMV murino em que pessoas imunodeficientes que foram infectadas não desenvolvem a doença, mas tornam-se portadores que podem transmitir a infecção para pessoas saudáveis. Os fígados de pacientes com hepatite ativa aguda e crônica contêm grandes números de células T CD8<sup>+</sup>, e a hepatite específica do vírus, CTLs de MHC restrito de classe I podem ser isolados a partir de espécimes da biópsia hepática propagadas *in vitro*.

As respostas imunológicas a infecções virais podem estar envolvidas na produção de outras formas de doença. Uma consequência da infecção persistente com alguns vírus, como a hepatite B, é a formação de complexos imunes circulantes compostos de antígenos virais e anticorpos específicos (Cap. 19). Estes complexos são depositados nos vasos sanguíneos e levam à vasculite sistêmica. Algumas proteínas virais contêm sequências de aminoácidos que também estão presentes em alguns antígenos próprios. Foi postulado que, devido a este mimetismo molecular, a imunidade antiviral pode levar a respostas imunes contra autoantígenos.

## Evasão da Resposta Imunológica pelos Vírus

Os vírus desenvolveram numerosos mecanismos para fugir da imunidade do hospedeiro (Tabela 16-3).

**Tabela 16-3**

### Mecanismos de evasão imunológica pelos vírus

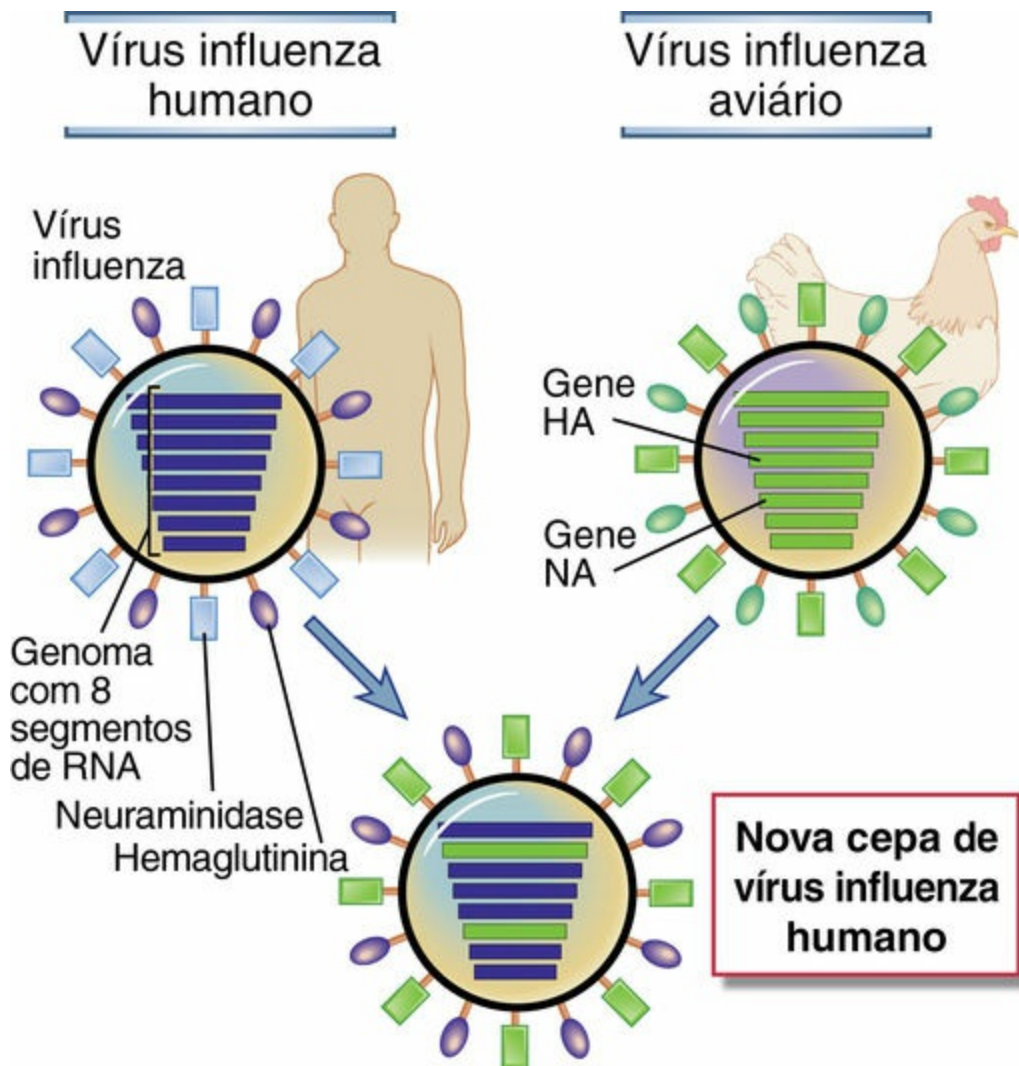
Mecanismos de evasão imunológica	Exemplos
Variação antigênica	Influenza, rinovírus, HIV
Inibição do processamento do antígeno Bloqueio do transportador TAP Remoção das moléculas de classe I do RE	Herpes simples (HSV) Citomegalovírus (CMV)
Produção de moléculas MHC "iscas" para inibir as células NK	Citomegalovírus (murino)
Produção de homólogos do receptor de citocinas	Vacína, poxvírus (IL-1, IFN- $\gamma$ ) Citomegalovírus (quimiocina)
Produção de citocinas imunossupressoras	Epstein-Barr (IL-10)
Infecção e morte ou comprometimento funcional das células imunes	HIV
Inibição da ativação do complemento Recrutamento do fator H Incorporação de CD59 no envelope viral	HIV HIV, vacína, CMV humano
Inibição da imunidade inata Inibição do acesso ao sensor de RNA RIG-I Inibição de PKR (sinalização pelo receptor de IFN)	Vacína, HIV HIV, HCV, HSV, pólio

Exemplos representativos dos diferentes mecanismos utilizados pelos vírus para resistir à imunidade do hospedeiro estão listados.

*RE*, retículo endoplasmático; *HCV*, vírus da hepatite C; *HIV*, vírus da imunodeficiência adquirida; *TAP*, transportador associado ao processamento de antígeno.

- **Os vírus podem alterar seus antígenos e, portanto, deixam de ser alvos da resposta imune.** Os antígenos afetados são mais comumente glicoproteínas de superfície reconhecidas por anticorpos, epítopos de células T, mas também podem ser submetidas à variação. Os principais mecanismos de variação antigênica são mutações pontuais e rearranjo dos genomas de RNA (em vírus de RNA), que conduzem a variação e mudança antigênica. Estes processos são de grande importância na propagação do vírus influenza. Os dois principais antígenos do vírus são a hemaglutinina viral trimérica (o pico de proteína viral) e a neuraminidase. Os genomas virais sofrem mutações nos genes que codificam essas proteínas de superfície, e a variação que ocorre como resultado é chamada de **mudança antigênica**. Os genomas segmentados do RNA do vírus influenza, que normalmente habitam diferentes espécies hospedeiras podem recombinar-se em células hospedeiras, e esses vírus rearranjados podem diferir dramaticamente a partir das cepas prevalentes (Fig. 16-8). O rearranjo dos genes virais resulta em alterações importantes na estrutura antigênica chamada de **mudança antigênica**, o que cria vírus distintos como o da gripe aviária ou o vírus da gripe suína. Devido à

variação antigênica, um vírus pode tornar-se resistente à imunidade gerada na população pelas infecções anteriores. As pandemias de gripe ocorridas em 1918, 1957, e 1968 foram devido a diferentes cepas do vírus, e a pandemia de H1N1 de 2009 foi devido a uma cepa na qual as cadeias do genoma do RNA foram rearranjadas entre as cepas endêmicas em suínos, aves e seres humanos. Variantes virais mais sutis surgem com mais frequência. Há tantos sorotipos do rinovírus que a vacinação contra a gripe comum pode não ser uma estratégia preventiva viável. O vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), que provoca a AIDS, também é capaz de uma grande variação antigênica, devido a uma elevada taxa de erro na transcrição reversa do seu genoma de RNA durante a reprodução viral (Cap. 21). Nessas situações, a vacinação profilática pode ser direcionada contra proteínas virais invariantes.



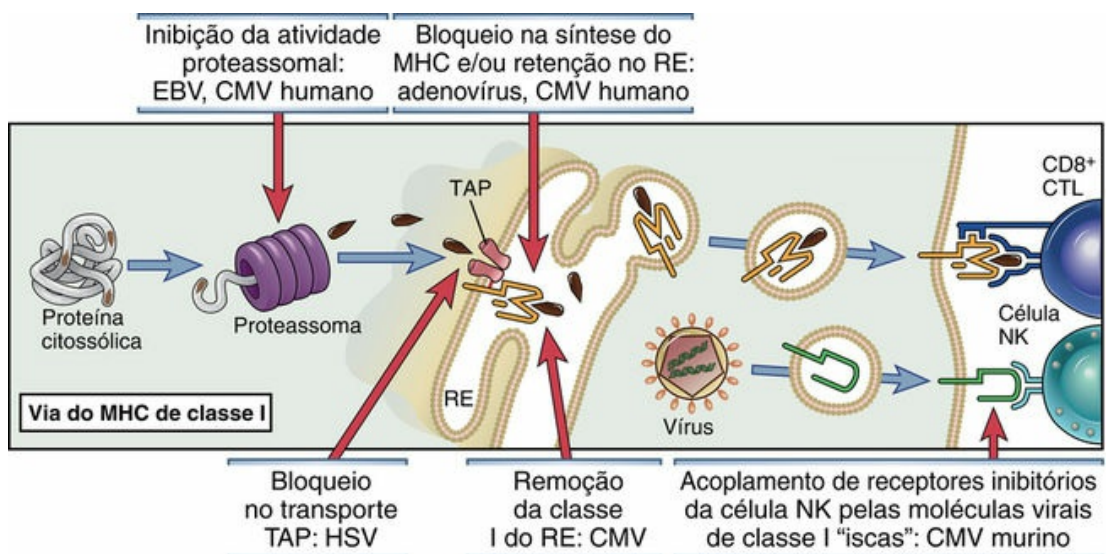
**FIGURA 16-8** Geração de novas cepas de vírus influenza por recombinação genética (mudança antigênica).

O genoma do vírus da gripe é composto por oito cadeias de RNA separadas, que permitem a recombinação genética pelo rearranjo dos segmentos em vários hospedeiros, tais como uma porca (não representada), ave, ou seres humanos que sejam simultaneamente infectados com duas cepas diferentes. Estes rearranjos genéticos criam novos vírus que são antígenicamente distintos dos seus precursores e, portanto, são capazes de evitar a detecção imunológica em grande número de hospedeiros recém-infectados. O vírus influenza H1N1, responsável pela pandemia de 2009, foi gerado pelo rearranjo de vírus de suínos, aves e vírus humanos em suínos e em seguida, repassado aos seres humanos.

- **Alguns vírus inibem a apresentação de antígenos de proteínas citossólicas**



**associados ao MHC de classe I.** Os vírus produzem uma variedade de proteínas que bloqueiam diferentes etapas do processamento, transporte e apresentação do antígeno (Fig. 16-9). A inibição da apresentação antigênica bloqueia a montagem e expressão de moléculas de classe I do MHC estáveis e a exposição de peptídeos virais. Como resultado, as células infectadas por estes vírus não podem ser reconhecidas ou mortas pelas CD8<sup>+</sup> CTL. Conforme discutido anteriormente, as células NK são ativadas pelas células infectadas, especialmente na ausência de moléculas de MHC de classe I. Alguns vírus podem produzir proteínas que atuam como ligantes para receptores inibitórios das células NK e assim, inibir a ativação de células NK.



**FIGURA 16-9** Mecanismos pelos quais os vírus inibem o processamento e a apresentação de antígenos.

A via da apresentação de antígenos associados ao MHC de classe I é mostrada, com exemplos de vírus que bloqueiam diferentes etapas desta via. Além disso, para interferir no

reconhecimento pelas células T CD8<sup>+</sup>, alguns vírus produzem moléculas “iscas” de MHC que se acoplam a receptores inibitórios de células natural killer (NK). *CMV*, citomegalovírus; *EBV*, vírus de Epstein-Barr; *ER*, retículo endoplasmático; *HSV*, o vírus do herpes simples; *TAP*, transportador associado a processamento de antígeno.

- **Alguns vírus produzem moléculas que inibem a resposta imunológica.** Os poxvírus codificam moléculas que são secretadas por células infectadas e se ligam a várias citocinas, incluindo o IFN- $\gamma$ , TNF, IL-1, IL-18, e quimiocinas. As proteínas de ligação a citocinas secretadas podem funcionar como antagonistas competitivos

das citocinas. O vírus Epstein-Barr produz uma proteína homóloga à citocina IL-10, que inibe a ativação de macrófagos e células dendríticas e assim, pode suprimir a imunidade mediada por células. Estes exemplos provavelmente representam uma pequena fração das moléculas virais imunossupressoras. A identificação destas moléculas aumenta a intrigante possibilidade de que vírus adquiriram genes codificando inibidores endógenos de respostas imunológicas durante a sua passagem por hospedeiros humanos e, portanto, evoluíram para infectar e colonizar os seres humanos.

- **Algumas infecções virais crônicas estão associadas à insuficiência de respostas CTL**, o que permite a persistência viral. Estudos de uma infecção crônica com choriomeningite linfocítica em camundongos mostraram que este tipo de imunodeficiência pode resultar da sinalização de receptores inibitórios da célula T, como a via de PD-1, que normalmente funciona para manter a tolerância de células T a antígenos próprios (Fig. 11-3). Assim, os vírus podem ter evoluído para explorar mecanismos normais de regulação imunológica e para ativar essas vias nas células T. Este fenômeno tem sido chamado de exaustão, o que implica que as respostas imunológicas contra os vírus são iniciadas, mas interrompidas prematuramente. Existe evidência da exaustão de células T CD8<sup>+</sup> nas infecções virais humanas crônicas, incluindo o HIV e a infecção pelo vírus da hepatite.
- **Os vírus podem infectar e destruir ou inativar as células imunocompetentes.** O exemplo óbvio é o HIV, que sobrevive ao infectar e eliminar as células T CD4<sup>+</sup>, os principais indutores de respostas imunes a antígenos proteicos.

## Imunidade contra parasitas

Na terminologia das doenças infecciosas, a infecção parasitária refere-se a infecção com parasitas de animais, tais como os protozoários, helmintos e ectoparasitas (p. ex., carrapatos e ácaros). Tais parasitas atualmente são responsáveis por maiores taxas de morbidade e mortalidade do que qualquer outra classe de organismos infecciosos, particularmente nos países em desenvolvimento. Estima-se que cerca de 30% da população mundial sofram de infestações parasitárias. A malária sozinha afeta mais de 100 milhões de pessoas em todo o mundo e é responsável por cerca de 500 mil mortes por ano. A magnitude deste problema de saúde pública é a principal razão para o grande interesse na imunidade antiparasitária e para o desenvolvimento da imunoparasitologia como um ramo distinto da imunologia.

A maioria dos parasitas passa por ciclos de vida complexos, parte dos quais ocorrem em seres humanos (ou em outros vertebrados) e a outra parte ocorre em hospedeiros intermediários, tais como moscas, carrapatos e caracóis. Os seres humanos são geralmente infectados por picadas de hospedeiros intermediários infectados ou através do compartilhamento de um habitat especial com um hospedeiro intermediário. Por exemplo, a malária e tripanossomíase são transmitidas

por picadas de insetos, e a esquistossomose é transmitida através da exposição à água em que os caramujos infectados residem. A maioria das infecções parasitárias são crônicas devido a fraca imunidade inata e a capacidade dos parasitas para fugir ou resistir à eliminação por respostas imunológicas adaptativas. Além disso, muitos fármacos antiparasitários não são eficazes em destruir os organismos. Indivíduos que vivem em áreas endêmicas requerem quimioterapia repetida por causa da exposição continuada e este tratamento muitas vezes não é possível devido ao custo e aos problemas logísticos.

## Imunidade Inata contra Parasitas

Apesar de diferentes agentes parasitários como os protozoários e helmintos terem demonstrado ativar diferentes mecanismos da imunidade inata, estes organismos são muitas vezes capazes de sobreviver e replicar em seus hospedeiros, porque eles são bem adaptados para resistir às defesas do hospedeiro. A principal resposta da imunidade inata aos protozoários é a fagocitose, mas muitos desses parasitas são resistentes à fagocitose e podem se replicar mesmo dentro de macrófagos. Alguns protozoários expressam moléculas de superfície que são reconhecidas por TLRs e ativam os fagócitos. As espécies de *Plasmodium* (o protozoário responsável pela malária), o *Toxoplasma gondii* (o agente que causa a toxoplasmose), e espécies de *Cryptosporidium* (o principal parasita que causa a diarreia em pacientes infectados pelo HIV), todos expressam lipídios glicosil fosfatidilinositol que podem ativar TLR2 e TLR4. Os fagócitos também podem atacar os parasitas helmintos e secretar substâncias microbidas para matar organismos que são muito grandes para serem fagocitados. No entanto, muitos helmintos possuem tegumentos espessos que os tornam resistentes aos mecanismos citocidas de neutrófilos e macrófagos, e que são muito grandes para serem ingeridos pelos fagócitos. Alguns helmintos podem ativar a via alternativa do complemento, embora, como discutiremos mais tarde, parasitas obtidos de hospedeiros infectados parecem ter desenvolvido resistência à lise mediada pelo complemento.

## A Imunidade Adaptativa contra Parasitas

Diferentes protozoários e helmintos variam muito com relação às suas propriedades estruturais e bioquímicas, os ciclos de vida e seus mecanismos patogênicos. Portanto, não é surpreendente que diferentes parasitas provoquem respostas imunológicas adaptativas distintas (Tabela 16-4). Alguns protozoários patogênicos evoluíram para sobreviver no interior das células hospedeiras, de modo que a imunidade protetora contra estes organismos é mediada por mecanismos semelhantes aos que eliminam as bactérias intracelulares e os vírus. Em contrapartida, os metazoários, tais como os helmintos sobrevivem em tecidos

extracelulares e sua eliminação é muitas vezes dependente de tipos especiais de respostas de anticorpos.

**Tabela 16-4**

**Respostas imunológicas a parasitas causadores de doenças**

Parasita	Doenças	Principais mecanismos de imunidade protetora
Protozoários		
<i>Plasmodium</i> spp.	Malária	Anticorpos e CTLs CD8 <sup>+</sup>
<i>Leishmania donovani</i>	Leishmaniose (mucocutânea disseminada)	Células T <sub>H1</sub> CD4 <sup>+</sup> ativam macrófagos para destruir parasitas fagocitados
<i>Trypanosoma brucei</i>	Tripanossomiase africana	Anticorpos
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebíase	Anticorpos, fagocitose
Metazoários		
<i>Schistosoma</i> spp.	Esquistossomose	Destruição mediada por eosinófilos e macrófagos
Filária (p. ex., <i>Wuchereria bancrofti</i> )	Filariose	Imunidade mediada por células; papel dos anticorpos?

Exemplos selecionados de parasitas e respostas imunológicas contra eles estão listados na tabela.

**O principal mecanismo de defesa contra os protozoários que sobrevivem dentro de macrófagos é a resposta imunológica mediada por células, em particular pela ativação de macrófagos por citocinas derivadas de células T<sub>H1</sub>.** A infecção de camundongos com *Leishmania major*, um protozoário que sobrevive dentro dos endossomas de macrófagos, é o exemplo mais bem documentado de como a predominância das respostas T<sub>H1</sub> ou T<sub>H2</sub> determina a resistência ou a susceptibilidade à doença (Fig. 16-6). A resistência à infecção está associada à ativação de células T CD4<sup>+</sup> T<sub>H1</sub> específicas para *Leishmania*, que produzem IFN-γ e assim ativam os macrófagos para que destruam os parasitas intracelulares. Por outro lado, a ativação das células T<sub>H2</sub> pelos protozoários resulta no aumento da sobrevivência do parasita e na exacerbação de lesões devido às ações supressoras de citocinas T<sub>H2</sub> de macrófagos. Um bom exemplo desta diferença é visto nas infecções por *Leishmania* em diferentes linhagens de camundongos isogênicos. A maioria das cepas de camundongos isogênicos é resistente à infecção pelos *L. major*, mas a linhagem BALB/c e algumas cepas de camundongos relacionados são altamente suscetíveis e morrem, se forem infectados com um grande número de parasitas. Após a infecção, as cepas resistentes produzem grandes quantidades de IFN-γ em resposta a antígenos de *Leishmania*, enquanto as cepas que são suscetíveis a leishmaniose fatal produzem mais IL-4 em resposta ao parasita. A promoção da resposta T<sub>H1</sub> ou a inibição da resposta T<sub>H2</sub> em cepas sensíveis aumenta a sua resistência à infecção. Os mecanismos desta impressionante diferença entre linhagens de camundongos não estão definidos.

Protozoários que replicam dentro de várias células do hospedeiro e lisam estas

células, estimulam anticorpos específicos e as respostas de CTL, semelhante aos vírus citopáticos. Um exemplo de um tal organismo é o parasita da malária, que reside principalmente nas hemácias e em hepatócitos durante seu ciclo de vida. Pensou-se durante muitos anos que os anticorpos eram o principal mecanismo protetor contra a malária, e no início as tentativas de vacinação contra esta infecção eram direcionadas para gerar anticorpos. Agora é evidente que a resposta dos CTLs contra parasitas que residem nos hepatócitos é uma defesa importante contra a propagação deste protozoário intracelular. A citocina IFN- $\gamma$  tem sido apresentada como protetora em muitas infecções por protozoários, incluindo malária, toxoplasmose e criptosporidiose.

***A defesa contra muitas infecções por helmintos é mediada pela ativação das células T<sub>H2</sub>, o que resulta na produção de anticorpos IgE e ativação de***

***eosinófilos.*** Os helmintos estimulam a diferenciação de células T CD4<sup>+</sup> imaturas para o subconjunto de células efetoras T<sub>H2</sub>, que secretam IL-4 e IL-5. A IL-4 estimula a produção de IgE, a qual se liga ao receptor Fc $\epsilon$  de eosinófilos e de mastócitos e a IL-5 estimula o desenvolvimento dos eosinófilos e ativa os eosinófilos. A IgE reveste os parasitas e os eosinófilos se ligam à IgE e são ativados para liberar seus conteúdos granulares, que destroem os helmintos (Cap. 20). As ações combinadas de mastócitos e eosinófilos também contribuem para a expulsão dos parasitas do intestino (Fig. 10-9). A expulsão de alguns nematódeos intestinais pode ocorrer devido a mecanismos dependentes de IL-4 que não requerem IgE, como o aumento da peristalse.

As respostas imunológicas adaptativas contra parasitas também podem contribuir para a lesão tecidual. Alguns parasitas e seus produtos induzem respostas granulomatosas com fibrose concomitante. Os ovos de *Schistosoma mansoni*

depositados no fígado estimulam as células T CD4<sup>+</sup>, que por sua vez ativam os macrófagos e induzem as reações DTH. As reações DTH resultam na formação de granulomas em torno dos ovos; uma característica incomum desses granulomas, especialmente em camundongos, é a sua associação a respostas de T<sub>H2</sub>.

(Granulomas são geralmente induzidos por respostas T<sub>H1</sub> contra antígenos persistentes; consulte o Capítulo 19.) Tais granulomas induzidos por T<sub>H2</sub> servem para conter os ovos dos esquistossomos, mas a fibrose grave associada a esta resposta imune crônica mediada por células leva a cirrose, interrupção do fluxo de sangue venoso no fígado e hipertensão portal. Na filariose linfática, o alojamento dos parasitas nos vasos linfáticos leva a reações imunológicas crônicas mediadas por células e, por fim, à fibrose. Isso resulta na obstrução linfática e linfedema severo. As infestações parasitárias crônicas e persistentes são muitas vezes associadas à formação de complexos de antígenos do parasita e anticorpos específicos. Os complexos podem ser depositados nos vasos sanguíneos e nos glomérulos do rim e produzem vasculite e nefrite, respectivamente (Cap. 19). A doença do complexo imunológico é uma complicação da esquistossomose e da malária.

## Evasão da Resposta Imunológica por Parasitas

**Os parasitas escapam da imunidade protetora reduzindo a sua imunogenicidade e pela inibição das respostas imunológicas do hospedeiro.**

Diferentes parasitas desenvolveram formas notavelmente eficazes de resistir à imunidade (Tabela 16-5).

**Tabela 16-5**

### Mecanismos de Evasão Imune pelos Parasitas

Mecanismo de evasão imune	Exemplos
Variação antigênica	Tripanossomas, <i>Plasmodium</i>
Resistência adquirida ao complemento, CTLs	Schistosomas
Inibição das respostas imunes	Filária (secundária à obstrução linfática), tripanossomas
Perda antigênica	Entamoeba

CTL, linfócito T citotóxico.

- Os parasitas alteram seus antígenos de superfície durante o seu ciclo de vida em hospedeiros vertebrados. Existem duas formas de variação antigênica bem definidas. A primeira é uma alteração fase-específica na expressão dos antígenos, de modo a que os estágios teciduais maduros de parasitas produzem antígenos diferentes daqueles das fases infecciosas. Por exemplo, a fase dos esporozoítos infectantes dos parasitas da malária é antigenicamente distinta dos merozoítos que residem no hospedeiro e são responsáveis pela infecção crônica. No momento em que o sistema imunológico responde à infecção por esporozoítos, o parasita já tem se diferenciado, expressa novos antígenos e não é mais um alvo para a eliminação imunológica. O segundo e mais notável exemplo de variação antigênica em parasitas é a variação contínua dos principais antígenos de superfície observada em tripanossomas africanos como o *Trypanosoma brucei* e o *Trypanosoma rhodesiense*. A variação antigênica contínua de tripanossomas é principalmente devida a mudanças na expressão dos genes que codificam o maior antígeno de superfície. Os pacientes infectados apresentam ondas de parasitemia no sangue e cada onda consiste de parasitas que expressam um antígeno de superfície diferente daquele da onda anterior. Assim, no momento em que o hospedeiro produz anticorpos contra o parasita, um organismo antigenicamente diferente já se desenvolveu. Mais de 100 ondas de parasitemia podem ocorrer em uma única infecção. Uma consequência da variação antigênica em parasitas é a dificuldade para vacinar eficazmente os indivíduos contra estas infecções.
- Os parasitas se tornam resistentes aos mecanismos imunológicos efetores durante a sua permanência em hospedeiros vertebrados. Talvez os melhores exemplos sejam as larvas dos esquistossomos, que viajam para os pulmões de animais infectados e, durante esta migração, desenvolvem um tegumento resistente a



danos pelo complemento e pelos CTLs. A base bioquímica desta mudança não é conhecida.

- Os parasitas protozoários podem esconder-se do sistema imunológico por viver no interior das células do hospedeiro ou pelo desenvolvimento de cistos resistentes aos efetores imunológicos. Alguns parasitas helmínticos residem nos lumens intestinais e estão a salvo dos mecanismos imunológicos efetores mediados por células. Parasitas também podem expelir suas capas antigênicas espontaneamente ou após a ligação a anticorpos específicos. A disseminação de antígenos torna os parasitas resistentes a um ataque subsequente mediado por anticorpos. A *Entamoeba histolytica* é um parasita do grupo dos protozoários que lança antígenos e também pode se converter para uma forma de cisto no lúmen do intestino grosso.
- Parasitas inibem a resposta imune do hospedeiro por múltiplos mecanismos. A anergia de células T aos antígenos do parasita tem sido observada em esquistossomose grave envolvendo o fígado e o baço e em infecções filariais. Os mecanismos de irresponsividade da resposta imunológica a essas infecções não são bem compreendidos. Na filariose linfática, a infecção de linfonodos com posterior ruptura da arquitetura podem contribuir para a imunodeficiência. Alguns parasitas, como *Leishmania*, estimulam o desenvolvimento das células T reguladoras, que suprimem a resposta imunológica o suficiente para permitir a persistência dos parasitas. Uma imunossupressão mais inespecífica e generalizada é observada na malária e na tripanossomíase africana. Esta imunodeficiência tem sido atribuída à produção de citocinas imunossupressoras por macrófagos ativados e células T e defeitos na ativação de células T.

As consequências das infestações parasitárias para a saúde e desenvolvimento econômico são devastadoras. As tentativas de desenvolver vacinas eficazes contra essas infecções têm sido ativas por muitos anos. Embora o progresso tenha sido mais lento do que se poderia esperar, a elucidação dos mecanismos fundamentais das respostas imunológicas e a evasão imune por parasitas sustentam uma promessa para o futuro.

## Estratégias para o desenvolvimento de vacinas

O nascimento da imunologia como ciência data da vacinação bem-sucedida contra a varíola realizada, em 1796, por Edward Jenner. A importância da imunização profilática contra doenças infecciosas é melhor ilustrada pelo fato de que programas mundiais de vacinação levaram à erradicação completa ou quase completa de muitas dessas doenças nos países desenvolvidos (Tabela 1-1). O princípio fundamental da vacinação é administrar uma forma morta ou atenuada de um agente infeccioso ou um componente de um microrganismo que não causa a doença, mas provoca uma resposta imune que fornece proteção contra a infecção pelo microrganismo

patogênico vivo.

**O sucesso da vacinação na erradicação das doenças infecciosas é dependente de várias propriedades dos microrganismos.** As vacinas são eficazes, se o agente infeccioso não estabelecer latência, se não se passar por nenhuma ou por muita variação antigênica e se não interferir com resposta imunológica do hospedeiro. É difícil vacinar de maneira eficaz contra microrganismos, tais como o HIV, que estabelece uma infecção latente e é altamente variável. As vacinas são também mais eficazes contra infecções que são limitadas a hospedeiros humanos e não apresentam reservatórios animais.

**A maioria das vacinas em uso atualmente trabalha induzindo a imunidade humoral.** Os anticorpos são o único mecanismo do sistema imunológico que previne infecções pela neutralização e eliminação dos microrganismos antes de se estabelecerem hospedeiro. As melhores vacinas são aquelas que estimulam o desenvolvimento dos plasmócitos de longa vida que produzem anticorpos de alta afinidade, assim como as células B de memória. Estes aspectos das respostas imunológicas humorais são melhores induzidos pela reação no centro germinativo (Cap. 12), que requer o auxílio fornecido pelas células T CD4<sup>+</sup> específicas para antígenos proteicos. Na próxima seção, vamos resumir as abordagens de vacinação que foram testadas (Tabela 16-6) e suas principais utilidades e limitações.

---

## Tabela 16-6

### Abordagens de Vacinas

---

Tipo de vacina	Exemplos
Bactéria viva atenuada ou morta	Bacilo de Calmette-Guérin, cólera
Vírus vivos atenuados	Pólio, raiva
Vacinas de subunidades (antígeno)	Toxóide tetânico, toxóide diftérico
Vacinas conjugadas	<i>Haemophilus influenzae</i> , pneumococos
Vacinas sintéticas	Hepatite (proteínas recombinantes)
Vetores virais	Ensaio clínico de antígenos de HIV em vetor canarypox
Vacinas de DNA	Ensaio clínico em andamento para várias infecções

## Vacinas Bacterianas e Virais Atenuadas e Inativadas

As vacinas compostas por microrganismos não patogênicos intactos são produzidas pelo tratamento dos microrganismos de maneira que não possam causar a doença (ou seja, a sua virulência é atenuada) ou matando os microrganismos, mantendo a sua imunogenicidade. A grande vantagem das vacinas microbianas atenuadas é que elas provocam toda resposta imunológica inata e adaptativa (tanto humoral quanto mediada por células) que o microrganismo patogênico desencadearia, e elas são, portanto, a maneira ideal de induzir a imunidade protetora. As bactérias vivas

atenuadas foram mostradas pela primeira vez por Louis Pasteur conferindo imunidade específica. As vacinas bacterianas em uso hoje, de bactérias atenuadas ou mortas, em geral induzem uma proteção limitada e são eficazes apenas por curtos períodos. As vacinas virais vivas atenuadas são geralmente mais eficazes; pólio, sarampo e febre amarela são três bons exemplos. A abordagem mais utilizada para a produção de tais vírus atenuados é a passagem repetida em cultura celular. Mais recentemente, a geração de genes mutantes sensíveis à temperatura e por deleção alcançaram o mesmo objetivo. Vacinas virais frequentemente induzem a imunidade específica duradoura, de modo que a imunização de crianças é suficiente para a proteção ao longo da vida. A maior preocupação com as vacinas virais ou bacterianas atenuadas é a segurança. A vacina viva atenuada oral contra a poliomielite praticamente erradicou a doença, mas em casos raros o vírus da vacina é reativado e provoca a poliomielite paralisante. Na verdade, o sucesso da vacinação em todo o mundo leva a questionar-se se a doença induzida pela vacina, embora rara, poderia tornar-se mais frequente do que a doença adquirida naturalmente. Este problema potencial pode ser revertido pela utilização das vacinas de vírus mortos, de modo a completar o programa de erradicação.

Uma vacina inativada amplamente utilizada e de considerável importância para a saúde pública é a vacina contra a gripe. Os vírus influenza cultivados em ovos de galinha são utilizados em dois tipos de vacinas. A vacina mais comum é a trivalente inativada(morta) usada na vacina contra a gripe aplicada na pele via intramuscular. Três das cepas de influenza mais frequentemente encontradas são selecionadas a cada ano e incorporadas nesta vacina. Um segundo tipo de vacina contra a influenza envolve as mesmas três cepas, mas a vacina é constituída pelo vírus vivo atenuado e é utilizada como um spray nasal.

## Vacinas de Antígeno Purificado (Subunidade)

As vacinas de subunidades são compostas de antígenos purificados a partir de microrganismos ou toxinas inativadas e geralmente são administradas com um adjuvante. Uma utilização eficaz de antígenos purificados como vacinas é feita na prevenção de doenças causadas por toxinas bacterianas. As toxinas podem ser inofensivas, sem perder a imunogenicidade, e tais toxoides induzem fortes respostas dos anticorpos. A difteria e o tétano são duas infecções cujas consequências potencialmente fatais têm sido amplamente controladas pela imunização de crianças com preparações de toxoides. As vacinas compostas por antígenos de polissacarídeo bacteriano são usadas contra os pneumococos e *H. influenzae*. Como os polissacarídeos são antígenos independentes de células T, eles tendem a induzir respostas de anticorpos de baixa afinidade e podem ser pouco imunogênicos em crianças (que não produzem fortes respostas de anticorpos de células T-independentes). As respostas de anticorpos de alta afinidade podem ser produzidas

contra antígenos polissacarídeos, mesmo em crianças pelo acoplamento dos polissacarídeos a proteínas para formar **vacinas conjugadas**. Estas vacinas funcionam como conjugados carreadores de hapteno e são uma aplicação prática do princípio da cooperação entre as células T e B (Cap. 12). As vacinas contra *H. influenzae*, pneumococos e meningococos atualmente utilizadas, são vacinas conjugadas. As vacinas de proteína purificada estimulam as células T auxiliares e as respostas de anticorpos, mas elas não geram CTLs potentes. A razão para o baixo desenvolvimento de CTL é que proteínas exógenas (e peptídios) são ineficientes ao entrarem na via do MHC de classe I da apresentação de antígenos. Como resultado, as vacinas de proteínas não são reconhecidas de forma eficiente por células T CD8<sup>+</sup> restritas de classe I.

## Vacinas de Antígenos Sintéticos

A meta da pesquisa de vacinas tem sido identificar a maioria dos antígenos ou epítopos microbianos mais imunogênicos para sintetizá-los no laboratório, e de usar os antígenos sintéticos como vacinas. É possível deduzir as sequências proteicas de antígenos microbianos dos dados de sequência nucleotídica para preparar grandes quantidades de proteínas por tecnologia de DNA recombinante. As vacinas feitas de antígenos derivados de DNA recombinante estão agora em uso para o vírus da hepatite, o vírus da herpes simples, o vírus da febre aftosa (um importante patógeno para o gado), os papilomavírus humano e o rotavírus. No caso da maioria das vacinas contra o papilomavírus humano amplamente utilizadas, que foi desenvolvida para prevenir cânceres induzidos por vírus, as proteínas recombinantes de quatro cepas virais (HPV 6, 11, 16, e 18) são feitas em leveduras e combinadas com um adjuvante. O HPV 6 e 11 são causas comuns de verrugas, e o HPV 16 e 18 são as cepas mais comuns de HPV relacionados ao câncer cervical.

## Vacinas de Vírus Vivos Envolvendo Vírus Recombinantes

Outra abordagem para o desenvolvimento de vacinas é introduzir os genes que codificam antígenos microbianos em um vírus não citopático e infectar pessoas com este vírus. Assim, o vírus funciona como uma fonte de antígeno em um indivíduo inoculado. A grande vantagem de vetores virais é que, tal como outros vírus vivos, eles induzem o complemento total das respostas imunológicas, incluindo respostas CTL fortes. Esta técnica tem sido usada mais comumente com os vetores de vírus da vaccínia. A inoculação de tais vírus recombinantes em muitas espécies de animais induz a imunidade humoral e a imunidade mediada por células contra o antígeno produzido pelo gene estranho (e, é claro, contra os antígenos do vírus da vaccínia). Um problema potencial com o vírus recombinante é que os vírus podem infectar as

células hospedeiras e ainda embora eles não sejam patogênicos, podem produzir antígenos que estimulam respostas de CTL que matam as células hospedeiras infectadas. Estas e outras preocupações de segurança têm limitado o amplo uso dos vetores virais para a produção de vacinas.

## Vacinas de DNA

Um método interessante de vacinação foi desenvolvido com base em uma observação inesperada. A inoculação de um plasmídeo que contém o DNA complementar (cDNA) que codifica um antígeno proteico leva às respostas imunes humoral e celular contra o antígeno. É provável que as APCs, tais como células dendríticas, sejam transfectadas pelo plasmídeo e o cDNA seja transcrito e traduzido em uma proteína imunogênica que induz respostas específicas. Os plasmídeos bacterianos são ricos em nucleotídeos CpG não metilados e são reconhecidos por um TLR (TLR9) em células dendríticas e outras células, provocando assim uma resposta imunológica inata que aumenta a imunidade adaptativa (Cap. 4). Portanto, as vacinas com DNA do plasmídeo podem ser eficazes, mesmo quando administradas sem adjuvantes. A capacidade de armazenar DNA sem refrigeração, para uso no campo, também faz com que esta técnica seja promissora. No entanto, as vacinas de DNA não têm sido tão eficazes quanto o esperado em ensaios clínicos, e os fatores que determinam a eficácia destas vacinas, especialmente em seres humanos, não estão ainda completamente definidos.

## Adjuvantes e Imunomoduladores

A iniciação de respostas dependentes de células T imunológicas contra os antígenos de proteínas requer que os antígenos sejam administrados com adjuvantes. A maioria dos adjuvantes provoca a resposta imune inata, com aumento da expressão de coestimuladores e da produção de citocinas, tais como a IL-12, que estimula o crescimento e a diferenciação das células T. As bactérias mortas pelo calor são adjuvantes poderosos que são comumente utilizados em animais experimentais. No entanto, a inflamação local grave que tais adjuvantes desencadeiam impede a sua utilização em humanos. Muito esforço está sendo dedicado para o desenvolvimento de adjuvantes eficazes e seguros para utilização em seres humanos. Apenas dois foram aprovados para pacientes, o hidróxido alumínio gel de (que aparece para promover respostas de células B) e uma formulação lipídica chamada de Squalene que pode ativar fagócitos. Uma alternativa para os adjuvantes é administrar substâncias naturais que estimulam respostas de células T em conjunto com os antígenos. Por exemplo, a IL-12 incorporada a vacinas promove uma forte imunidade mediada por células. Como mencionado, o DNA do plasmídeo tem atividades intrínsecas como as do adjuvante e é possível incorporar coestimuladores (p. ex., as

moléculas B7) ou citocinas para as vacinas de DNA de plasmídeo. Estas ideias interessantes permanecem experimentais.

## A Imunização Passiva

A imunidade protetora também pode ser conferida pela imunização passiva, por exemplo, pela transferência de anticorpos específicos. Na situação clínica, a imunização passiva é mais comumente utilizada para o tratamento rápido de doenças potencialmente fatais causadas por toxinas, como a do tétano, e na proteção contra raiva e hepatite. Os anticorpos contra veneno de cobra podem salvar vidas quando administrados após as picadas de cobras venenosas. A imunidade passiva é de curta duração porque o hospedeiro não responde à imunização e a proteção dura apenas enquanto os anticorpos injetados persistem. Além disso, a imunização passiva não induz memória, então um indivíduo imunizado não é protegido contra a exposição subsequente à toxina ou ao microrganismo.

## Resumo

A interação entre o sistema imunológico com organismos infecciosos é uma interação dinâmica dos mecanismos tendentes a eliminar infecções e estratégias microbianas concebidas para permitir a sobrevivência em face dos poderosos mecanismos de defesa. Diferentes tipos de agentes infecciosos estimulam tipos distintos de respostas imunológicas e desenvolveram mecanismos exclusivos para evadir a imunidade. Em algumas infecções, a resposta imunológica é a causa da lesão tecidual e da doença.

A imunidade inata contra bactérias extracelulares é mediada pelos fagócitos e o sistema complemento (as vias alternativas e da lectina).

A principal resposta imunológica adaptativa contra bactérias extracelulares consiste em anticorpos específicos que opsonizam as bactérias para a fagocitose e ativam o sistema complemento. As toxinas produzidas por tais bactérias são neutralizadas por anticorpos específicos. Algumas toxinas bacterianas são potentes indutoras da produção de citocinas e as citocinas respondem por grande parte da doença sistêmica associada a graves infecções disseminadas com estes microrganismos.

A imunidade inata contra bactérias intracelulares é mediada principalmente por macrófagos. No entanto, bactérias intracelulares são capazes de sobreviver e replicar dentro das células do hospedeiro, incluindo os fagócitos, porque elas desenvolveram mecanismos para resistir à degradação dentro de fagócitos.

A imunidade adaptativa contra bactérias intracelulares é mediada principalmente por células e consiste na ativação de macrófagos por células T CD4 + , bem como na destruição de células infectadas por CTLs CD8 + . A resposta patológica característica à infecção por bactérias intracelulares é a inflamação granulomatosa.



As respostas protetoras para fungos consistem na imunidade inata, mediada pelos neutrófilos e macrófagos e na imunidade adaptativa humoral e mediada por células. Os fungos são em geral facilmente eliminados pelos fagócitos e por um sistema imunológico competente, motivo pelo qual as infecções fúngicas disseminadas são vistas principalmente em pessoas imunodeficientes.

A imunidade inata contra vírus é mediada por interferons do tipo I e pelas células NK. Os anticorpos neutralizantes protegem contra a entrada do vírus nas células no início do curso da infecção e mais tarde se os vírus forem liberados de células infectadas mortas. O maior mecanismo de defesa contra a infecção estabelecida é a destruição de células infectadas mediada por CTL. Os CTLs podem contribuir para a lesão do tecido, mesmo quando o vírus infeccioso não é prejudicial por si só. Os vírus podem escapar das respostas imunológicas por meio da variação antigênica, inibição de apresentação de antígeno e produção de moléculas imunossupressoras.

Os parasitas, como protozoários e helmintos originam infecções crônicas e persistentes, porque a imunidade inata contra eles é fraca e os parasitas desenvolveram vários mecanismos para evadir e resistir à imunidade específica. A diversidade estrutural e antigênica dos parasitas patogênicos se reflete na heterogeneidade da resposta imune adaptativa que eles provocam. Os protozoários que vivem dentro das células do hospedeiro são destruídos por imunidade mediada por células, enquanto os helmintos são eliminados por anticorpos IgE e pela destruição mediada por eosinófilos assim como por outros leucócitos. Os parasitas escapam do sistema imunológico, variando seus antígenos durante a permanência em hospedeiros vertebrados, pela aquisição de resistência aos mecanismos efetores imunológicos e pelos mascaramento e derramamento dos antígenos de sua superfície.

A vacinação é uma estratégia poderosa para a prevenção de infecções. As vacinas mais eficazes são aquelas que estimulam a produção de anticorpos de elevada afinidade e de células de memória. Muitas abordagens para a vacinação estão em uso clínico e estão sendo testadas para várias infecções.

## Leituras selecionadas

### Princípios Gerais

Alcais, A., Abel, L., Casanova, J.-L. Human genetics of infectious diseases: between proof of principle and paradigm. *Journal of Clinical Investigation*. 2009; 119:2506–2514.

Dorhol, A., Kaufmann, S. H. Fine-tuning T cell responses during infection. *Current Opinion in Immunology*. 2009; 21:367–377.

Finlay, B. B., McFadden, G. Anti-immunology: evasion of the host immune system by

bacterial and viral pathogens. *Cell*. 2006; 124:767–782.

### **Imunidade contra Bactérias Extracelulares e Intracelulares**

Baxt, L. A., Garza-Mayers, A. C., Goldberg, M. B. Bacterial subversion of host immune pathways. *Science*. 2013; 340:697–701.

Brodsky, I. E., Medzhitov, R. Targeting of immune signaling networks by bacterial pathogens. *Nature Cell Biology*. 2009; 11:521–526.

Curtis, M. M., Way, S. S. Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology*. 2009; 126:177–185.

O'Garra, A., Redford, P. S., McNab, F. W., et al. The immune response in tuberculosis. *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:475–527.

### **Imunidade contra Vírus**

Antoniou, A. N., Powis, S. J. Pathogen evasion strategies for the major histocompatibility complex class I assembly pathway. *Immunology*. 2008; 124:1–12.

Klenerman, P., Hill, A. T cells and viral persistence: lessons from diverse infections. *Nature Immunology*. 2005; 6:873–879.

Perry, A. K., Chen, G., Zheng, D., Tang, H., Cheng, G. The host type I interferon response to viral and bacterial infections. *Cell Research*. 2005; 15:407–422.

Rouse, B. T., Seherwat, S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:514–526.

Virgin, H. W., Wherry, E. J., Ahmed, R. Redefining chronic viral infection. *Cell*. 2009; 138:30–50.

Yan, N., Chen, Z. J. Intrinsic antiviral immunity. *Nature Immunology*. 2012; 13:214–222.

### **Imunidade contra Fungos**

Romani, L. Immunity to fungal infections. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11:275–288.

Wuthrich, M., Deepe, G. S., Klein, B. Adaptive immunity to fungi. *Annual Review of Immunology*. 2012; 30:115–148.

### **Imunidade contra Parasitas**

Good, M. F., Xu, H., Wykes, M., Engwerda, C. R. Development and regulation of cell-mediated immune responses to the blood stages of malaria: implications for vaccine research. *Annual Review of Immunology*. 2005; 23:69–99.

Langhorne, J., Ndungu, F. M., Sponaas, A.-M., Marsh, K. Immunity to malaria: more questions than answers. *Nature Immunology*. 2008; 9:725–732.

Maizels, R. M., Pearce, E. J., Artis, D., Yazdanbaksh, M., Wynn, T. A. Regulation of

pathogenesis and immunity in helminth infections. *Journal of Experimental Medicine*. 2009; 201:2059–2066.

McCulloch, R. Antigenic variation in African trypanosomes: monitoring progress. *Trends in Parasitology*. 2004; 20:117–121.

### **Vacinas e Adjuvantes**

Brunner, R., Jensen-Jarolim, E., Pali-Scholl, I. The ABC of clinical and experimental adjuvants—a brief overview. *Immunology Letters*. 2010; 128:29–35.

Donnelly, J. J., Wahren, B., Liu, M. A. DNA vaccines: progress and challenges. *Journal of Immunology*. 2005; 175:633–639.

Harris, J., Sharp, F. A., Lavelle, E. C. The role of inflammasomes in the immunostimulatory effects of particulate vaccine adjuvants. *European Journal of Immunology*. 2010; 40:634–638.

Koff, W. C., Burton, D. R., Johnson, P. R., et al. Accelerating next-generation vaccine development for global disease prevention. *Science*. 340, 2013. [1232910].

## CAPÍTULO 17

# Imunologia do Transplante

### PRINCÍPIOS GERAIS DA IMUNOLOGIA DO TRANSPLANTE

#### RESPOSTA IMUNOLÓGICA ADAPTATIVA AOS ALOENXERTOS

A Natureza dos Aloantígenos

Reconhecimento de Aloantígenos pelas Células T

Funções Ativadoras e Efetoras dos Linfócitos T Alorreativos

Ativação de Células B Alorreativas e Produção e Funções de Aloanticorpos

#### PADRÕES E MECANISMOS DE REJEIÇÃO DE ENXERTOS

Rejeição Hiperaguda

Rejeição Aguda

A Rejeição Crônica e a Vasculopatia do Enxerto

#### PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE REJEIÇÃO DE ALOENXERTOS

Métodos para Reduzir a Imunogenicidade de Aloenxertos

A Imunossupressão para Prevenir ou Tratar a Rejeição de Enxertos

Métodos para Induzir Tolerância Doador-Específica

#### TRANSPLANTE XENOGÊNICO

#### TRANSFUSÃO DE SANGUE E OS GRUPOS DE ANTÍGENOS SANGUÍNEOS ABO E RH

Antígenos de Grupos Sanguíneos ABO

Antígenos de outros Grupos Sanguíneos

#### TRANSPLANTE HEMATOPOÉTICO DE CÉLULAS-TRONCO

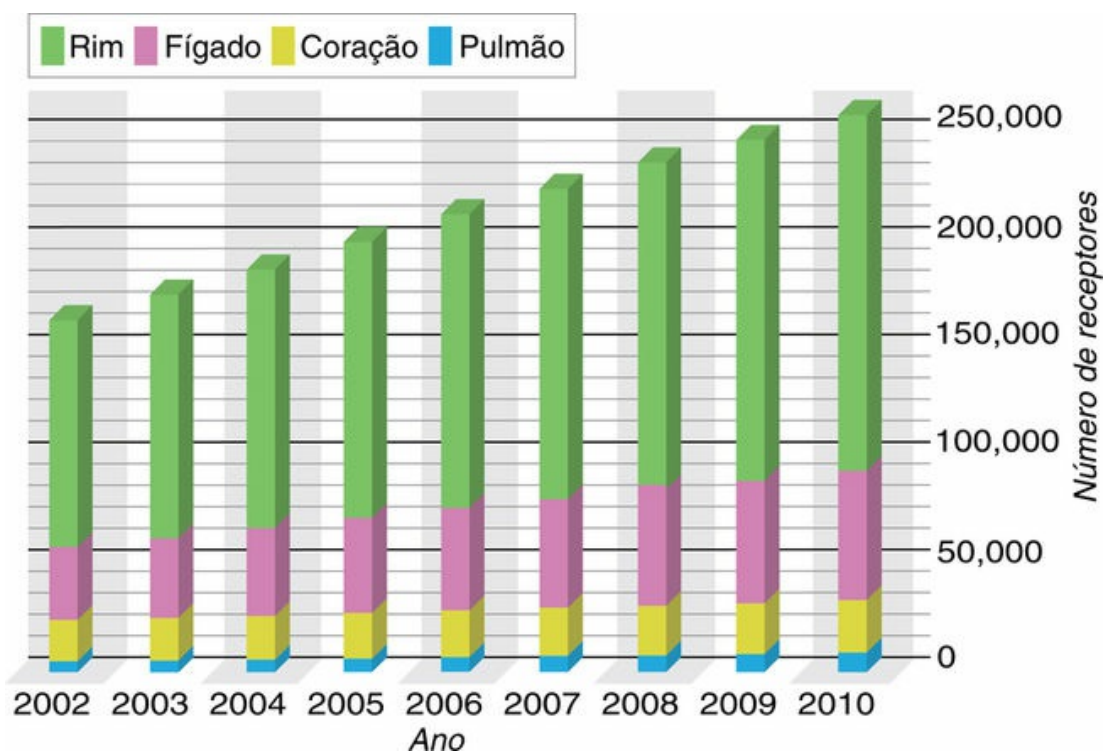
Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro

Imunodeficiência após o Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas

#### RESUMO

O transplante é um tratamento amplamente utilizado para a substituição de órgãos e tecidos que não funcionam por órgãos ou tecidos saudáveis. Tecnicamente, o transplante é o processo da retirada das células, tecidos ou órgãos, chamado de **enxerto**, de um indivíduo e colocando-os em um indivíduo (geralmente) diferente. O

indivíduo que fornece o enxerto é chamado de **doador**, e o indivíduo que recebe o enxerto é chamado de **receptor** ou **hospedeiro**. Se o enxerto é colocado em sua localização anatômica normal, o procedimento é chamado de transplante ortotópico; se o enxerto é colocado num local diferente, o procedimento é chamado de transplante heterotópico. A **transfusão** refere-se à transferência de células do sangue circulante ou de plasma de um indivíduo para outro. O transplante clínico para tratar doenças humanas tem aumentado continuamente durante os últimos 45 anos. O transplante de células-tronco hematopoéticas rins, fígados e corações é muito utilizado atualmente e o transplante de outros órgãos, tais como pulmão e pâncreas está se tornando mais frequente (Fig. 17-1). Mais de 30.000 transplantes renais, de coração, pulmão e fígado são atualmente realizados nos Estados Unidos a cada ano. Além disso, o transplante de vários outros órgãos e células, incluindo as células-tronco teciduais, estão sendo testados.



**FIGURA 17-1** Pessoas que vivem com enxertos de órgãos funcionando nos Estados Unidos, 2002-2010. (Dados de *SRTR relatório anual de 2012*. Disponível em <http://www.srtr.org/>. Acessado em abril de 2013)

Uma vez que o desafio técnico de transplantar órgãos cirurgicamente foi superado, logo ficou claro que a resposta imunológica contra os tecidos enxertados foi a grande barreira para o transplante. Por outro lado, controlar esta resposta imunológica é a chave para o transplante bem-sucedido. Estas realizações têm conduzido ao desenvolvimento da imunologia do transplante como uma disciplina dentro do tema

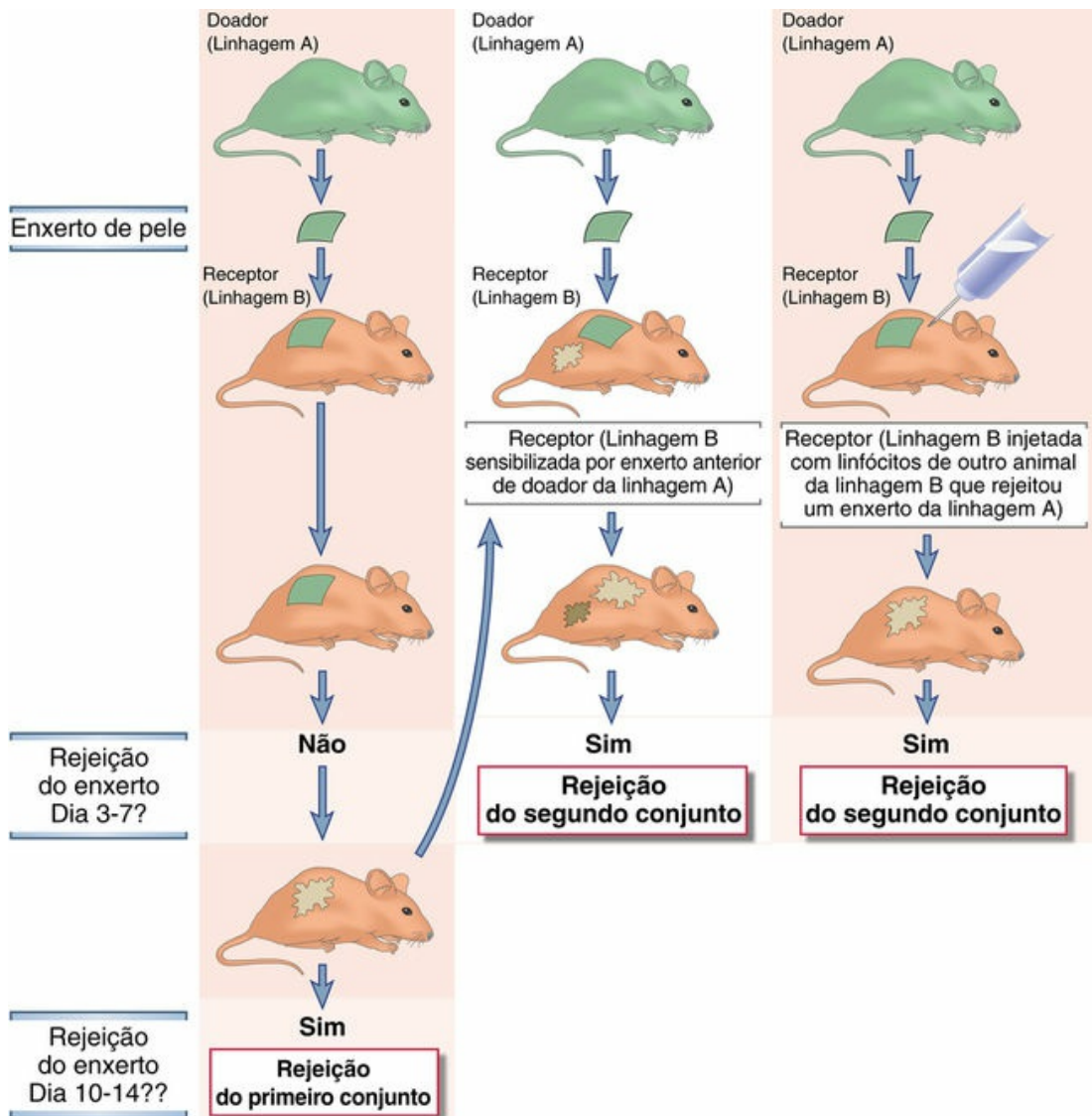
mais amplo da imunologia, e este é o tema do capítulo.

## Princípios gerais da imunologia do transplante

Com base em estudos experimentais e observações clínicas, vários princípios que são estabelecidos agora se aplicam às reações aos transplantes a nenhuma outra resposta imunológica. Estão resumidos a seguir.

***O transplante de células ou tecidos de um indivíduo para um indivíduo geneticamente não idêntico leva invariavelmente à rejeição do transplante devido a uma resposta imunológica adaptativa.*** Este problema foi considerado em primeiro lugar quando as tentativas para substituir a pele danificada em pacientes queimados com a pele de doadores não familiares mostraram-se uniformemente fracassadas. Durante um período de 1 a 2 semanas, a pele transplantada sofria necrose e se soltava. A falência dos enxertos levou Peter Medawar e outros pesquisadores a estudarem o transplante de pele em modelos animais. Estas experiências estabeleceram que a falha de enxerto de pele foi causada por uma reação inflamatória, que eles chamaram de **rejeição**. A conclusão de que a rejeição do enxerto é o resultado de uma resposta imunológica adaptativa veio de experiências que demonstram que o processo teve características de memória e especificidade e foi mediado por linfócitos (Fig. 17-2). Por exemplo, ocorre rejeição entre 10 a 14 dias após o primeiro transplante de um dador para um receptor não idêntico (chamado de rejeição do primeiro conjunto) e mais rapidamente após o segundo transplante a partir do mesmo dador para esse receptor (chamado de rejeição do segundo conjunto), indicando que o receptor desenvolveu uma memória para tecido enxertado. Indivíduos que rejeitaram um enxerto de um dador demonstram rejeição acelerada de outro enxerto a partir do mesmo dador, mas não a partir de um dador diferente, o que demonstra que o processo de rejeição é imunologicamente específico. Esses resultados experimentais foram recapitulados em transplantes clínicos. Talvez a evidência mais convincente mostrando que a rejeição do enxerto é uma resposta imunológica adaptativa tenha sido a constatação de que a capacidade de rejeitar rapidamente um transplante pode ser transferida com linfócitos de um hospedeiro sensibilizado para um hospedeiro imaturo.





**FIGURA 17-2** Rejeição do primeiro e segundo conjunto de enxertos.

Os resultados dos experimentos apresentados indicam que a rejeição do enxerto apresenta as características da resposta imunológica adaptativa, ou seja, a memória e a mediação por linfócitos. Um camundongo de linhagem pura B vai rejeitar um enxerto de um camundongo de linhagem pura A com uma cinética de primeiro conjunto (*painel da esquerda*). Um camundongo de linhagem B sensibilizado por um enxerto anterior de uma linhagem pura de camundongo A vai rejeitar um segundo enxerto a partir de uma cepa pura. Um camundongo com cinética de segundo conjunto (*painel do meio*), demonstrando memória. Um camundongo da linhagem B injetado com linfócitos B a partir de outro camundongo rejeitou um enxerto de uma cepa de camundongos A rejeitará um enxerto de um camundongo da

linhagem A com cinética de segundo conjunto (*painel direito*), o que demonstra o papel dos linfócitos na mediação de rejeição e memória. Um camundongo da linhagem B sensibilizado por um enxerto anterior de uma linhagem A vai rejeitar um enxerto de uma terceira linhagem não relacionada com cinética de primeiro conjunto, demonstrando, assim, uma outra característica da imunidade adaptativa, a especificidade (*não mostrada*). Enxertos singênicos nunca são rejeitados (*não mostrados*).

Os imunologistas de transplantes têm desenvolvido um vocabulário especial para descrever os tipos de células e tecidos encontrados no ambiente de transplante. Um enxerto transplantado de um indivíduo para o mesmo indivíduo é chamado de **enxerto autólogo**. Um enxerto transplantado entre dois indivíduos geneticamente idênticos é denominado um **enxerto singênico**. Um enxerto transplantado entre dois indivíduos geneticamente diferentes da mesma espécie é chamado de enxerto **alogênico** (ou **aloenxerto**). Um enxerto transplantado entre indivíduos de espécies diferentes é chamado de **enxerto xenogênico** (ou **xenoenxerto**). As moléculas que são reconhecidas como estranhas em enxertos são chamadas de **aloantígenos** e aquelas nos xenoenxertos são chamadas **xenoantígenos**. Os linfócitos e anticorpos que reagem com os aloantígenos ou xenoantígenos são descritos como sendo ou **alorreativo** ou **xenorreativo**, respectivamente.

A maior parte deste capítulo enfoca o transplante alogênico, porque é muito mais comumente praticado e melhor entendido que o transplante xenogênico, discutido brevemente no final do capítulo. Vamos considerar tanto a imunologia básica quanto alguns aspectos da prática clínica do transplante. Concluiremos o capítulo com uma discussão sobre o transplante de células-tronco hematopoéticas o que levanta problemas especiais geralmente não encontrados com os transplantes de órgãos sólidos.

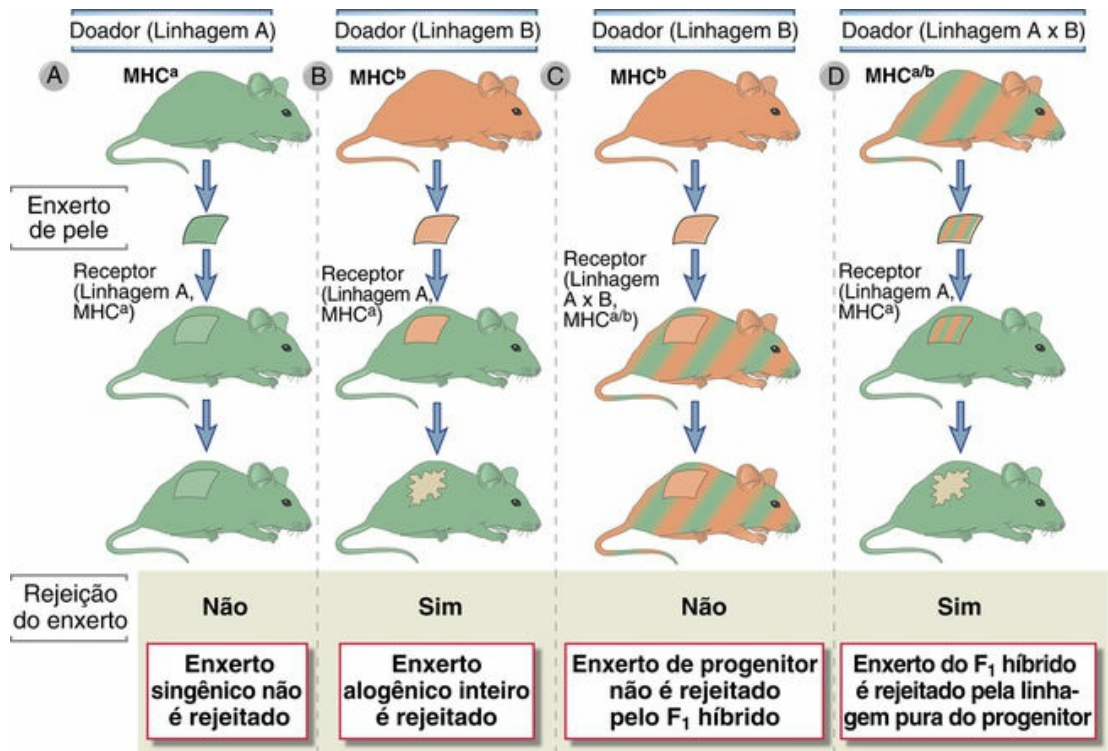
## Resposta imunológica adaptativa aos aloenxertos

Os aloantígenos provocam tanto respostas imunológicas celulares quanto humorais. Nesta seção, vamos discutir os mecanismos moleculares e celulares de alorreconhecimento, com ênfase sobre a natureza dos antígenos do enxerto que estimulam respostas alogênicas e as propriedades da resposta dos linfócitos.

## A Natureza dos Aloantígenos

**Os antígenos que estimulam a resposta imunológica adaptativa contra aloenxertos são proteínas de histocompatibilidade, codificadas por genes polimórficos que diferem entre os indivíduos.** Como foi discutido no [Capítulo 6](#),

todos os animais de uma linhagem pura são geneticamente idênticos e são homozigóticos para todos os genes (exceto os cromossomos sexuais nos machos). Por outro lado, os animais de diferentes cepas de linhagens puras, e os indivíduos em uma espécie (exceto gêmeos idênticos), diferem nos genes que herdaram, incluindo os genes de histocompatibilidade. As regras básicas da imunologia dos transplantes, que foram estabelecidas pela primeira vez a partir de experimentos em grande parte com camundongos definidos geneticamente, são os seguintes (Fig. 17-3).



**FIGURA 17-3** A genética da rejeição do enxerto.

Na ilustração, as duas cores diferentes do camundongo representam as linhagens puras com diferentes haplótipos do MHC. Os alelos do MHC herdados de ambos os pais são expressos de modo codominante na pele de uma prole A x B e, portanto, esses camundongos são representados por ambas as cores. Enxertos singênicos não são rejeitados (A). Os alonxertos são sempre rejeitados (B). Enxertos de um progenitor A ou B não serão rejeitados por um descendente (A x B) F<sub>1</sub> (C), mas os enxertos dos descendentes serão rejeitados por qualquer dos progenitores (D). Estes fenômenos se devem ao fato de que os produtos do gene do MHC são responsáveis pela rejeição do enxerto; enxertos são rejeitados somente se eles expressam um tipo de MHC (representado pelo verde ou laranja), que não é expresso pelo camundongo receptor.

- As células ou órgãos transplantados entre os indivíduos geneticamente idênticos (gêmeos idênticos ou membros da mesma linhagem pura de animais) nunca são rejeitados.
- As células ou órgãos transplantados entre pessoas geneticamente não idênticas ou membros de duas linhagens puras diferentes de uma espécie são sempre rejeitados.
- A descendência de um cruzamento entre duas linhagens puras diferentes de

animais não vai rejeitar enxertos de qualquer um dos pais. Em outras palavras, um animal (A x B) F<sub>1</sub> não vai rejeitar um enxerto de animais da linhagem A ou B. (Esta regra é violada no transplante de medula óssea, quando as células NK em um receptor [A x B] F<sub>1</sub> rejeitam as células de medula óssea a partir de um dos pais, como veremos mais adiante neste capítulo.)

- Um enxerto derivado da prole de um acasalamento entre duas linhagens puras diferentes de animais será rejeitado por qualquer um dos pais. Em outras palavras, um enxerto de um animal (A x B) F<sub>1</sub> será rejeitado por qualquer animal da linhagem A ou um B.

Tais resultados sugerem que as moléculas nos enxertos responsáveis por desencadear a rejeição devem ser polimórficas e sua expressão é codominante.

**Polimórfica** refere-se ao fato de esses antígenos do enxerto diferirem entre os indivíduos de uma espécie (além dos gêmeos idênticos) ou entre diferentes linhagens puras de animais. A expressão codominante significa que cada indivíduo herda genes que codificam estas moléculas de ambos os pais, e ambos os alelos parentais são expressos. Por conseguinte, os animais (A x B) F<sub>1</sub> expressam tanto os alelos A e B e quanto consideram tecidos A e B como próprios, enquanto os animais puros A ou B expressam apenas um alelo e consideram os tecidos (A x B) F<sub>1</sub> como parcialmente estranhos. É por isso que os animais (A x B) F<sub>1</sub> não rejeitam enxertos das linhagens A ou B e que ambos receptores A e B rejeitam um enxerto (A x B) F<sub>1</sub>.

**As moléculas responsáveis pelas reações fortes (rápidas) de rejeição são denominadas de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC).** George Snell e colegas produziram pares de linhagens de camundongos congênicas criados para ser geneticamente idênticos uns aos outros, exceto para os genes necessários para a rejeição do enxerto. Eles utilizaram estes camundongos para identificar os genes polimórficos que codificam os alvos moleculares de rejeição dos aloenxertos, chamados de genes MHC. Os transplantes da maioria dos tecidos entre qualquer par de indivíduos, a não ser nos gêmeos idênticos, será rejeitado porque as moléculas do MHC são tão polimórficas que não é possível que dois indivíduos herdem as mesmas. Como discutido no [Capítulo 6](#), a função normal das moléculas do MHC consiste em apresentar peptídios derivados de antígenos proteicos numa forma que pode ser reconhecida por células T. O papel das moléculas de MHC como os antígenos que causam rejeição ao enxerto é uma consequência da natureza do reconhecimento de antígenos da célula T, como discutiremos mais tarde. Lembre-se de que as moléculas de MHC humanas são chamadas de antígenos de leucócitos humanos (HLA) e no contexto do transplante humano, os termos de *MHC* e *HLA* são utilizados alternadamente.

Na configuração de qualquer transplante entre doador e receptor não idênticos geneticamente, haverá antígenos polimórficos diferentes de moléculas de MHC contra as quais o receptor pode desencadear uma resposta imunológica. Estes antígenos

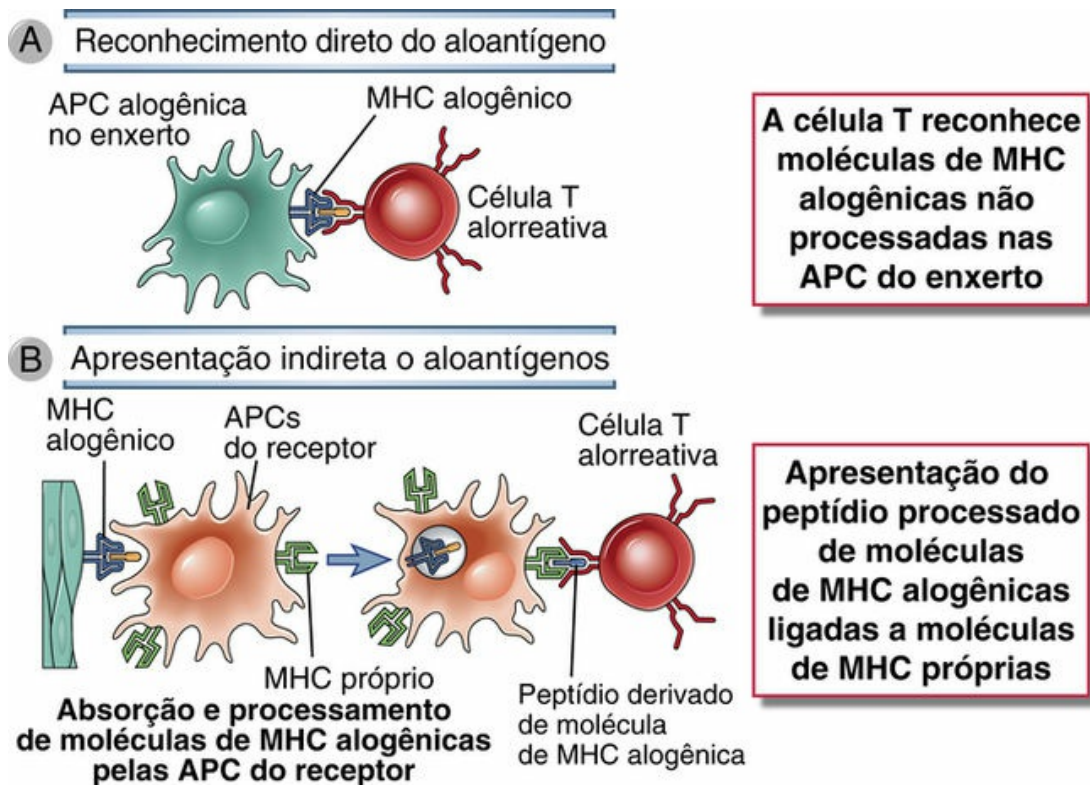
normalmente induzem reações de rejeição fracas ou mais lentas (mais graduais) do que as moléculas de MHC e por isso são chamados de **antígenos histocompatibilidade secundários**. A maioria dos antígenos de histocompatibilidade secundários são proteínas que são processadas e apresentadas para as células T do hospedeiro, em associação a moléculas de MHC próprio nas células apresentadoras de antígenos (APCs), semelhante a qualquer antígeno proteico. A relevância de antígenos de histocompatibilidade secundários em transplantes de órgãos sólidos clínica é incerta, principalmente porque tem havido pouco sucesso na identificação dos antígenos relevantes. Em camundongos, o antígeno H-Y macho parece ser um alvo do reconhecimento imunológico por fêmeas receptoras que recebem enxertos de doadores do sexo masculino. Embora em seres humanos exista um risco ligeiramente maior de rejeição de transplantes de coração de doador do sexo masculino para receptoras do sexo feminino, em comparação com os transplantes do mesmo sexo, dada a escassez de corações doados, combinar o sexo não é prático. Os antígenos de histocompatibilidade secundária desempenham um papel mais importante na estimulação de respostas do enxerto versus hospedeiro após o transplante de células-tronco hematopoéticas, discutidos mais adiante, mas a natureza dos antígenos relevantes nesse cenário também não está definida.

## Reconhecimento de Aloantígenos pelas Células T

***As moléculas alogênicas do MHC de um enxerto podem ser apresentadas para reconhecimento pelas células T do receptor de duas maneiras fundamentalmente diferentes, chamadas de vias diretas e indiretas (Fig. 17-4).*** Os estudos iniciais demonstraram que as células T do receptor do enxerto reconhecem as moléculas do MHC intactas, não processadas no enxerto, e isso é chamado de o **reconhecimento direto dos aloantígenos**. Estudos posteriores mostraram que, por vezes, as células T do receptor do enxerto reconhecem apenas as moléculas de MHC, no contexto de moléculas de MHC do receptor, o que implica que as moléculas de MHC do receptor devem estar apresentando proteínas de MHC de enxerto alogênico para as células T do receptor. Este processo é chamado **reconhecimento indireto**, e é essencialmente o mesmo que o reconhecimento de qualquer antígeno proteico externo (p. ex., microbiano). Não apenas as moléculas de MHC, mas os antígenos de histocompatibilidade secundária, também podem ser apresentados para as células T pela via indireta. O reconhecimento de aloantígenos pelas células T seja de maneira direta ou indireta, é o passo inicial na maioria das formas de rejeição de aloenxertos. É provável que, independentemente da via e dos antígenos do enxerto que são reconhecidas pelas células T do hospedeiro, a resposta inicial ocorra nos gânglios linfáticos de drenagem do enxerto, como discutiremos mais tarde. Nesse caso, as APCs que transportam o antígeno devem ser



capazes de migrar do enxerto para os gânglios linfáticos.



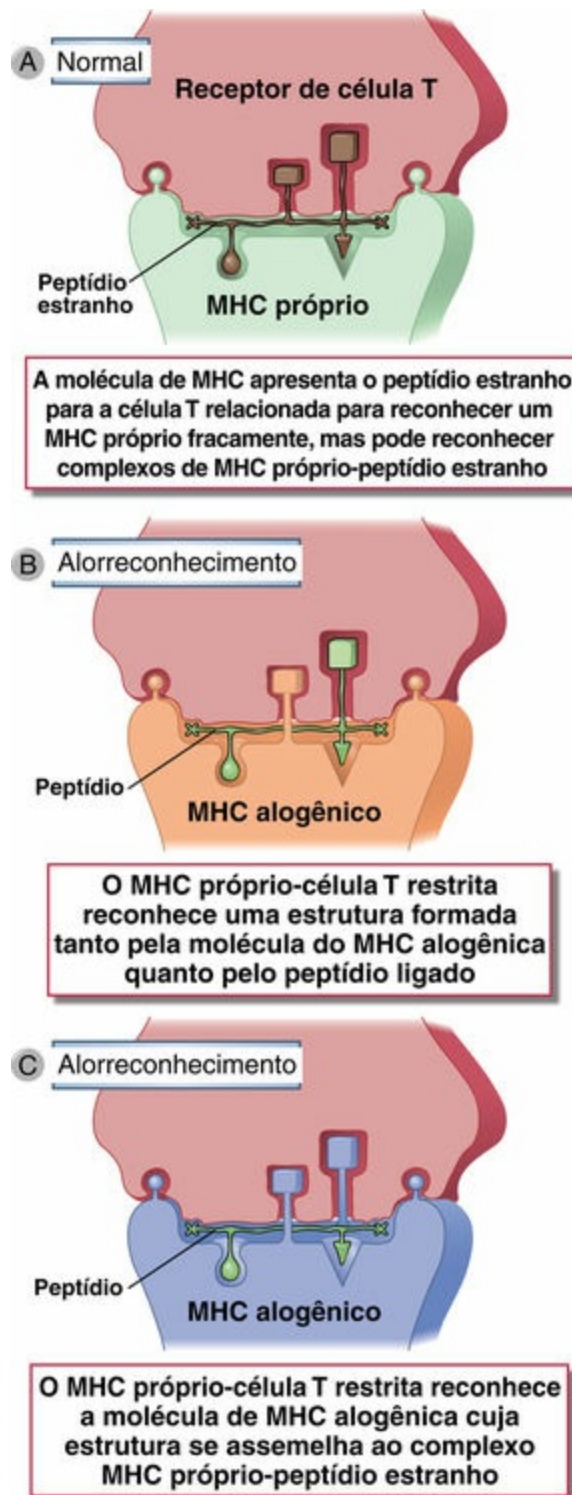
**FIGURA 17-4** Reconhecimento direto e indireto de aloantígenos.

**A**, o reconhecimento direto do aloantígeno ocorre quando as células T se ligam diretamente a uma molécula alôgênica do MHC intacta em uma APC de um enxerto (doador). **B**, ocorre o reconhecimento indireto dos aloantígenos quando as moléculas do MHC alôgenicas de células do enxerto são capturadas e processadas pelas APCs e os fragmentos peptídicos das moléculas de MHC alôgenicas contendo resíduos polimórficos de aminoácidos são ligados e apresentados pelas moléculas próprias do MHC do receptor. APC, célula apresentadora de antígeno.

### Reconhecimento Direto dos Aloantígenos MHC em Células do Doador

**No caso do reconhecimento direto, as moléculas de MHC intacta exibidas pelas células do enxerto são reconhecidas pelas células T receptoras sem a necessidade de processamento pelas APCs do hospedeiro (Fig. 17-5, A).** Pode parecer estranho que as células T, que normalmente são selecionadas durante a sua maturação para serem MHC próprias restritas, sejam capazes de reconhecer

moléculas de MHC externas (alogênicas ou xenogênicas). Uma provável explicação é que os receptores de células T (TCRs) têm uma especificidade inerente para as moléculas de MHC, independentemente do fato de elas serem próprias ou estranhas. Em outras palavras, os genes de TCR evoluíram para codificar uma estrutura de receptor que tem uma afinidade intrínseca para moléculas de MHC. Além disso, durante o desenvolvimento das células T no timo, a seleção positiva promove a sobrevivência de células T com fraca reatividade de MHC próprio e entre estas células T, pode haver muitas com forte reatividade às moléculas de MHC alogênicas. Embora a seleção negativa no timo elimine eficientemente as células T com alta afinidade para o auto MHC (Caps. 8 e 15), não necessariamente eliminam as células T que se ligam fortemente às moléculas de MHC alogênico, simplesmente porque estas moléculas não estão presentes no timo. O resultado é que o repertório maduro possui uma fraca afinidade intrínseca para moléculas de MHC e inclui muitas células T que se ligam às moléculas de MHC alogênico com elevada afinidade. Portanto, pode-se pensar em alorreconhecimento direto como um exemplo de uma reação imunológica cruzada em que uma célula T que foi selecionada para ser MHC própria restrita é capaz de se ligar moléculas de MHC alogênicas estruturalmente semelhantes com alta afinidade suficiente para permitir a ativação da célula T.



**FIGURA 17-5** Base molecular do reconhecimento direto das moléculas do MHC alogênicas. O reconhecimento direto de moléculas do MHC alogênicas pode ser pensado como uma reação cruzada em que uma célula T específica para uma molécula própria do complexo MHC-peptídeo estranho (A), também reconhece uma molécula de MHC alogênica (B, C). Os peptídeos que se ligam a

moléculas de MHC no enxerto podem contribuir para o alorreconhecimento **(B)** ou não **(C)**.

As moléculas de MHC expressas em superfícies celulares normalmente contêm peptídeos ligados e, em alguns casos, o peptídeo contribui para a estrutura reconhecida pelas células T alorreativas, exatamente como o papel dos peptídeos no reconhecimento normal dos antígenos estranhos pelas células T próprias de MHC restrito (Fig. 17-5, B). Mesmo que esses peptídeos possam ser derivados de proteínas que estão presentes no dador e no receptor, nas células do enxerto, eles são exibidos pelas moléculas de MHC alogênico. Portanto, os complexos de peptídeos (próprios ou estranhos) com moléculas de MHC alogênico vão aparecer de maneira diferente dos complexos peptídeo-MHC próprio. Em outros casos, o reconhecimento e a ativação direta de uma célula T alorreativa pode ocorrer independentemente de qual peptídeo é carregado pela molécula de MHC alogênico, devido aos resíduos de aminoácidos polimórficos da molécula de MHC alogênico sozinhos formarem uma estrutura que se assemelha ao MHC próprio mais o peptídeo (Fig. 17-5, C).

***As respostas das células T para as moléculas do MHC alogênico diretamente apresentadas são muito fortes, porque existe uma frequência alta de células T que conseguem reconhecer diretamente um único MHC alogênico.*** Estima-se que cerca de 1% a 2% de todas as células T de um indivíduo irá reconhecer diretamente uma molécula de MHC alogênica numa célula do doador, o que é de 100 a 1.000 vezes maior do que a frequência de células T específicas para qualquer peptídeo microbiano exibida pelas moléculas de MHC. Existem várias explicações para esta alta frequência de células T que podem reconhecer diretamente o alo-MHC.

- Muitos peptídeos diferentes derivados de células do doador podem combinar-se com uma única molécula de MHC alogênico, e cada uma dessas combinações peptídeo-MHC podem, teoricamente, ativar um clone diferente de células T receptoras. Isto acontece porque o encaixe da ligação do peptídeo de moléculas MHC pode acomodar muitos peptídeos diferentes, e cada peptídeo em combinação com a mesma molécula MHC vai olhar diferente para TCRs e vai ligar-se a diferentes clones de células T.
- Cada APC expressa milhares de cópias de diferentes moléculas de MHC na sua superfície, e se essas moléculas de MHC forem estranhas, muitas ou todas elas podem ser reconhecidas por células T alorreativas. Em contrapartida, no caso de uma infecção, menos de 1% (e talvez tão pouco quanto 0,1%) das moléculas próprias de MHC em uma APC normalmente apresentam qualquer peptídeo microbiano de uma só vez, e somente esses podem ser reconhecidos por células T específicas para o antígeno microbiano.
- Muitas das células T que respondem a uma molécula de MHC alogênica, mesmo na primeira exposição, são as células T de memória. É provável que estas células

de memória tenham sido geradas durante a exposição prévia a outro antígeno estranho (p. ex., microbiano) e reagem de forma cruzada com as moléculas de MHC alogênicas. Estas células de memória não são apenas populações expandidas de células antígeno-específicas, mas também são as que respondem mais rápido e de maneira potente do que os linfócitos imaturos e, assim, contribuem para a maior força da resposta de células T alorreativas.

O alorreconhecimento direto pode gerar tanto células T CD4<sup>+</sup> quanto as células T CD8<sup>+</sup>, que reconhecem os antígenos de enxertos e contribuem para a rejeição. O papel da resposta de células T alorreativas na rejeição é descrito mais adiante.

## **O Reconhecimento Indireto de Aloantígenos**

***Na via indireta, as moléculas de MHC (alogênicas) do doador são capturadas e processadas pelas APCs do receptor, e os peptídeos derivados das moléculas de MHC alogênicas são apresentados em associação a moléculas de MHC (Fig. 17-4, B).*** Assim, os peptídeos das moléculas MHC alogênico são apresentados pelas APCs do hospedeiro e reconhecidos pelas células T como antígenos convencionais de proteínas estranhas. Uma vez que as moléculas MHC alogênico possuem sequências de aminoácidos diferentes das do hospedeiro, eles podem gerar peptídeos estranhos associados às moléculas próprias de MHC na superfície de APCs do hospedeiro. Na verdade, as moléculas de MHC são as proteínas mais polimórficas do genoma; conseqüentemente, cada molécula de MHC alogênica pode dar origem a vários peptídeos que são estranhos para o hospedeiro, cada um reconhecido por diferentes células T. A apresentação indireta pode resultar no alorreconhecimento por células T CD4<sup>+</sup>, porque o aloantígeno é adquirido pelas APCs do hospedeiro, principalmente através da via endossomal vesicular (ou seja, como uma consequência da fagocitose) e é por isso, apresentado por moléculas do MHC classe II. Alguns antígenos de células fagocitadas do enxerto parecem entrar na via de apresentação de antígeno do MHC de classe I e são indiretamente reconhecidos por células T CD8<sup>+</sup>. Este fenômeno é um exemplo de apresentação cruzada ou preparação cruzada (Fig. 6-20), em células dendríticas que ingerem os antígenos de outra célula, a partir do enxerto e apresentam esses antígenos nas moléculas do MHC de classe I para ativar (principais) linfócitos T CD8<sup>+</sup>.

A prova de que o reconhecimento indireto das moléculas do MHC alogênicas desempenha um papel importante na rejeição de enxertos foram obtidas de estudos com camundongos *knockouts* deficientes na expressão do MHC de classe II. Por exemplo, enxertos de pele de camundongos doadores sem o MHC de classe II são capazes de induzir respostas da célula T CD4<sup>+</sup> (p. ex., restritas ao MHC de classe II) aos peptídeos derivados das moléculas do MHC de classe I do doador. Nestes experimentos, as moléculas do MHC de classe I do doador são processadas e

apresentadas pelas moléculas de classe II em APCs do receptor e estimulam as células T auxiliares do receptor. Foram obtidas evidências de que a apresentação indireta do antígeno pode contribuir para a rejeição tardia de aloenxertos humanos. As células T CD4<sup>+</sup> de coração e fígado de aloenxerto de receptores reconhecem e são ativadas por peptídeos derivados do MHC de doadores quando apresentados pelas próprias APCs do paciente.

A importância relativa do alorreconhecimento direto e indireto na rejeição de enxertos é uma questão que deve continuar a ser debatida. Afirma-se frequentemente que a rejeição aguda do enxerto é mediada principalmente pelo reconhecimento direto de aloantígenos, principalmente por células T CD8<sup>+</sup>, que destroem diretamente o enxerto, enquanto a rejeição crônica do enxerto tem um componente maior de reconhecimento indireto, resultando na ativação de células T CD4<sup>+</sup> que induzem a rejeição principalmente pelo desencadeamento da inflamação mediada por citocinas e ajudando as células B a produzirem anticorpos contra os aloantígenos.

## Funções Ativadoras e Efetoras dos Linfócitos T Alorreativos

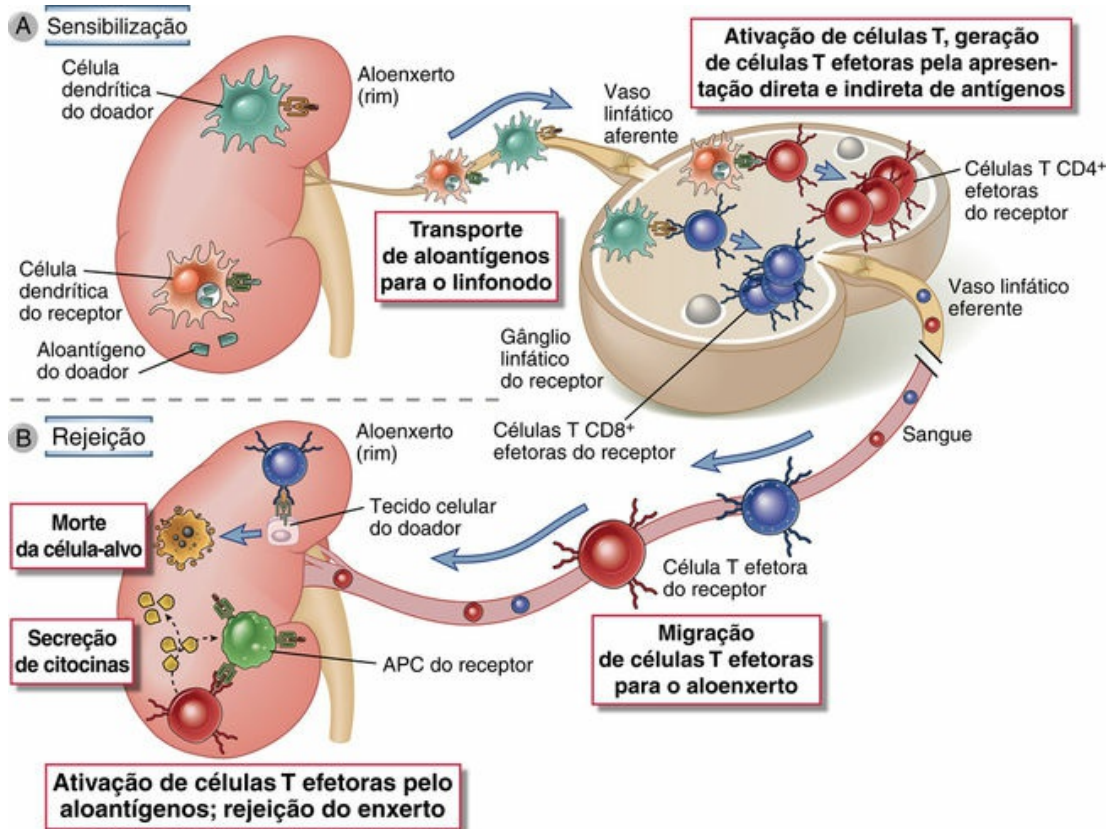
Quando os linfócitos reconhecem aloantígenos, eles são ativados para proliferar, diferenciar-se e executar funções efetoras que podem danificar os enxertos. As etapas para a ativação são semelhantes às que foram descritas para os linfócitos na reação a antígenos microbianos.

### A Ativação de Linfócitos T Alorreativos

**A resposta das células T a um enxerto de órgãos pode ser iniciada nos gânglios linfáticos que drenam o enxerto (Fig. 17-6).** A maioria dos órgãos contém APCs residentes, tais como as células dendríticas e, conseqüentemente, o transplante desses órgãos num receptor alogênico fornece APCs que expressam as moléculas de MHC do doador, bem como coestimuladores. Acredita-se que estas APCs dos doadores migram para os gânglios linfáticos regionais e apresentam, em sua superfície, moléculas MHC alogênicas não processadas às células T do receptor (a via de alorreconhecimento direto). As células dendríticas do hospedeiro também podem migrar para o enxerto, pegar os aloantígenos enxerto e transportá-los de volta para os gânglios linfáticos de drenagem, onde são apresentados (a via indireta). A ligação entre vasos linfáticos em aloenxertos e os gânglios linfáticos do receptor não é feita cirurgicamente, e é provavelmente estabelecida pelo crescimento de novos canais linfáticos em resposta a estímulos inflamatórios produzidos durante a colocação do enxerto. Os linfócitos imaturos que normalmente circulam através do linfonodo encontram estes aloantígenos e são induzidos a proliferar e diferenciar-se em células efetoras. Este processo às vezes é chamado de sensibilização para



aloantígenos. As células T efetoras migram de volta para o enxerto e vão mediar a rejeição.



**FIGURA 17-6** A ativação de células T alorreativas.

**A**, No caso do alorreconhecimento direto, as células dendríticas do doador migram para tecidos linfoides secundários no enxerto, onde apresentam as moléculas de MHC alogênicas para as células T do hospedeiro. No caso do alorreconhecimento indireto, as células dendríticas do receptor que entraram no aloenxerto transportam as proteínas do MHC do doador para os tecidos linfoides secundários e apresentam os peptídeos derivados destas proteínas do MHC alorreativas de células T do hospedeiro. Em ambos os casos, as células T tornam-se ativadas e diferenciam-se em células efectoras. **B**, as células T efectoras alorreativas migram para o enxerto, tornam-se reativado por aloantígenos e medeiam os danos.

Como discutido anteriormente, muitas das células T que respondem aos antígenos MHC alogênico em um novo enxerto são reações cruzadas de células T de memória previamente geradas aos antígenos do meio ambiente antes do transplante. Ao

contrário das células T imaturas, as células T de memória podem não precisar ver os antígenos apresentados por células dendríticas em gânglios linfáticos, para que sejam ativadas e podem migrar diretamente para enxertos onde podem ser ativadas pelas APCs ou por células de tecido exibindo o aloantígeno.

## **Papel da Coestimulação em Respostas das Células T para Aloantígenos**

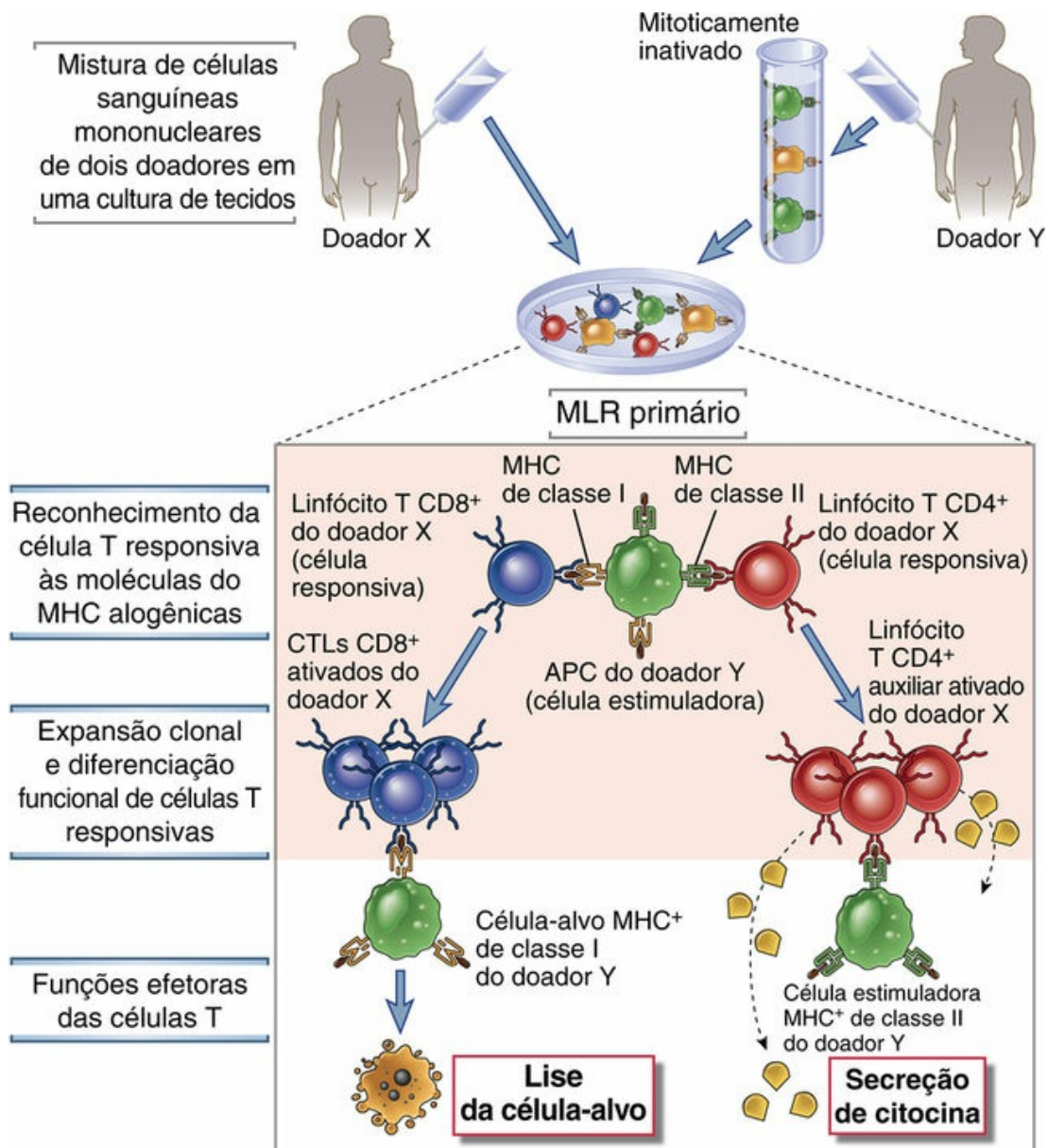
**Além do reconhecimento do aloantígeno, a coestimulação de células T principalmente por moléculas B7 nas APCs é importante para a ativação de células T alorreativas.** A rejeição dos aloenxertos e estimulação de células T alorreativas em uma reação mista de linfócitos (descritos mais adiante), podem ser inibidas por agentes que bloqueiam as moléculas B7. Os aloenxertos sobrevivem por períodos mais longos quando são transplantados em camundongos *knockouts* com ausência de B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) em comparação com o transplante em receptores normais. Como discutiremos mais tarde, o bloqueio da coestimulação de B7 é uma estratégia terapêutica para inibir a rejeição do enxerto em humanos também.

A exigência para a coestimulação conduz à interessante pergunta de por que esses coestimuladores são expressos pelas APCs do enxerto na ausência de infecção, o que foi discutido anteriormente como o estímulo fisiológico para a expressão de coestimuladores (Cap. 9). Uma possibilidade é que o processo de transplante de órgãos está associado ao dano isquêmico e morte de algumas células no enxerto, durante o tempo que o órgão é removido do doador e antes de ser cirurgicamente ligado ao sistema circulatório do paciente. Várias moléculas expressas ou liberadas por células danificadas isquemicamente (chamadas de padrões moleculares associados a danos, discutido no Capítulo 4) estimulam a resposta imunológica inata que leva ao aumento da expressão de coestimuladores nas APCs. Na verdade, a experiência clínica é que o tempo de isquemia de um órgão é um fator determinante da frequência e gravidade da rejeição e uma das razões para isso pode ser que a morte de células do enxerto durante a isquemia estimula as respostas imunológicas anti-enxerto subsequentes.

## **A Reação dos Linfócitos Mistos**

A resposta das células T alorreativas às moléculas do MHC estranhas pode ser analisada numa reação *in vitro* denominada **reação mista de linfócitos** (MLR). A MLR foi utilizada clinicamente no passado como um teste preditivo da rejeição do enxerto mediada por célula T e como um modelo *in vitro* da rejeição do enxerto. Os estudos da MLR foram um dos primeiros a estabelecer o papel das moléculas do MHC de classe I e classe II na ativação de populações distintas de células T (CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>, respectivamente).

A MLR é induzida através da cultura de leucócitos mononucleares (que incluem as células T, células B, células NK, células de fagócitos mononucleares e células dendríticas) de um indivíduo com leucócitos mononucleares derivados de um outro indivíduo. Na prática clínica, estas células foram tipicamente isoladas a partir de sangue periférico; em experiências com camundongos ou ratos, os leucócitos mononucleares são geralmente purificados a partir do baço ou da linfa. Se os dois indivíduos diferem em alelos de MHC, uma grande proporção de linfócitos nessas culturas irá proliferar durante um período de 4 a 7 dias. Esta resposta proliferativa é chamada de MLR alogênica (Fig. 17-7). Se as células de dois indivíduos com MHC diferentes são misturadas, cada um deles pode reagir contra o outro e ambos irão proliferar, resultando assim em uma de duas vias da MLR. Para simplificar a análise, uma das duas populações de leucócitos pode ser incapaz de proliferar antes do cultivo, ou por irradiação  $\gamma$  ou pelo tratamento com o fármaco antimitótico mitomicina C. Nessa MLR de mão única, as células tratadas funcionam exclusivamente como estimuladoras, e as células não tratadas, ainda capazes de proliferar, funcionam como as responsivas. Entre as células T que respondem a uma MLR, as células  $CD4^+$  são específicas para as moléculas MHC classe II alogênicas e as células  $CD8^+$  para as moléculas de classe I.



**FIGURA 17-7** A reação linfocitária mista (MLR).

Em uma MLR de uma via, células estimuladoras (a partir de doador Y) ativam e causam a expansão de dois tipos de células T responsivas (do doador X). As células T CD4<sup>+</sup> do doador X reagem a moléculas de classe II de doadores Y e os linfócitos T CD8<sup>+</sup> de doadores X reagem às moléculas do MHC classe I do doador Y. As células T CD4<sup>+</sup> diferenciam-se em células T auxiliares secretoras de citocinas e as células T CD8<sup>+</sup> diferenciam-se em CTL. APC, célula apresentadora de antígeno.

Por causa da alta frequência de células T que podem reconhecer diretamente o MHC alogênicos, as respostas aos aloantígenos são as únicas respostas primárias

de células T (isto é, respostas a um antígeno por um indivíduo que não o encontrou previamente) que pode ser prontamente detectada *in vitro*. As respostas de células T a um antígeno de proteína não MHC *in vitro* podem ser detectadas apenas se as células T forem de um indivíduo que tenha sido previamente imunizado com esse antígeno (p. ex., por infecção ou pela vacinação), porque há muito poucas células T imaturas específicas para o antígeno para montar uma resposta detectável *in vitro*.

## Funções Efetoras das Células T Alorreativas

**As células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  alorreativas, que são ativadas por aloantígenos do enxerto causam rejeição por mecanismos distintos (Fig. 17-6).** As células T

$CD4^+$  auxiliares diferenciam-se em células efetoras produtoras de citocinas que danificam os enxertos através da inflamação mediada por citocinas, semelhantes a um tipo de reação de hipersensibilidade tardia (DTH) (Caps. 10 e 19). As células T  $CD8^+$  alorreativas diferenciam-se em linfócitos T citotóxicos (CTLs), que matam as células do enxerto que expressam as moléculas do MHC de classe I de alogênico. Os CTLs também secretam citocinas inflamatórias, que podem contribuir para danos no enxerto.

**Somente os CTLs que são gerados pelo alorreconhecimento direto podem matar as células do enxerto, enquanto ambos CTLs e as células T auxiliares geradas por qualquer aloantígeno através do reconhecimento direto ou indireto podem causar danos mediados por citocinas aos enxertos.** Os CTLs  $CD8^+$  gerados pelo alorreconhecimento direto de moléculas do MHC de doadores em APCs dos doadores podem reconhecer as mesmas moléculas do MHC sobre as células do parênquima do enxerto e matar estas células. Em contrapartida, todos os CTL  $CD8^+$  que são gerados pela via indireta são MHC próprios restritos e eles não serão capazes de matar as células estranhas do enxerto porque estas células não expressam autoalelos de MHC exibindo peptídeos alogênicos. Portanto, quando as células T alorreativas são estimuladas pela via indireta, o principal mecanismo de rejeição não é a morte mediada por CTLs de células do enxerto, mas a inflamação causada pelas citocinas produzidas pelas células T efetoras. Presumivelmente, estas células efetoras infiltram-se no enxerto e reconhecem os aloantígenos do enxerto que estão sendo apresentados pelas APCs do hospedeiro que também entraram no enxerto.

## Ativação de Células B Alorreativas e Produção e Funções de Aloanticorpos

**Os anticorpos contra os antígenos do enxerto também contribuem para a rejeição.** A maioria dos aloanticorpos de alta afinidade é produzida por células T



auxiliares dependentes da ativação de células B alorreativas, muito similar a anticorpos contra outros antígenos de proteínas (Cap. 12). Os antígenos mais frequentemente reconhecidos por aloanticorpos são as moléculas de HLA do doador, incluindo tanto as proteínas do MHC de classe I quanto de classe II. A provável sequência de eventos que levam à geração destas células produtoras de aloanticorpos é que linfócitos B virgens reconhecem as moléculas do MHC estranhas, internalizam e processam estas proteínas e apresentam os peptídeos derivados deles às células T auxiliares que foram previamente ativadas pelos mesmos peptídeos apresentados por células dendríticas. Esta é essencialmente a mesma sequência de eventos para qualquer resposta de células T auxiliares dependentes de anticorpos (Cap. 12). Assim, a ativação de células B alorreativas é um exemplo da apresentação indireta de aloantígenos.

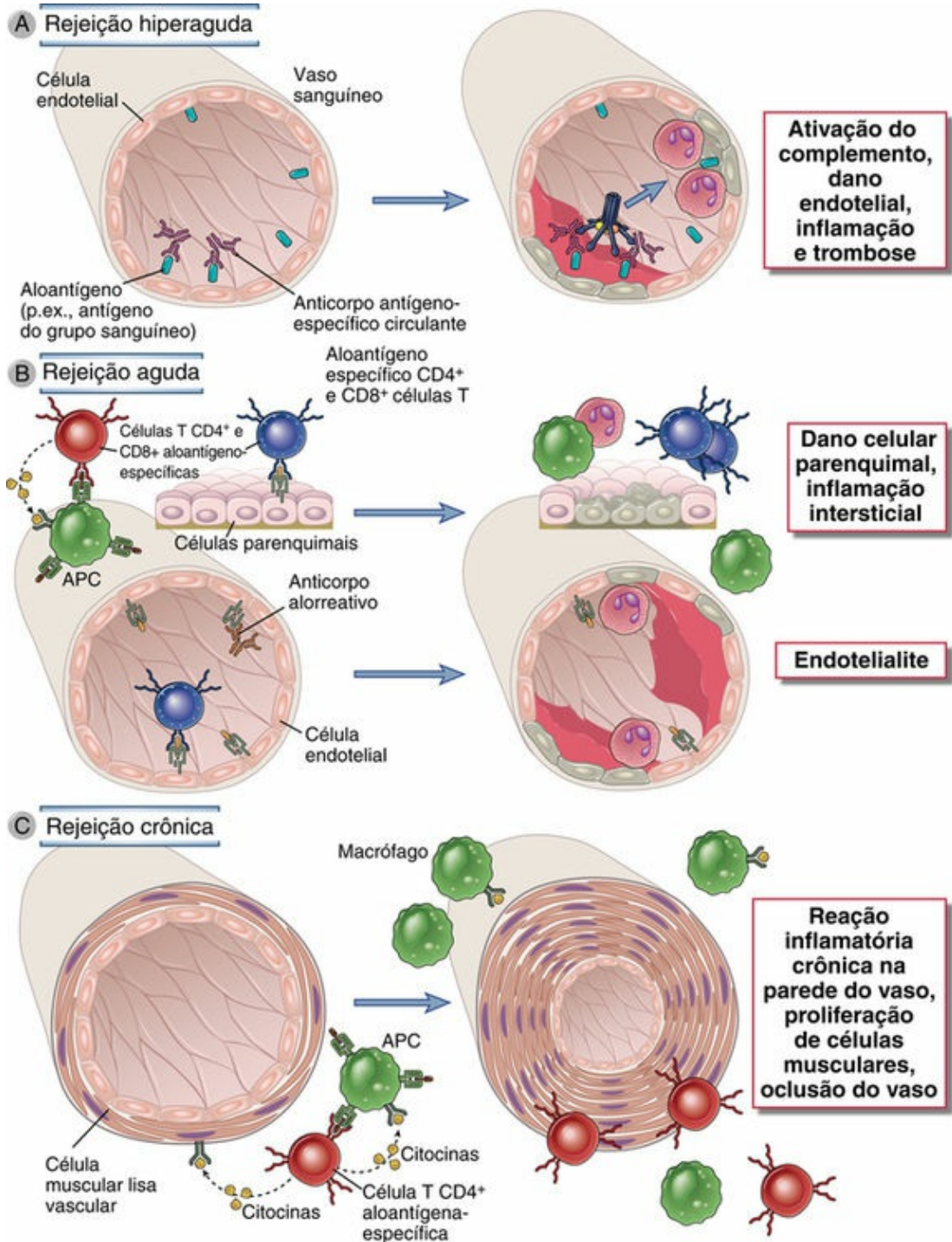
Os anticorpos alorreativos produzidos em receptores de enxertos envolvem os mesmos mecanismos efetores que utilizam anticorpos para combater infecções, incluindo a ativação do complemento e direcionamento e ativação de neutrófilos, macrófagos, e das células NK através da ligação ao receptor Fc. Devido aos antígenos HLA serem expressos nas células endoteliais, a maior parte do dano mediado pelo aloanticorpo visa a vasculatura do enxerto, tal como será discutido na seção seguinte.

## **Padrões e mecanismos de rejeição de enxertos**

Até aqui, descrevemos a base molecular do reconhecimento do aloantígenos e as células envolvidas no reconhecimento e respostas ao aloenxerto. Passamos agora para a consideração dos mecanismos efetores responsáveis para a rejeição imunológica dos enxertos. Em diferentes modelos experimentais e em transplantes clínicos, as células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> alorreativas e os aloanticorpos, todos têm se mostrado capazes de mediar a rejeição do aloenxerto. Estas diferentes efetoras imunológicas causam a rejeição do enxerto por diferentes mecanismos, e todos os três efetores podem contribuir para a rejeição simultaneamente.

Por razões históricas, a rejeição do enxerto é classificada com base em características histopatológicas e no tempo de curso da rejeição após o transplante, mais do que baseado nos mecanismos efetores imunológicos. Com base na experiência de transplantes renais, os padrões histopatológicos são chamados de hiperagudo, agudo e crônico (Fig. 17-8). Estes padrões estão associados a diferentes mecanismos efetores imunológicos dominantes. Vamos descrever estes padrões de rejeição com ênfase nos mecanismos imunológicos subjacentes.





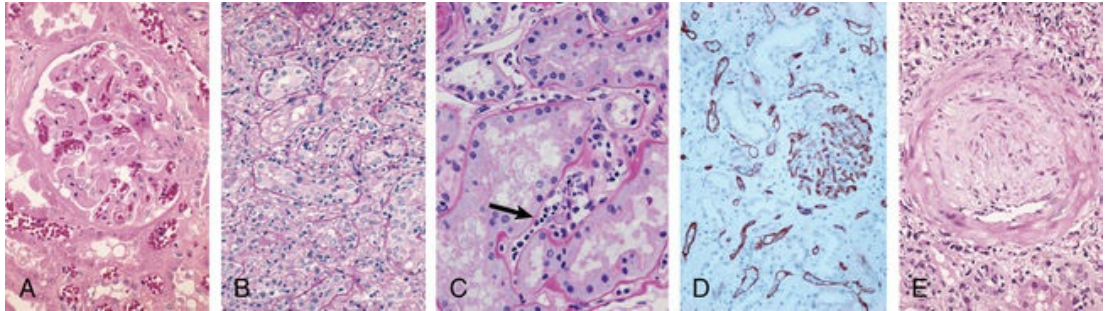
**FIGURA 17-8** Mecanismos imunológicos de rejeição do enxerto.

**A**, na rejeição hiperaguda, os anticorpos pré-formados reativo com o endotélio vascular ativam o complemento e desencadeiam a trombose intravascular rápida e necrose da parede do vaso. **B**, na rejeição aguda, os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> reativos com os aloantígenos em células endoteliais e nas células do parênquima medeiam danos a estes tipos de

células. Os anticorpos alorreativos formados após o enxerto podem também contribuir para a lesão parenquimatosa e vascular. **C**, na rejeição crônica do enxerto com a arteriosclerose, a lesão à parede do vaso conduz a proliferação celular do músculo liso e oclusão luminal. Esta lesão pode ser provocada por uma reação inflamatória crônica a aloantígenos na parede do vaso.

## Rejeição Hiperaguda

***A rejeição hiperaguda é caracterizada pela oclusão trombótica da vasculatura do enxerto que começa dentro de minutos a horas após vasos sanguíneos do hospedeiro serem anastomosados aos vasos do enxerto e é mediada por anticorpos preexistentes na circulação que se ligam aos antígenos endoteliais do doador (Fig. 17-8, A).*** A ligação do anticorpo ao endotélio ativa o complemento e os produtos do anticorpo e do complemento juntos induzem uma série de mudanças no enxerto endotélio que promovem a trombose intravascular. A ativação do complemento conduz à lesão endotelial celular e exposição das proteínas membrana basal subendotelial que ativam as plaquetas. As células endoteliais são estimuladas a secretar formas de alto peso molecular de fator de von Willebrand, que promovem a adesão e a agregação plaquetária. Tanto as células endoteliais quanto as plaquetas sofrem vesiculação da membrana, levando ao espalhamento de partículas lipídicas que promovem a coagulação. As células endoteliais perdem os heparan sulfato proteoglicanos da superfície celular que normalmente interagem com a antitrombina III para inibir a coagulação. Estes processos contribuem para a trombose vascular e oclusão (Fig. 17-9, A) e o órgão enxertado sofre necrose isquêmica irreversível.



**FIGURA 17-9** Histopatologia de diferentes formas de rejeição do enxerto.

**A**, a rejeição hiperaguda de um enxerto renal com dano endotelial, trombo de plaquetas e de trombina e infiltração inicial de neutrófilos de um glomérulo. **B**, rejeição aguda celular de um rim com células inflamatórias no tecido conjuntivo em torno dos túbulos e entre as células epiteliais dos túbulos. **C**, rejeição aguda mediada por anticorpo de um aloenxerto do rim com células inflamatórias nos capilares peritubulares (seta). **D**, a deposição nos vasos do complemento C4d na rejeição aguda mediada por anticorpos, revelado por imunohistoquímica, como coloração marrom. **E**, a rejeição crônica em um aloenxerto renal com arteriosclerose. O lúmen vascular é substituído por uma acumulação de células do músculo liso e do tecido conjuntivo na íntima do vaso. (**A**, **B** e **E**, Cortesia de Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital. **C** e **D**, Cortesia de Dr. Zoltan Laszik, Department of Pathology University of California, San Francisco.)

Nos primeiros dias após o transplante, a rejeição hiperaguda foi muitas vezes mediada por aloanticorpos de IgM preexistentes, que estão presentes em alta titulação antes do transplante. Tais anticorpos naturais são acreditados para surgirem em resposta aos carboidratos dos antígenos expressos por bactérias que normalmente colonizam o intestino e acontece a reação cruzada com vários aloantígenos. Os exemplos mais conhecidos desses aloanticorpos são os dirigidos contra os antígenos do grupo sanguíneo ABO expressos em células vermelhas do sangue, descritos posteriormente neste capítulo. Os antígenos ABO também são expressos em células endoteliais vasculares. Atualmente a rejeição hiperaguda por anticorpos anti-ABO é extremamente rara porque todos os pares, doador e receptor, são selecionados para que eles tenham tipos ABO compatíveis. Como discutiremos mais adiante neste capítulo, a rejeição hiperaguda causada por anticorpos naturais é uma grande barreira para o xenotransplante e limita o uso de órgãos de animais para transplantes humanos.

Atualmente, a rejeição hiperaguda de aloenxertos, quando ocorre, é normalmente mediada por anticorpos de IgG dirigidos contra aloantígenos de proteínas, tais como as moléculas de MHC do doador ou contra menos aloantígenos bem definidos expressos sobre as células endoteliais vasculares. Tais anticorpos geralmente surgem como um resultado de uma exposição anterior a aloantígenos através de transfusão sanguínea, transplante anterior ou gravidezes múltiplas. Se o nível desses anticorpos alorreativos é baixo, a rejeição hiperaguda pode se desenvolver lentamente durante vários dias, mas o início ocorrerá mais cedo que o normal para a rejeição aguda. Como discutiremos mais adiante neste capítulo, os pacientes que necessitam de enxertos são rotineiramente monitorados antes de enxerto para verificar a presença de anticorpos que se ligam a células de um possível doador de órgãos a fim de evitar a rejeição hiperaguda.

Em casos raros em que os enxertos têm que ser feitos entre doadores e receptores ABO incompatíveis, a sobrevida do enxerto pode ser melhorada através de uma rigorosa depleção de anticorpos de células B. Às vezes, se o enxerto não for rapidamente rejeitado, ele sobrevive mesmo na presença de anticorpos anti-enxerto. Um possível mecanismo de resistência a esta rejeição hiperaguda é um aumento na expressão de proteínas reguladoras do complemento em células endoteliais do enxerto, uma adaptação benéfica do tecido que tem sido chamada de acomodação.

## Rejeição Aguda

***A rejeição aguda é um processo de lesão do parênquima e dos vasos sanguíneos do enxerto mediada por células T alorreativas e anticorpos.*** Antes dos fármacos imunossupressores, a rejeição aguda muitas vezes tinha início em torno de alguns dias a semanas após o transplante. O tempo para o início da rejeição aguda reflete o tempo necessário para gerar células T efetoras alorreativas e anticorpos em resposta ao enxerto. Na prática clínica atual, os episódios de rejeição aguda podem ocorrer, às vezes muito mais tarde, mesmo anos depois do transplante, se a imunossupressão for reduzida por qualquer motivo. Embora os padrões de rejeição aguda sejam divididos em celular (mediado por células T) e humoral (mediado por anticorpos), ambos normalmente coexistem em um órgão que sofre a rejeição aguda.

### A Rejeição Aguda Celular

***Os principais mecanismos de rejeição celular aguda são a inflamação causada por citocinas produzidas por células T auxiliares e a morte mediada pelos CTLs das células do parênquima do enxerto e células endoteliais*** (Fig. 17-8, B). Em exames histológicos de aloenxertos renais, onde este tipo de rejeição é melhor caracterizado, há infiltrados de linfócitos e macrófagos (Fig. 17-9, B). Os infiltrados podem envolver os túbulos (chamado de tubulite), com necrose tubular



associada e os vasos sanguíneos (chamado endotelialite), com necrose das paredes vasculares dos capilares e pequenas artérias. Os infiltrados celulares presentes nos enxertos submetidos à rejeição celular aguda incluem tanto células T auxiliares CD4<sup>+</sup> quanto os CTLs CD8<sup>+</sup> específicos para aloantígenos do enxerto e ambos os tipos de células T podem contribuir para a lesão das células do parênquima e endoteliais. As células T auxiliares incluem IFN- $\gamma$  e as células T<sub>H</sub>1 secretoras de TNF e de células T<sub>H</sub>17 secretoras de IL-17 e ambos os tipos contribuem para a ativação macrófagos e endotélio e para o dano inflamatório ao órgão. Experimentalmente, a transferência adotiva de células T CD4<sup>+</sup> auxiliares alorreativas ou CTLs CD8<sup>+</sup> podem causar a rejeição aguda do enxerto celular em camundongos receptores.

### Rejeição Aguda Mediada por Anticorpos

***Os aloanticorpos causam rejeição aguda por ligação a aloantígenos, principalmente as moléculas HLA, em células endoteliais vasculares, causando lesão endotelial e trombose intravascular que resultam na destruição do enxerto*** (Fig. 17-8, B). A ligação dos aloanticorpos na superfície da célula endotelial dispara a ativação local do complemento, o que leva à lise das células, ao recrutamento e à ativação de neutrófilos, e à formação de trombos. Os aloanticorpos também podem se acoplar a receptores Fc em neutrófilos e células NK, que, em seguida, destroem as células endoteliais. Além disso, a ligação do aloanticorpo na superfície endotelial pode alterar diretamente a função endotelial por induzir sinais intracelulares que aumentam a expressão de moléculas de superfície pró-inflamatórias e pró-coagulantes.

As características histológicas da rejeição aguda mediada por anticorpos de aloenxertos renais são a inflamação aguda de capilares glomerulares e capilares peritubulares com trombose focal (Fig. 17-9, C). A identificação imuno-histoquímica do fragmento C4d do complemento de em capilares de aloenxertos renais é usada clinicamente como um indicador de ativação da via clássica do complemento e da rejeição humoral (Fig. 17-9, D). Em uma fração significativa dos casos de rejeição mediada por anticorpos, não há deposição de C4d detectável, sugerindo que o dano seja causado pelos efeitos independentes do complemento na ligação dos aloanticorpos com as células endoteliais, como mencionado anteriormente.

### A Rejeição Crônica e a Vasculopatia do Enxerto

***À medida que a terapia para a rejeição aguda melhorou, a maior causa da falha de aloenxertos de órgãos vascularizados tornou-se a rejeição crônica.*** Desde 1990, a sobrevivência em 1 ano de aloenxertos renais foi melhor do que 90%, mas a sobrevivência de 10 anos manteve-se em cerca de 60%, apesar dos avanços na terapia imunossupressora. A rejeição crônica desenvolve-se insidiosamente

durante meses ou anos e pode ou não ser precedida por episódios clinicamente reconhecidos de rejeição aguda. A rejeição crônica de diferentes órgãos transplantados está associada a alterações patológicas distintas. No rim e no coração, a rejeição crônica resulta em oclusão vascular e fibrose intersticial. Os transplantes de pulmão submetidos a rejeição crônica demonstram espessamentos nas pequenas vias aéreas (chamados de bronquiolite obliterante) e transplantes de fígado demonstram ductos biliares fibróticos e não funcionais.

***A lesão dominante de rejeição crônica em enxertos vascularizados é a oclusão arterial como um resultado da proliferação de células de músculo liso da íntima e os enxertos eventualmente falham principalmente por causa do dano isquêmico resultante*** (Fig. 17-8, C). As alterações arteriais são chamadas de vasculopatias do enxerto ou aterosclerose acelerada do enxerto (Fig. 17-9, E). A vasculopatia do enxerto é frequentemente vista em falhas cardíacas e aloenxertos renais podem se desenvolver em qualquer transplante de órgão vascularizado no prazo de 6 meses a um ano depois do transplante. Os mecanismos possíveis subjacentes às lesões vasculares oclusivas da rejeição crônica são a ativação de células T alorreativas e a secreção de citocinas que estimulam a proliferação de células musculares lisas vasculares. Conforme as lesões arteriais de arteriosclerose do enxerto progridem, o fluxo de sangue para o parênquima do enxerto é comprometido e o parênquima é lentamente substituído por tecido fibroso não funcional. A fibrose intersticial vista na rejeição crônica pode também ser uma resposta de reparação ao dano celular do parênquima causado por repetidos ataques de rejeição aguda mediada por anticorpos ou rejeição celular, isquemia perioperatória, efeitos tóxicos de fármacos imunossupressores e ainda infecções virais crônicas. A rejeição crônica leva à insuficiência cardíaca congestiva ou arritmias em pacientes de transplante cardíaco ou perda da função glomerular e tubular e insuficiência renal em pacientes transplantados renais.

## **Prevenção e tratamento de rejeição de aloenxertos**

Se o receptor de um aloenxerto tem um sistema imunológico totalmente funcional, o transplante quase invariavelmente resulta em alguma forma de rejeição. As estratégias utilizadas na prática clínica e em modelos experimentais para evitar ou retardar a rejeição são a imunossupressão geral e a redução da força da reação alogênica específica. Uma meta importante da pesquisa em transplantes é encontrar maneiras de induzir a tolerância específica ao doador, que permitiria que os enxertos sobrevivessem sem imunossupressão inespecífica.

## **Métodos para Reduzir a Imunogenicidade de Aloenxertos**

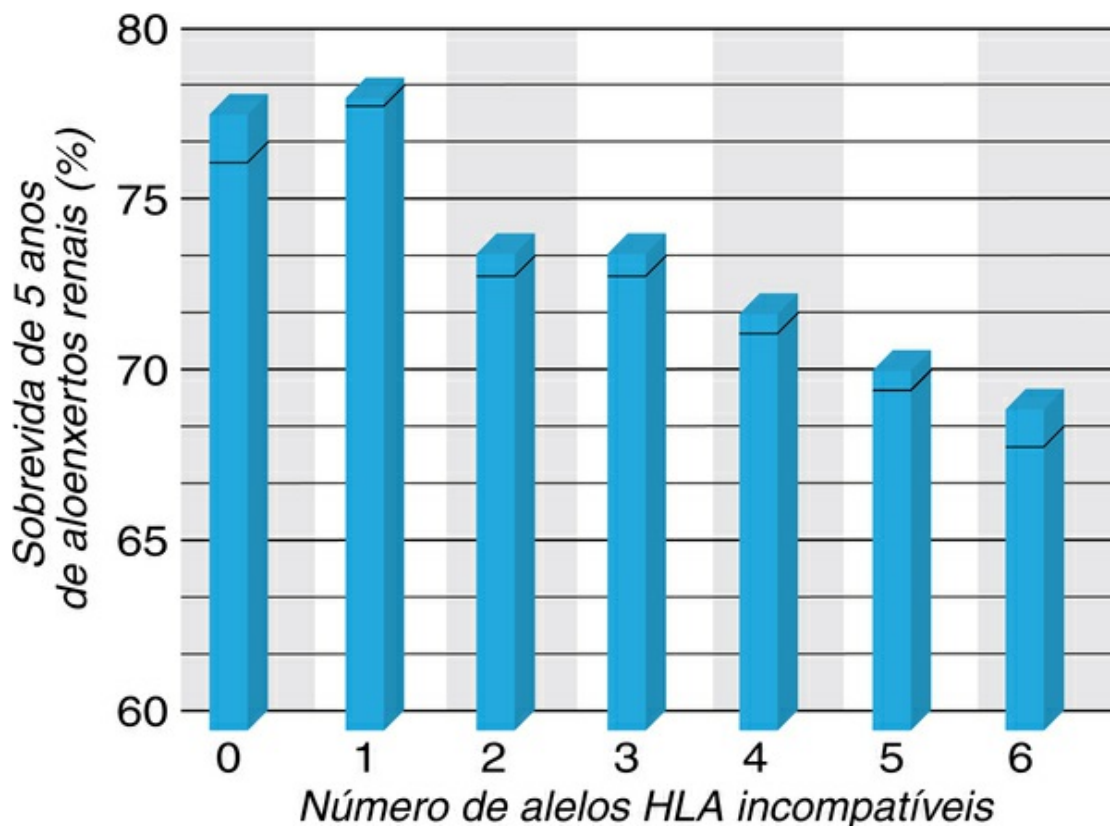


**No transplante humano, a principal estratégia para reduzir a imunogenicidade do enxerto tem sido a de minimizar as diferenças alogênicas entre o doador e o receptor.** Vários testes clínicos de laboratório são realizados rotineiramente para reduzir o risco para a rejeição imunológica de enxertos. Estes incluem a tipagem sanguínea ABO; a determinação de alelos de HLA expressos em células do doador e do receptor, chamado tipagem de tecido; a detecção dos anticorpos pré-formados no receptor que reconhecem o HLA e outros antígenos representativos da população do doador; e a detecção de anticorpos pré-formados do receptor que se ligam aos antígenos dos leucócitos de um doador identificado, chamado de prova cruzada. Nem todos estes testes são feitos em todos os tipos de transplantes. Vamos agora resumir cada um destes testes e discutir o seu significado.

**Para evitar a rejeição hiperaguda, os antígenos do grupo sanguíneo ABO do doador do enxerto são selecionados para serem compatíveis com o receptor.** Esse teste é utilizado uniformemente nos transplantes renais e cardíacos, porque os rins e os enxertos cardíacos normalmente não sobrevivem se houver incompatibilidades ABO entre o doador e o receptor. Os anticorpos naturais IgM específicos para os antígenos do grupo sanguíneo ABO alogênico vão levar a uma rejeição hiperaguda. A tipagem sanguínea é realizada através da mistura de hemácias do sangue de um paciente com os soros padronizados contendo os anticorpos anti-A e anti-B. Se o paciente expressa o antígeno ou o grupo sanguíneo, o soro específico para o antígeno vai aglutinar as células vermelhas do sangue. A biologia do sistema do grupo sanguíneo ABO é discutida mais adiante neste capítulo, no contexto da transfusão sanguínea.

**No transplante renal, quanto maior for o número de alelos de MHC que são compatíveis entre o doador e o receptor, melhor a sobrevida do enxerto (Fig. 17-10).** A compatibilidade HLA teve uma influência mais profunda na sobrevida do enxerto antes dos fármacos imunossupressores modernos serem rotineiramente utilizados, mas os dados atuais ainda mostram uma sobrevida significativamente maior dos enxertos quando doador e receptor têm menos incompatibilidade de alelos HLA. A experiência clínica do passado com métodos de tipagem mais velhos mostrou que, de todos os loci das classes I e da classe II do MHC, a compatibilidade com HLA-A, HLA-B, e HLADR é o mais importante para prever a sobrevivência dos aloenxertos renais. (O HLA-C não é tão polimórfico como HLA-A ou HLA-B, e HLA-DR e HLA-DQ estão em desequilíbrio de ligação, assim a compatibilidade no locus DR muitas vezes também é compatível no locus DQ.) Apesar dos protocolos atuais de tipagem em muitos centros incluírem os HLA-C, os loci DQ e DP, a maior parte dos dados disponíveis em prever os resultados do enxerto se referem apenas às incompatibilidades HLA-A, HLA-B e HLA-DR. Devido aos dois alelos expressos de modo codominante serem herdados por cada um desses genes de HLA, que é possível haver de zero a seis incompatibilidades HLA desses três loci entre o doador e o receptor. Nenhuma incompatibilidade de antígeno pode prever a melhor sobrevida

dos enxertos de doadores vivos e enxertos com incompatibilidade de antígeno são ligeiramente piores. A sobrevida de enxertos com de duas a seis incompatibilidades HLA é significativamente pior do que a de enxertos com nenhuma ou uma incompatibilidade de antígenos. A incompatibilidade de dois ou mais genes de HLA tem um impacto ainda maior sobre os aloenxertos renais de doadores não vivos (não relacionados). Portanto, são feitas tentativas para reduzir o número de diferenças em alelos de HLA expressos em células do doador e do receptor, o que terá um efeito modesto na redução da probabilidade de rejeição.



**FIGURA 17-10** Influência da compatibilidade do MHC na sobrevida do enxerto.

Compatibilidade de alelos do MHC entre o doador e o receptor melhora significativamente a sobrevivência do enxerto renal. Os dados mostrados são para enxertos de doadores falecidos (cadáveres). A compatibilidade de HLA tem menos impacto na sobrevida dos aloenxertos renais de doadores vivos e alguns alelos do MHC são mais importantes do que outros na determinação do resultado. (Dados de *SRTR relatório anual de 2012*. Disponível em <http://www.srtr.org/>. Acessado em julho de 2013)

A compatibilidade de HLA nos transplantes renais é possível porque os rins de

doadores podem ser armazenados por até 72 horas antes de serem transplantados e os pacientes que necessitam de um aloenxerto renal podem ser mantidos em diálise até que um órgão bem compatível esteja disponível. No caso do transplante de coração e fígado, a preservação de órgãos é mais difícil e os potenciais receptores muitas vezes estão em estado crítico. Por estas razões, a tipagem do HLA não é considerada no pareamento de possíveis doadores e receptores e a escolha do doador e do receptor baseia-se na compatibilidade do grupo sanguíneo ABO, em outras medidas de compatibilidade imunológica descritas mais adiante e na compatibilidade anatômica. A escassez de doadores de coração, a emergente necessidade de transplante, e o sucesso da imunossupressão superam o possível benefício da redução da incompatibilidade de HLA entre doador e receptor. Como será discutido mais adiante, em transplantes de medula óssea, a compatibilidade de HLA é essencial para reduzir o risco de doença do enxerto versus hospedeiro.

A maioria das determinações haplotípicas HLA agora é realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR), substituindo métodos sorológicos mais velhos. Os genes do MHC podem ser amplificados pelo método do PCR com utilização de iniciadores que se ligam às sequências nas posições 5' e 3' não polimórficas dos éxons que codificam as regiões polimórficas das moléculas do MHC de classe I e classe II. O segmento de DNA amplificado pode então ser sequenciado. Assim, a verdadeira sequência de nucleotídeos e conseqüentemente a sequência de aminoácidos prevista, pode ser determinada diretamente para os alelos de MHC de qualquer célula, fornecendo uma tipagem molecular precisa do tecido. Com base nesses esforços de sequenciamento do DNA, a nomenclatura dos alelos HLA mudou para refletir a identificação de diversos alelos não distinguidos pelos métodos sorológicos anteriores. Cada alelo definido pela sequência tem pelo menos um número de quatro dígitos, mas alguns alelos requerem seis ou oito dígitos para uma definição precisa. Os primeiros dois dígitos geralmente correspondem ao alotipo mais velho definido sorologicamente e o terceiro e quarto dígitos indicam os subtipos. Os alelos com diferenças nos quatro primeiros dígitos codificam proteínas com diferentes aminoácidos. Por exemplo, HLA-DRB1\*1301 é o alelo 01 definido pela sequência da família serologicamente definida HLA-DR13 de genes que codificam a proteína  $\beta$ 1 HLA-DR.

***Os pacientes com necessidade de aloenxertos são também testados para a presença de anticorpos pré-formados contra as moléculas de MHC do doador ou outros antígenos da superfície celular.*** Dois tipos de testes são feitos para detectar esses anticorpos. No teste do painel de anticorpos reativos, os pacientes à espera do transplante de órgãos são testados quanto à presença de anticorpos reativo pré-formados contra moléculas HLA alogênicas prevalentes na população. Estes anticorpos, que podem ser produzidos como um resultado de gestações, transfusões ou transplantes anteriores, pode identificar o risco de rejeição vascular hiperaguda ou aguda. Pequenas quantidades de soro do doente são misturadas

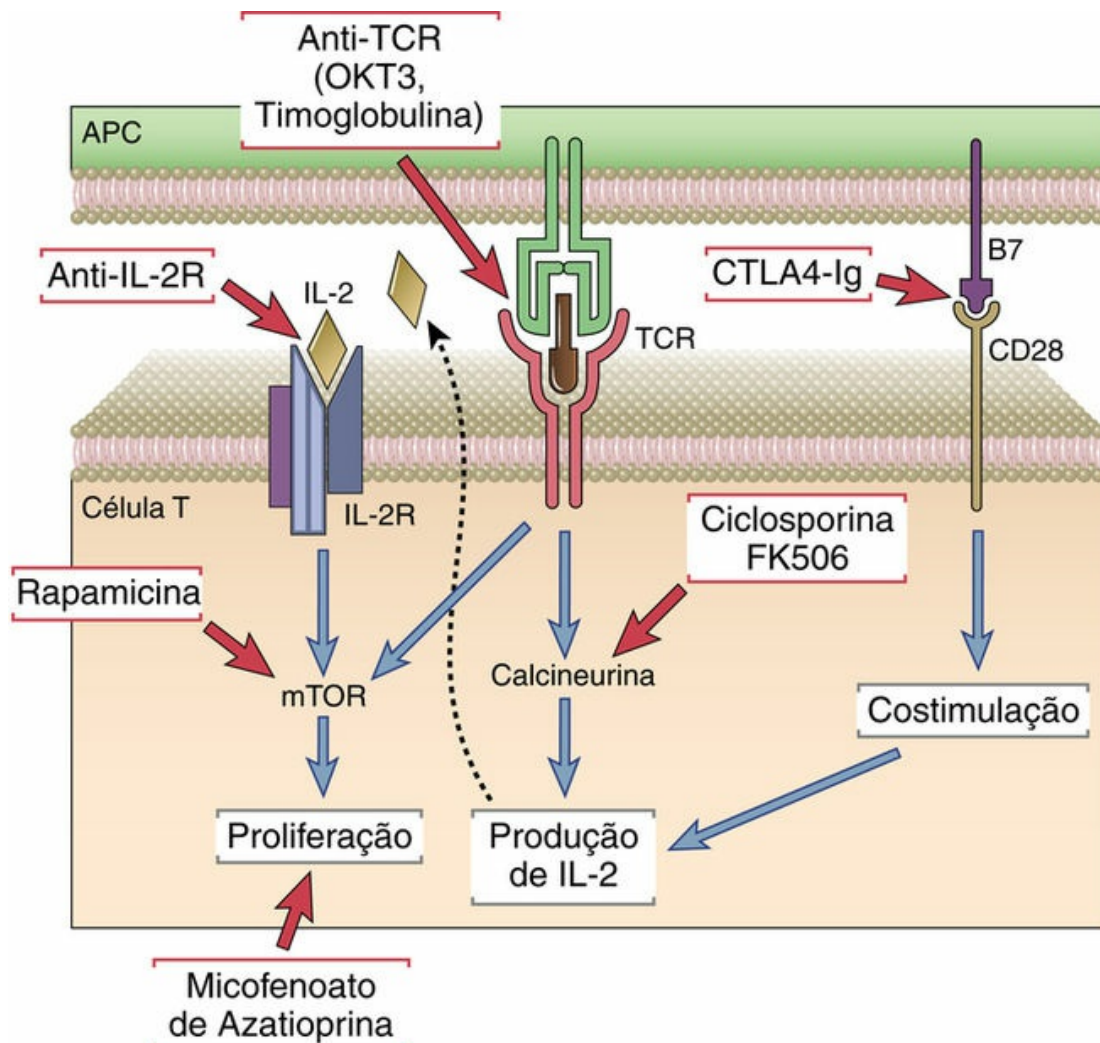
com vários grânulos marcados com fluorescência e revestidos com moléculas de MHC definidas, representativas dos alelos de MHC que podem estar presentes na população de doadores de órgãos. Cada alelo de MHC está ligada a um grânulo com um marcador fluorescente colorido diferente. A ligação dos anticorpos do paciente com os grânulos é determinada por citometria de fluxo. Os resultados são apresentados como percentagem de anticorpo reativo (PRA), que é a percentagem do conjunto de alelos do MHC com qual o soro do paciente reage. A PRA é determinada em várias ocasiões enquanto um paciente espera pelo albenxerto de um órgão. Isto é porque a PRA pode variar, conforme cada painel é escolhido aleatoriamente e a titulação dos anticorpos do soro do doente pode mudar ao longo do tempo.

Se um potencial doador é identificado, o teste de compatibilidade cruzada irá determinar se o paciente tem anticorpos que reagem especificamente com as células daquele doador. O teste é realizado através da mistura de soro do receptor com os linfócitos do sangue do doador. Ensaios de citotoxicidade mediada pelo complemento ou ensaios de citometria de fluxo podem então ser usados para determinar se os anticorpos no soro do receptor se ligaram às células do doador. Por exemplo, o complemento é adicionado à mistura de células e de soro e se os anticorpos pré-formados, geralmente contra moléculas de MHC do doador, estão presentes no soro do receptor, as células do doador serão lisadas. Esta seria uma prova cruzada positiva, que indica que o doador não é adequado para esse receptor.

## A Imunossupressão para Prevenir ou Tratar a Rejeição de Enxertos

***Os fármacos imunossupressores que inibem ou matam os linfócitos T são os principais agentes utilizados para tratar ou prevenir a rejeição do enxerto.***

Vários métodos de imunossupressão são geralmente utilizados (Fig. 17-11).



**FIGURA 17-11** Mecanismos de ação de fármacos imunossupressores.

Cada categoria importante de fármacos usados para prevenir ou para tratar a rejeição do enxerto é mostrada juntamente com os alvos moleculares dos fármacos.

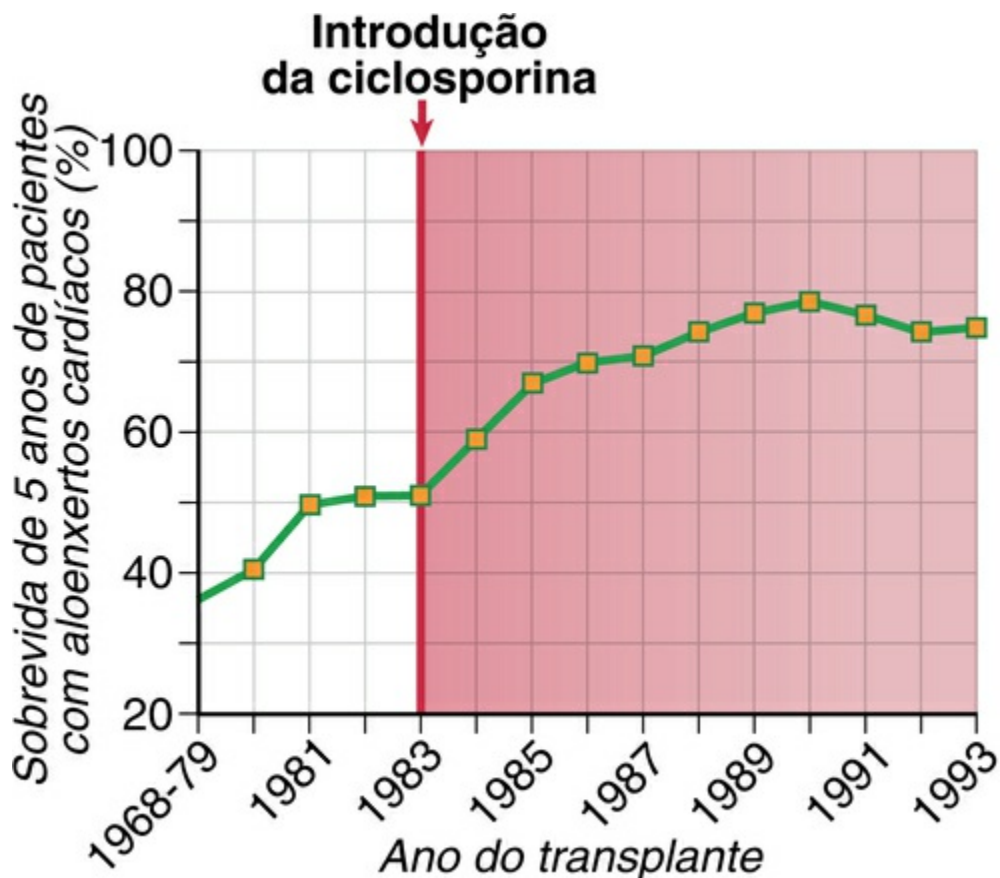
### Inibidores das Vias de Sinalização das Células T

**Os inibidores de calcineurina, a ciclosporina e o FK506 (tacrolimus), inibem a transcrição de determinados genes em células T, mais notavelmente genes que codificam citocinas tais como a IL-2.** A ciclosporina é um peptídeo fúngico que se liga com alta afinidade a uma proteína celular ubíqua chamada de ciclofilina. O complexo de ciclosporina e ciclofilina se liga a e inibe a atividade enzimática da calcineurina serina/treonina fosfatase ativada por cálcio/calmodulina (Cap. 7). Uma vez que a calcineurina é necessária para ativar o fator de transcrição NFAT (fator nuclear de células T ativadas), a ciclosporina inibe a ativação do NFAT e a transcrição da IL-2 e de outros genes de citocinas. O resultado líquido é que a ciclosporina

bloqueia a proliferação e diferenciação de células T dependentes de IL-2. O FK506 é um macrolídeo produzido por uma bactéria que funciona como a ciclosporina. O FK506 e a sua proteína de ligação (chamada de FKBP) compartilham com o complexo ciclosporina-ciclofilina a capacidade de se ligar a calcineurina e inibir a sua atividade.

A introdução de ciclosporina na prática clínica inaugurou a era moderna dos transplantes. Antes da utilização da ciclosporina, a maioria dos corações e fígados transplantados foi rejeitada. Agora, como um resultado do uso da ciclosporina, FK506 e outros fármacos introduzidos mais recentemente, a maioria destes aloenxertos sobrevivem durante mais de 5 anos (Fig. 17-12). No entanto, estes fármacos têm limitações. Por exemplo, em doses necessárias para a imunossupressão ótima, a ciclosporina causa danos renais e alguns episódios de rejeição são refratários para o tratamento de ciclosporina. O FK506 foi inicialmente usado para receptores de transplante de fígado, mas agora é amplamente utilizado para a imunossupressão de receptores de aloenxertos de rim, incluindo aqueles que não estão adequadamente controlados por ciclosporina.





**FIGURA 17-12** Influência da ciclosporina na sobrevivência do enxerto.

As taxas de sobrevivência de cinco anos para os pacientes que receberam enxertos cardíacos aumentaram significativamente começando quando a ciclosporina foi introduzida em 1983 (Dados do Transplant Patient DataSource, United Network for Organ Sharing, Richmond, Virgínia. Disponível em <http://207.239.150.13/tpd/>. Acessado em 17 de fevereiro de 2000).

**O fármaco imunossupressor rapamicina (sirolimus) inibe a proliferação mediada pelo fator de crescimento de células T.** Como o FK506, a rapamicina se liga a FKBP, mas o complexo rapamicina-FKBP não inibe a calcineurina. Em vez disso, este complexo liga-se e inibe a enzima celular chamada de alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), uma proteína quinase serina/treonina necessária para a tradução de proteínas que promovem a sobrevivência e proliferação celular. A mTOR é regulada negativamente por um complexo de proteínas chamado de complexo esclerose tuberosa 1, complexo (TSC1)-TSC2. A sinalização de fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) – Akt resulta na fosforilação de TSC2 e liberação da regulação de mTOR. Várias vias de sinalização do receptor do fator de crescimento, incluindo a via do receptor de IL-2 nas células T, bem como os sinais de TCR e CD28, ativam mTOR através de PI3K-Akt, levando a tradução de proteínas necessárias para a progressão

do ciclo celular. Assim, através da inibição da função de mTOR, a rapamicina bloqueia a proliferação de células T. As combinações de ciclosporina (que bloqueia a síntese de IL-2) e rapamicina (que bloqueia a proliferação dirigida por IL-2), são potentes inibidores de respostas de células T. Curiosamente, a rapamicina inibe a geração de células T efectoras, mas não prejudica a sobrevivência e as funções das células T reguladoras, tanto que podem promover a supressão imunológica da rejeição do enxerto. A mTOR está envolvida com as funções de células dendríticas e, conseqüentemente, a rapamicina pode suprimir as respostas de células T por meio de seus efeitos sobre as células dendríticas. A mTOR está também envolvida na proliferação de células B e respostas dos anticorpos e, conseqüentemente, a rapamicina pode também ser eficaz na prevenção ou tratamento da rejeição mediada por anticorpos.

Outras moléculas envolvidas na sinalização de citocinas e do receptor de células T também são alvos de fármacos imunossupressores que estão em ensaios iniciais para o tratamento ou prevenção da rejeição de aloenxertos. Uma dessas moléculas alvo é JAK3, uma quinase ligada a sinalização de vários receptores de citocinas, incluindo a IL-2 e a proteína quinase C, uma quinase essencial para a sinalização do receptor de células T.

## **Antimetabólitos**

***As toxinas metabólicas que matam as células T em proliferação são utilizadas em combinação com outros fármacos para tratar a rejeição do enxerto.*** Estes agentes inibem a proliferação de precursores de linfócitos durante a sua maturação e também destroem as células T maduras em proliferação que tenham sido estimuladas por aloantígenos. O primeiro tal fármaco a ser desenvolvido para a prevenção e tratamento da rejeição foi a azatioprina. Este fármaco ainda é utilizado, mas é tóxico para os precursores de leucócitos na medula óssea e para os enterócitos no intestino. O fármaco mais amplamente usado nesta classe é o **micofenolato de mofetil (MMF)**. O MMF é metabolizado a ácido micofenólico, que bloqueia uma isoforma específica do monofosfato de inosina desidrogenase de linfócitos, uma enzima necessária para a síntese de nucleotídeos de guanina. Em função de o MMF inibir seletivamente a isoforma específica de linfócitos desta enzima, existem relativamente poucos efeitos tóxicos sobre outras células. O MMF é agora usado rotineiramente, muitas vezes em combinação com a ciclosporina ou com o FK506, para prevenir a rejeição aguda do enxerto.

## **Bloqueio da Função ou Depleção de Anticorpos Anti-linfócitos**

***Os anticorpos que reagem com estruturas de superfície de células T e destroem ou inibem as células T são utilizados para o tratamento de episódios de rejeição aguda.*** O primeiro anticorpo contra células T utilizado em pacientes transplantados era um anticorpo monoclonal de camundongo chamado de

OKT3 que é específico para o CD3 humano. (O OKT3 foi o primeiro anticorpo monoclonal utilizado como um medicamento em seres humanos, mas já não é mais produzido.) Os anticorpos policlonais de coelho ou de cavalo específicos para uma mistura de proteínas da superfície de células T humanas, os chamados **antitimócitos globulina**, que também estiveram em uso clínico durante muitos anos para o tratamento da rejeição aguda de aloenxertos. Estes anticorpos anticélulas T reduzem as células T circulantes seja pela ativação do sistema complemento que elimina as células T ou pela sua opsonização para a fagocitose.

Os anticorpos monoclonais atualmente em uso clínico são específicos para CD25, a subunidade  $\alpha$  do receptor da IL-2. Estes reagentes presumivelmente evitam a ativação das células T, bloqueando a ligação da IL-2 às células T ativadas e a sinalização da IL-2.

Outro anticorpo monoclonal utilizado no transplante clínico é um anticorpo monoclonal IgM de rato específico para CD52, uma proteína da superfície celular expressa mais amplamente nas células B e T maduras, cuja função não é compreendida. Os anti-CD52 foram originalmente desenvolvidos para o tratamento de neoplasmas malignos de células B e verificou-se que houve depleção profunda da maioria das células periféricas B e T por muitas semanas após a injeção em pacientes. Em ensaios atuais, apenas administra-se antes e logo após o transplante, com a esperança de que pode ser induzido um estado de tolerância prolongada do enxerto conforme os novos linfócitos se desenvolvem na presença do enxerto.

A principal limitação para a utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais de outras espécies é que os seres humanos quando recebem estes agentes, produzem os anticorpos anti-imunoglobulina (Ig), que eliminam a Ig exógena que foi injetada. Por esta razão estão sendo desenvolvidos os anticorpos quiméricos humano-camundongo (humanizados) (p. ex., contra CD3 e CD25), que são menos imunogênicos.

## **Bloqueio Coestimulatório**

***Os fármacos que bloqueiam as vias de coestimulação de células T reduzem a rejeição aguda do enxerto.*** A base racional para o uso destes tipos de fármacos é para impedir a entrega dos sinais de coestimulação necessários para a ativação das células T (Cap. 9). Recorde-se que a CTLA4-Ig é uma proteína recombinante composta pela porção extracelular de CTLA-4 fundido a um Fc de um domínio IgG. Uma forma de elevada afinidade de CTLA4-Ig, que se liga às moléculas B7 nas APCs e as impede de interagir com células T de CD28 (Fig. 9-7), está aprovado para utilização em pacientes transplantados. Estudos clínicos têm demonstrado que a CTLA-4-Ig pode ser tão eficaz quanto a ciclosporina na prevenção da rejeição aguda, mas seu alto custo e outros fatores têm limitado a utilização generalizada deste agente biológico. Um anticorpo que se liga ao ligante de CD40 da célula T e impede suas interações com CD40 nas APCs (Cap. 9) também se mostrou benéfico para a

prevenção da rejeição do enxerto em animais experimentais. Em alguns protocolos experimentais, o bloqueio simultâneo de ambos B7 e CD40 parece ser mais eficaz do que isoladamente para promover a sobrevivência do enxerto. No entanto, o anticorpo anti-CD40L tem um efeito colateral grave de complicações trombóticas, aparentemente relacionado com a expressão de CD40L em plaquetas.

## **Fármacos Visando Aloanticorpos e Células B Alorreativas**

Como aprendemos mais sobre a importância dos aloanticorpos mediando a rejeição aguda e talvez a crônica, terapias tendo como alvo os anticorpos e as células B que foram desenvolvidos para outras doenças estão agora sendo utilizadas em pacientes transplantados. Por exemplo, a plasmáfese é usada às vezes para o tratamento de rejeição aguda mediada por anticorpos. Neste procedimento, o sangue do paciente é bombeado através de uma máquina que remove o plasma, mas retorna às células sanguíneas para a circulação. Deste modo, os anticorpos circulantes, incluindo os anticorpos alorreativos patogênicos, podem ser removidos. A terapia com imunoglobulina intravenosa (IVIG), usada para tratar várias doenças inflamatórias frequentemente mediadas por anticorpos, também está sendo aplicada na definição da rejeição aguda mediada por anticorpos. Na terapia de IVIG, conjuntos de IgG doadores normais são injetados por via intravenosa no paciente. Os mecanismos de ação não estão completamente compreendidos, mas provavelmente envolvem a ligação da IgG injetada com os receptores de Fc do paciente em vários tipos de células, reduzindo assim a produção do aloanticorpo e bloqueando as funções efetoras dos próprios anticorpos do paciente. A IVIG também aumenta a degradação dos anticorpos do paciente pela inibição competitiva da sua ligação ao receptor Fc neonatal (Cap. 5). A depleção de células B através da administração de rituximab, um anticorpo anti-CD20, que está aprovado para o tratamento de linfomas de células B e de doenças autoimunes, é usado em alguns casos de rejeição aguda mediada por anticorpos.

## **Os Fármacos Anti-inflamatórios**

***Os agentes anti-inflamatórios, especificamente os corticosteroides, são frequentemente utilizados para reduzir a reação inflamatória aos aloenxertos de órgãos.*** O mecanismo de ação proposto por estes hormônios naturais e seus análogos sintéticos é bloquear a síntese e secreção de citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral (TNF) e a IL-1 e outros mediadores inflamatórios, tais como prostaglandinas, espécies reativas de oxigênio e o óxido nítrico, produzido por macrófagos e outras células inflamatórias. O resultado líquido desta terapia é o recrutamento reduzido de leucócitos, inflamação e danos ao enxerto.

***Os protocolos imunossupressores atuais têm melhorado dramaticamente a sobrevida do enxerto.*** Antes da utilização dos inibidores de calcineurina, a taxa de sobrevida em 1 ano de enxertos renais de cadáveres sem parentesco estava entre

50% e 60%, com uma taxa de 90% para enxertos de doadores familiares vivos (que são mais compatíveis com os receptores). Desde que a ciclosporina, o FK506, a rapamicina, e MMF foram introduzidos, a taxa de sobrevivência em enxertos renais de doadores falecidos sem parentesco aumentou para cerca de 90% em 1 ano. Os transplantes de coração, para os quais o HLA compatível não é prático, também beneficiaram de forma significativa o uso de várias classes de fármacos imunossuppressores revisados anteriormente e agora têm aproximadamente ~ 90% de taxa de sobrevivência em 1 ano e ~ 75% de taxa de sobrevivência em 5 anos (Fig. 17-11). A experiência com outros órgãos é mais limitada, mas as taxas de sobrevivência também melhoraram com a terapia imunossupressora moderna, com taxas de sobrevivência de pacientes de 10 anos de aproximadamente 60% e 75% para os receptores de pâncreas e fígado, respectivamente, e as taxas de sobrevivência de paciente de 3 anos de 70% para 80% para os receptores de pulmão.

A forte imunossupressão é geralmente iniciada em receptores de aloenxertos no momento do transplante com uma combinação de fármacos e depois de alguns dias os fármacos são alterados para a manutenção a longo prazo de imunossupressão. Por exemplo, no caso de transplante de rim adulto, um paciente pode ser inicialmente induzido com um anticorpo anti-IL-2R ou anticélulas T e uma alta dosagem de corticosteroides e então mantido em um inibidor de calcineurina, um antimetabólito e talvez esteroides em doses baixas. A rejeição aguda, quando ocorre, é administrada pela rápida intensificação da terapia imunossupressora. Em transplantes modernos, a rejeição crônica tem se tornado uma causa mais comum de falha do enxerto, em especial no transplante cardíaco. A rejeição crônica é mais insidiosa que a rejeição aguda e é muito menos reversível pela imunossupressão.

**A terapia imunossupressora leva ao aumento da susceptibilidade para vários tipos de infecções intracelulares e os tumores associados a vírus.** O principal objetivo da imunossupressão para tratar a rejeição do enxerto é reduzir a geração e função de células T auxiliares e dos CTLs, que medeiam a rejeição celular aguda. Não é de se estranhar, que conseqüentemente, a defesa contra vírus e outros agentes patogênicos intracelulares, a função fisiológica de células T, também esteja comprometida em transplantes de receptores imunossuprimidos. A reativação dos herpesvírus latentes é um problema frequente em pacientes imunodeprimidos, incluindo o citomegalovírus, o vírus herpes simples, varicela, o vírus zóster e o vírus de Epstein-Barr. Por esta razão, os receptores de transplante agora recebem a terapia antiviral profilática para infecções por vírus do herpes. Os pacientes transplantados imunossuprimidos também estão em maior risco de uma variedade das chamadas infecções oportunistas, que normalmente não ocorrem nas pessoas imunocompetentes, incluindo infecções fúngicas (*Pneumocystis jirovecii* pneumonia, histoplasmose, coccidioidomicose), infecções por protozoários (toxoplasmose) e infecções parasitárias gastrintestinais (*Cryptosporidium* e *Microsporidium*). Os receptores imunossuprimidos de aloenxertos têm um maior risco para o

desenvolvimento de câncer, em comparação com a população em geral, incluindo as várias formas de câncer de pele. Alguns dos tumores mais frequentemente encontrados em pacientes transplantados são conhecidos por serem causados por vírus, e, por conseguinte, podem surgir devido a imunidade antiviral deficiente. Estes incluem o carcinoma cervical do colo do útero, que está relacionado com a infecção pelo papilomavírus humano e linfomas causados pela infecção por Epstein-Barr. Os linfomas encontrados em aloenxertos de receptores como um grupo são chamados de distúrbios linfoproliferativos pós-transplante (PTLD), e a maioria é derivado de linfócitos B.

Apesar do risco de infecções e neoplasias associadas à utilização de fármacos imunossupressores, a maior limitação das doses toleradas da maioria desses medicamentos, incluindo os inibidores da calcineurina, os inibidores de mTOR, os antimetabólitos e esteroides, é a toxicidade direta às células não relacionadas a imunossupressão. Em alguns casos, as toxicidades afetam as mesmas células que a rejeição afeta, tais como a toxicidade da ciclosporina para as células epiteliais tubulares renais, que pode complicar a interpretação do declínio da função renal em pacientes transplantados renais.

## Métodos para Induzir Tolerância Doador-Específica

***A rejeição de aloenxertos pode ser impedida, tornando os hospedeiros tolerantes aos aloantígenos do enxerto.*** A tolerância neste contexto significa que o sistema imunológico do hospedeiro não fere o enxerto, apesar da ausência ou retirada de agentes imunossupressores e anti-inflamatórios. Presume-se que a tolerância a um enxerto envolve os mesmos mecanismos que estão envolvidos na tolerância a antígenos próprios (Cap. 15), ou seja, a anergia, a exclusão e supressão ativa de células T alorreativas. A tolerância é desejável no transplante porque ela é específica ao aloantígeno e conseqüentemente irá evitar os principais problemas associados à imunossupressão não específica, ou seja, a deficiência imune que conduz ao aumento da susceptibilidade às infecções e ao desenvolvimento de tumores e toxicidade do fármaco. Além disso, atingir a tolerância do enxerto pode reduzir a rejeição crônica, que até agora tem sido afetada pelos agentes imunossupressores comumente usados que previnem e revertem os episódios de rejeição aguda.

Várias abordagens experimentais e observações clínicas demonstraram que deveria ser possível atingir a tolerância a aloenxertos. Em experimentos com camundongos, o pesquisador Medawar e seus colegas descobriram que, se os camundongos neonatos de uma cepa (os receptores) recebem células de baço de outra linhagem (o doador), os recipientes, subseqüentemente, aceitarão o enxerto de pele do doador. Esta tolerância é específica aos aloantígenos porque os receptores irão rejeitar enxertos de camundongos das linhagens que expressam alelos de MHC



diferentes daqueles das células do baço do doador. Pacientes transplantados renais que receberam uma transfusão sanguínea contendo leucócitos alogênicos têm uma menor incidência de episódios de rejeição aguda do que aqueles que não foram transfundidos. A explicação postulada para este efeito é que a introdução de leucócitos alogênicos por transfusão produz uma tolerância a aloantígenos. Um mecanismo subjacente para a indução de tolerância pode ser que a transfusão de células doadoras contenha células dendríticas imaturas, que induzem a falta de resposta aos aloantígenos dos doadores. De fato, o pré-tratamento de potenciais receptores com as transfusões de sangue é agora utilizado como terapia profilática para reduzir a rejeição. Alguns receptores de aloenxertos de fígado são capazes de reter enxertos saudáveis, mesmo após a retirada da imunossupressão. O mecanismo subjacente a esta tolerância espontânea aparente não é conhecido e parece ser exclusivo para enxertos de fígado.

Várias estratégias estão sendo testadas para induzir a tolerância específica aos doadores em receptores de aloenxertos.

- **Bloqueio coestimulatório.** Postulou-se que o reconhecimento de aloantígenos, na ausência de coestimulação conduziria a tolerância da célula T, e há algumas evidências experimentais em animais para apoiar isso. No entanto, a experiência clínica com agentes que bloqueiam a coestimulação é que eles suprimem as respostas imunológicas ao aloenxerto, mas não induzem tolerância de longa duração e os pacientes têm de ser mantidos na terapia.
- **Quimerismo hematopoético.** Mencionamos anteriormente que a transfusão de células sanguíneas do doador para o receptor do enxerto inibe a rejeição. Se as células transfundidas do doador ou a descendência das células sobrevivem durante longos períodos no receptor, o receptor torna-se uma quimera. A tolerância a longo prazo do quimerismo hematopoético foi conseguida em um pequeno número de receptores de aloenxertos renais por meio de um transplante de células de medula óssea a partir do doador ao mesmo tempo que foi feito o aloenxerto de órgãos, mas os riscos de transplante de medula óssea e a disponibilidade de doadores adequados podem limitar a aplicabilidade desta abordagem.
- **Transferência ou indução de células T reguladoras.** As tentativas de gerar células T reguladoras específicas do doador em cultura e transferi-las para receptores de enxertos estão em curso. Tem havido algum sucesso relatado em receptores de transplantes de células-tronco hematopoéticas em quem infusões de células T reguladoras reduzem a doença enxerto *versus* hospedeiro. Uma abordagem alternativa que tem sido tentada em transplante de ilhotas pancreáticas, é a ativação das células T reguladoras *in vivo* pela administração de um anticorpo anti-CD3 fracamente estimulante, mas a eficácia desta terapia não foi estabelecida.

## Transplante xenogênico

A utilização de transplantes de órgãos sólidos, como uma terapia clínica é grandemente limitada pelos números insuficientes de doadores de órgãos disponíveis. Por este motivo, a possibilidade de transplante de órgãos de outros mamíferos, tais como porcos, em receptores humanos atraiu grande interesse.

***Uma grande barreira imunológica ao transplante xenogênico é a presença de anticorpos naturais nos receptores humanos que causam a rejeição hiperaguda.*** Mais de 95% dos primatas têm anticorpos IgM naturais que são reativos com os determinantes de carboidratos expressos por células de espécies que são evolutivamente distantes, tais como o porco. A maioria dos anticorpos humanos naturais antiporco é dirigida a um determinante de hidrato de carbono específico formado pela ação de uma enzima do porco, a  $\alpha$ -galactosiltransferase. Esta enzima coloca uma fração ligada  $\alpha$ -galactose sobre o mesmo substrato em que células de humanos e outros primatas são fucosiladas para formar o antígeno do grupo sanguíneo H. Os anticorpos naturais são raramente produzidos contra determinantes de hidrato de carbono de espécies estreitamente relacionadas, tais como os seres humanos e os chimpanzés. Assim, os órgãos de chimpanzés ou outros primatas mais evoluídos poderiam, teoricamente, ser aceitos em seres humanos. No entanto, as preocupações éticas e logísticas têm limitado tais procedimentos. Por razões de compatibilidade anatômica, os suínos são as espécies xenogênicas preferidas para a doação de órgãos aos seres humanos.

Os anticorpos naturais contra xenoenxertos induzem a rejeição hiperaguda pelos mesmos mecanismos que aqueles observados na rejeição hiperaguda de aloenxertos. Estes mecanismos incluem a geração de pró-coagulantes de células endoteliais e substâncias de agregação plaquetária, juntamente com a perda de mecanismos de anticoagulantes endoteliais. No entanto, as consequências da ativação do complemento humano em células do porco são normalmente mais severas do que as consequências da ativação do complemento por anticorpos naturais em células humanas alogênicas. Isso pode ser porque algumas das proteínas reguladoras do complemento feitas pelas células de porco, tais como o fator acelerador da decomposição, não são capazes de interagir com proteínas de complemento humano e, portanto, não é possível limitar o grau de lesão induzida pelo complemento (Cap. 13).

Mesmo quando se previne a rejeição hiperaguda, os xenoenxertos são frequentemente danificados por uma forma de rejeição vascular aguda que ocorre no prazo de 2 a 3 dias após o transplante. Esta forma de rejeição tem sido chamada de rejeição retardada do xenotransplante, rejeição aguda acelerada, ou rejeição vascular aguda, e é caracterizada por trombose intravascular e necrose da parede dos vasos. Os mecanismos de rejeição retardada do xenoenxerto não são completamente compreendidos; dados recentes indicam que pode haver incompatibilidades entre as plaquetas de primatas e as células endoteliais suínas que promovem a trombose independente do dano mediado por anticorpos.

Os xenoenxertos podem também ser rejeitados pela resposta imune mediada pelas células T. Acredita-se que os mecanismos da rejeição mediada por células em xenoenxertos sejam semelhantes aos que foram descritos para a rejeição do aloenxerto, e as respostas de células T aos xenoantígenos pode ser tão forte quanto ou mais forte do que respostas para os aloantígenos.

## Transfusão de sangue e os grupos de antígenos sanguíneos abo e Rh

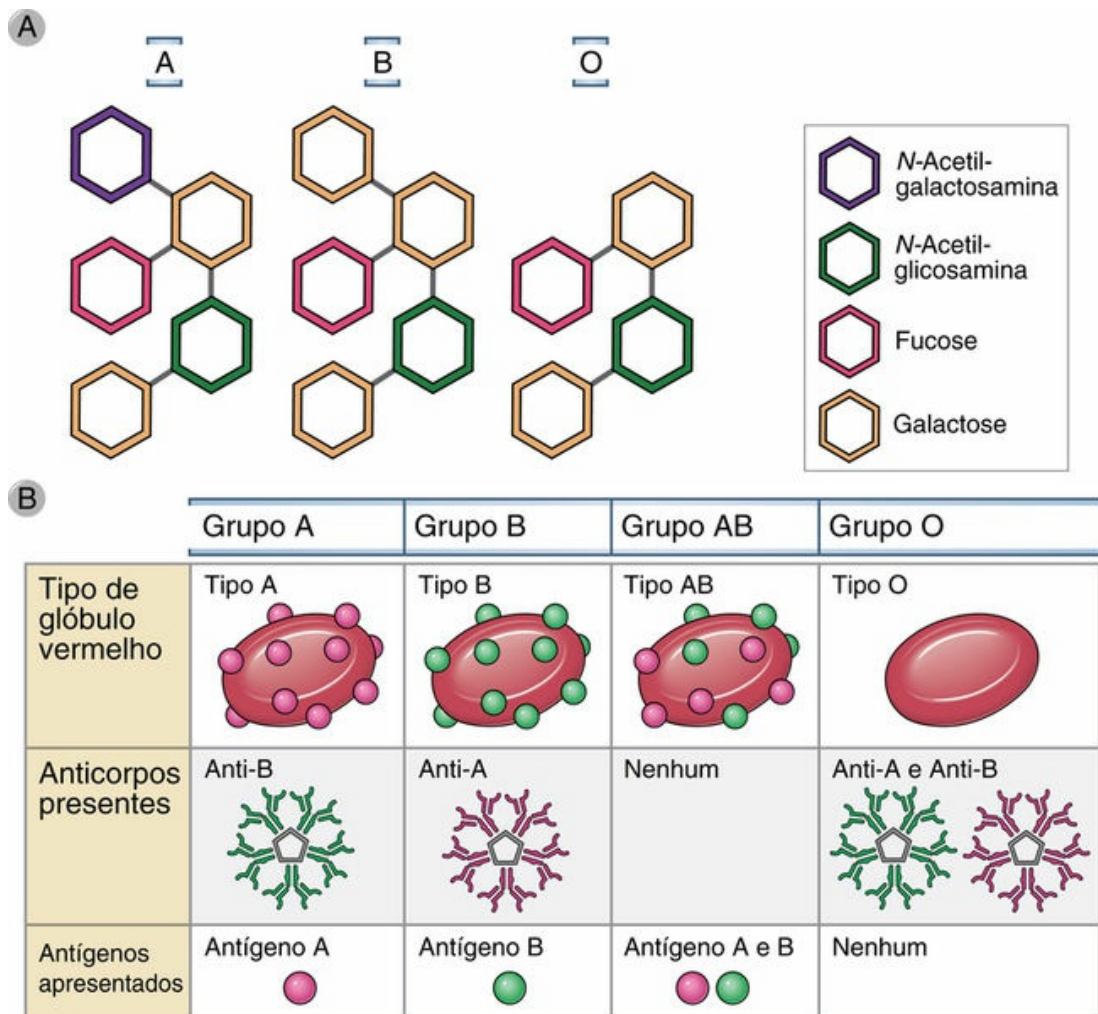
***A transfusão sanguínea é uma forma de transplante em que sangue ou células inteiras de um ou mais indivíduos são transferidos por via intravenosa para a circulação de um outro indivíduo.*** As transfusões de sangue são, na maioria das vezes, realizadas para substituir o sangue perdido por hemorragia ou para corrigir defeitos causados pela produção inadequada de células sanguíneas, que pode ocorrer numa variedade de doenças. A grande barreira para as transfusões sanguíneas de sucesso é a resposta imunológica às moléculas da superfície celular que diferem entre os indivíduos. O sistema de aloantígenos mais importante na transfusão sanguínea é o sistema ABO, que vamos discutir detalhadamente mais adiante. Os antígenos ABO são expressos em virtualmente todas as células, incluindo os glóbulos vermelhos. Os indivíduos que não têm um antígeno específico do grupo sanguíneo produzem anticorpos IgM naturais contra este antígeno. Se esses indivíduos recebem hemácias expressando o antígeno alvo, os anticorpos preexistentes ligam-se às células transfundidas, ativam o complemento e provocam **reações de transfusão**, que podem ser fatais. A transfusão através de uma barreira ABO pode desencadear uma reação hemolítica imediata, resultando tanto na lise intravascular das hemácias, provavelmente mediada pelo sistema do complemento, quanto na extensa fagocitose de eritrócitos revestidos anticorpos e complemento e por macrófagos no fígado e no baço. A hemoglobina é libertada a partir das hemácias lisadas em quantidades que podem ser tóxicas para células de rim, causando necrose aguda de células tubulares renais e insuficiência renal. Febre alta, choque e coagulação intravascular disseminada podem também se desenvolver, sugestivo de liberação de grandes quantidades de citocinas (p. ex., o TNF ou a IL-1). A coagulação intravascular disseminada consome fatores de coagulação mais rápido do que eles podem ser sintetizados e o paciente pode, paradoxalmente morrer de hemorragia na presença da coagulação generalizada. Mais reações hemolíticas tardias podem resultar na incompatibilidade dos antígenos de grupos sanguíneos menores. Isso resulta na perda progressiva das hemácias transfundidas, conduzindo a uma anemia e icterícia, a última uma consequência da sobrecarga do fígado com pigmentos derivados da hemoglobina.

Vamos agora discutir os antígenos dos grupos sanguíneos ABO bem como outros antígenos de grupo sanguíneo de relevância clínica.

## Antígenos de Grupos Sanguíneos ABO

**Os antígenos ABO são os hidratos de carbono ligados a proteínas e lipídios da superfície celular e são sintetizados por enzimas glicosiltransferase polimórficas, cuja atividade varia dependendo do alelo herdado (Fig. 17-13).**

Os antígenos ABO foram o primeiro sistema de aloantígenos a ser definido em mamíferos. Todos os indivíduos normais sintetizam um núcleo glicano comum, que está ligado, principalmente, às proteínas da membrana plasmática. A maioria dos indivíduos possuem uma fucosiltransferase que adiciona uma porção de fucose a um resíduo não terminal de açúcar do glicano e os glicanos fucosilados são chamados de antígeno H. Um único gene no cromossomo 9 codifica a enzima glicosiltransferase que pode modificar ainda mais o antígeno H. Existem três variantes alélicas deste gene. O produto do alelo O é desprovido de atividade enzimática. A enzima codificada pelo alelo A transfere uma porção terminal N-acetilgalactosamina para o antígeno H e o produto do gene do alelo B transfere uma porção galactose terminal. Os indivíduos que são homozigotos para o alelo S não podem anexar açúcares terminais para o antígeno H e expressam apenas o antígeno H. Em contraste, os indivíduos que possuem um alelo A (homozigoto AA, heterozigotos AO, ou heterozigotos AB) formam o antígeno A pela adição do terminal N-acetilgalactosamina em alguns dos seus antígenos H. Da mesma forma, os indivíduos que expressam um alelo B (homozigotos BB, heterozigotos BO, ou heterozigotos AB) formam o antígeno B, adicionando a galactose terminal a alguns de seus antígenos H. Os heterozigotos AB formam antígenos A e B de alguns de seus antígenos H. A terminologia foi simplificada para que se diga que os indivíduos OO têm o tipo sanguíneo O; Indivíduos AA e AO são de sangue de tipo A; os indivíduos BB e BO são o tipo de sangue B; e os indivíduos AB são o tipo de sangue AB. As mutações no gene que codifica a fucosiltransferase que produz o antígeno H são raras; pessoas que são homozigotas para tal mutação são ditas ter o grupo sanguíneo de Bombaim e não podem produzir antígenos H, A, B ou e não podem receber sangue tipo O, A, B ou AB.



**FIGURA 17-13** Antígenos do grupo sanguíneo ABO.

**A**, antígenos do grupo sanguíneo são estruturas de carboidratos adicionados a proteínas da superfície celular ou lipídios pela ação de glicosiltransferases (ver texto). **B**, antígenos de diferentes grupos sanguíneos são produzidos pela adição de diversos açúcares por diferentes glicosiltransferases herdadas. Os indivíduos que expressam um antígeno de grupo sanguíneo particular são tolerantes a este antígeno, mas produzem anticorpos naturais que reagem com antígenos de outros grupos sanguíneos.

**Os indivíduos que expressam um determinado antígeno do grupo sanguíneo A ou B são tolerantes a este antígeno, mas os indivíduos que não expressam este antígeno produzem anticorpos naturais que reconhecem o antígeno.** Praticamente todos os indivíduos expressam o antígeno H, e, portanto, eles são tolerantes a este antígeno e não produzem anticorpos anti-H. Os indivíduos que expressam antígenos A ou B são tolerantes a estas moléculas e não produzem anticorpos anti-A e anti-B, respectivamente. No entanto, os indivíduos dos grupos

sanguíneos O e A produzem anticorpos IgM anti-B, e os indivíduos dos grupos sanguíneos O e B produzem anticorpos IgM anti-A. Os indivíduos incapazes de produzir antígenos do núcleo H produzem anticorpos contra os antígenos H, A, e B. Parece paradoxal que os indivíduos que não expressam um antígeno de grupo sanguíneo produzam anticorpos contra ele. A explicação provável é que os anticorpos sejam produzidos contra glicolípidos de bactérias intestinais que reagem de forma cruzada com os antígenos ABO, a menos que o indivíduo seja tolerante a um ou mais destes. Como era de se esperar, a presença de qualquer antígeno de grupo sanguíneo induz a tolerância a este antígeno.

***Na transfusão clínica, a escolha dos doadores de sangue para um receptor específico é baseada na expressão de antígenos do grupo sanguíneo e nas respostas de anticorpos contra eles.*** Se um paciente recebe uma transfusão de hemácias a partir de um doador que expressa o antígeno não expresso em suas hemácias, isso pode resultar em uma reação de transfusão (descrita anteriormente). Segue-se que os indivíduos AB podem tolerar transfusões de todos os potenciais doadores e são, portanto, chamados de receptores universais; da mesma forma, os indivíduos O podem tolerar transfusões apenas de doadores O, mas podem fornecer sangue para todos os receptores e, portanto, são chamados de doadores universais. Em geral, as diferenças em grupos sanguíneos menores levam à lise de hemácias só depois de repetidas transfusões desencadearem uma resposta do anticorpo secundário.

Os antígenos dos grupos sanguíneos A e B são expressos em muitos outros tipos celulares além das células sanguíneas, incluindo células endoteliais. Por esta razão, a tipagem ABO é crucial para evitar a rejeição hiperaguda de certos aloenxertos de órgãos sólidos, como discutido anteriormente neste capítulo. A incompatibilidade ABO entre a mãe e o feto, geralmente não causa problemas para o feto, porque a maior parte dos anticorpos anticarboídratos são IgM e não atravessam a placenta.

## Antígenos de outros Grupos Sanguíneos

### Antígeno Lewis

As mesmas glicoproteínas que transportam os determinantes dos grupos sanguíneos A e B podem ser modificadas por outras glicosiltransferases para gerar antígenos dos grupos sanguíneos menores. Por exemplo, a adição de frações de fucose nas outras posições não terminais pode ser catalisada por diferentes fucosiltransferases e criar os epítomos do sistema de antígeno de Lewis. Os antígenos de Lewis receberam recentemente muita atenção por parte de imunologistas porque esses grupos de carboidratos servem como ligantes para E-selectina e P-selectina e assim, desempenham um papel na migração de leucócitos (Cap. 3).

### Antígeno Rhesus (Rh)



Os antígenos Rhesus (Rh), nomeados desta forma devido à espécie do macaco em que foram originalmente identificados, são outro conjunto de antígenos do grupo sanguíneo clinicamente importante. Os antígenos Rh são proteínas de superfície celular não glicosiladas, hidrofóbicas encontradas nas membranas das hemácias e está estruturalmente relacionada com as outras glicoproteínas de membrana das hemácias com funções transportadoras. As proteínas Rh são codificadas por dois genes altamente homólogos firmemente ligados, mas apenas um deles, chamado RhD, é comumente considerado na tipagem sanguínea clínica. Isso ocorre porque até 15% da população possui uma deleção ou outra alteração do alelo RhD. Estas pessoas, chamadas Rh negativo, não são tolerantes ao antígeno Rh e produzem anticorpos para o antígeno, se forem expostas a células do sangue Rh positivas.

***O principal significado clínico de anticorpos anti-Rh está relacionado a reações hemolíticas associadas à gravidez que são semelhantes às reações de transfusão.*** Mães com Rh negativo gestando um feto Rh positivo podem ser sensibilizadas por hemácias fetais que entram na circulação materna, geralmente durante o parto. Uma vez que o antígeno Rh é uma proteína, ao contrário dos antígenos ABO de carboidratos, os anticorpos IgG ligados a classes alternadas são gerados em mães Rh negativas. As gestações subsequentes nas quais o feto é Rh positivo estão em risco, pois os anticorpos IgG anti-Rh maternos podem atravessar a placenta e mediar a destruição das hemácias fetais. Isto causa a **eritroblastose fetal** (doença hemolítica do recém-nascido) e pode ser letal para o feto. Esta doença pode ser prevenida através da administração de anticorpos anti-RhD para a mãe dentro de 72 horas após o nascimento do primeiro bebê Rh positivo. O tratamento previne que as hemácias Rh positivas do bebê que entraram na circulação da mãe induzam a produção de anticorpos anti-Rh na mãe. Os mecanismos de ação exatos da administração dos anticorpos não são claros, mas podem incluir a remoção fagocítica ou a lise das hemácias do bebê mediada pelo complemento ou inibição por feedback dependente do receptor Fc das células B RhD-específicas da mãe ([Cap. 12](#)).

## Transplante hematopoético de células-tronco

O transplante de células-tronco hematopoéticas pluripotentes (HSCs) foi feito no passado usando um inóculo de células da medula óssea coletadas por aspiração e o procedimento é muitas vezes chamado de transplante de medula óssea. Na prática clínica moderna, as células-tronco hematopoéticas são mais frequentemente obtidas a partir do sangue de doadores, depois do tratamento com fatores estimuladores de colônias que mobilizam as células-tronco da medula óssea. O receptor é tratado antes do transplante com uma combinação de quimioterapia, imunoterapia ou irradiação para esgotar as células da medula para liberar locais para as células-tronco transferidas. Após o transplante, as células-tronco repovoam a medula óssea do receptor e se diferenciam em todas as linhagens hematopoéticas. Consideramos

os transplantes de HSC separadamente de outras formas de transplante, pois este tipo de enxerto tem várias características únicas que não são encontradas no transplante de órgãos sólidos.

Os transplantes de HSC são mais frequentemente usados clinicamente no tratamento de leucemias e condições pré-leucêmicas. Na verdade, o transplante de HSC é o único tratamento curativo para algumas dessas doenças, incluindo a leucemia linfocítica crônica e a leucemia mieloide crônica. Os mecanismos pelos quais o transplante de HSC cura neoplasias hematopoéticas é do efeito enxerto versus tumor, em que o sistema imunológico do doador reconstituído reconhece as células tumorais residuais como estranhas e as destrói. Os transplantes de HSC também são usados clinicamente para o tratamento de doenças causadas por mutações hereditárias em genes que afetam apenas células derivadas das células-tronco hematopoéticas como linfócitos ou hemácias. Exemplos de tais doenças que podem ser curadas através de transferência de HSC são deficiência de adenosina deaminase (ADA), doença de imunodeficiência combinada grave ligada ao X e as mutações de hemoglobina tais como a beta talassemia major e a anemia falciforme.

***As células-tronco hematopoéticas alogênicas são rejeitadas até por um hospedeiro minimamente imunocompetente, e, conseqüentemente o doador e o receptor devem ser cuidadosamente testados quanto à sua compatibilidade para todos os loci do MHC.*** Os mecanismos da rejeição de HSCs não são completamente conhecidos, mas além de mecanismos imunes adaptativos, as HSCs podem ser rejeitadas pelas células NK. O papel das células NK na rejeição da medula óssea foi estudado em animais experimentais. Os camundongos híbridos F<sub>1</sub> irradiados rejeitam a medula óssea doada por um dos pais consanguíneos. Este fenômeno, chamado de resistência híbrida, parece violar as leis clássicas do transplante de órgãos sólidos. A resistência híbrida é vista em camundongos deficientes de células T e a depleção das células NK do receptor com anticorpos contra as células NK previne a rejeição da medula óssea dos progenitores. A resistência híbrida é provavelmente devida a células NK do hospedeiro que reagem aos precursores da medula óssea que não possuem moléculas de MHC de classe I expressas pelo hospedeiro. Lembre-se de que normalmente, reconhecimento do auto MHC de classe I inibe a ativação das células NK e se essas moléculas próprias do MHC estão faltando, as células NK são liberadas da inibição (Fig. 4-8).

Mesmo depois do enxerto bem-sucedido, dois problemas adicionais são frequentemente associados ao transplante de HSC: a doença do enxerto *versus* hospedeiro e a imunodeficiência.

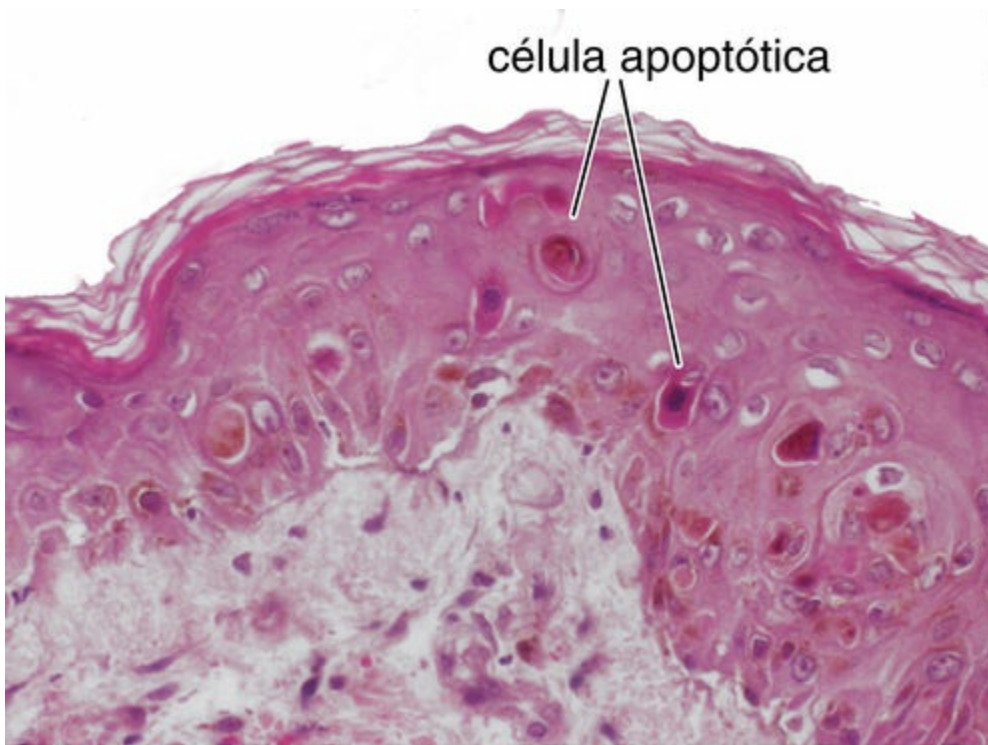
## Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro

***A doença do enxerto-versus-hospedeiro (GVHD) é causada pela reação de células T maduras enxertadas no inóculo das HSC com aloantígenos do***

**hospedeiro.** Ela ocorre quando o anfitrião é imunocomprometido e, portanto, incapaz de rejeitar as células alogênicas no enxerto. Na maioria dos casos, a reação é dirigida contra os antígenos de histocompatibilidade menores do hospedeiro porque o transplante de medula óssea não é realizado quando o doador e receptor têm diferenças em moléculas de MHC. A GVHD pode também se desenvolver quando órgãos sólidos que contêm um número significativo de células T são transplantados, tais como o intestino delgado, o pulmão ou o fígado.

A GVHD é a principal limitação para o sucesso do transplante de medula óssea. Imediatamente após o transplante das HSC, agentes imunossuppressores, incluindo inibidores da calcineurina como ciclosporina e tacrolimus, os antimetabolitos, tais como o metotrexato e o inibidor de mTOR, sirolimus são indicados para a profilaxia contra o desenvolvimento da GVHD. Apesar dessas estratégias profiláticas agressivas, GVHD é a principal causa de mortalidade entre receptores de transplantes de medula óssea. A GVHD pode ser classificada com base nos padrões histológicos em formas agudas e crônicas.

A **GVHD aguda** é caracterizada pela morte das células epiteliais na pele (Fig. 17-14), fígado (principalmente no epitélio biliar), e no trato gastrointestinal. Ela manifesta-se clinicamente por erupção cutânea, icterícia, diarreia e hemorragia gastrointestinal. Quando a morte das células epiteliais é extensa, a pele ou a mucosa do intestino podem desprender-se. Nesta circunstância, a GVHD aguda pode ser fatal.



**FIGURA 17-14** Histopatologia da GVHD aguda na pele. Um infiltrado linfocítico escasso pode ser visto na junção dermoepidérmica e os danos na camada epitelial são indicados por espaços na junção dermoepidérmica (vacuolização), coloração de células com queratina anormal (disqueratose), queratinócitos apoptóticos e desorganização da maturação de queratinócitos a partir da camada basal até a superfície. (Cortesia de Dr. Scott concedente, *Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.*)

A **GVHD crônica** é caracterizada por fibrose e atrofia de um ou mais dos mesmos órgãos, sem evidência de morte celular aguda. A GVHD crônica pode também envolver os pulmões e produzir obliteração das pequenas vias aéreas, chamada de bronquiolite obliterante, semelhante ao que é visto na rejeição crônica de aloenxertos pulmonares. Quando é grave, a GVHD crônica leva a uma completa disfunção do órgão afetado.

Em modelos animais, a GVHD aguda é iniciada pelas células T maduras transferidas com as HSCs e a eliminação das células T maduras do doador do enxerto pode impedir o desenvolvimento da GVHD. Em transplantes clínicos das HSC, os esforços para eliminar as células T a partir do inóculo reduziram a incidência de GVHD, mas também a diminuição do efeito enxerto *versus* leucemia muitas vezes crítica no tratamento de leucemias por este tipo de transplante. As preparações de HSC esgotadas de células T também tendem a enxertar mal, talvez porque células T maduras produzem fatores estimuladores de colônias que auxiliam no repovoamento

das células-tronco.

Embora a GVHD seja iniciada por células T enxertadas que reconhecem os aloantígenos do hospedeiro, as células efetoras que causam lesão às células epiteliais não são tão bem definidas. Em exames histológicos, as células NK são muitas vezes ligadas à morte de células epiteliais, o que sugere que as células NK são importantes efetoras da GVHD aguda. Os CTLs CD8<sup>+</sup> e as citocinas também parecem estar envolvidos na lesão tecidual em GVHD aguda.

A relação entre a GVHD crônica e GVHD aguda não é conhecida e levanta questões semelhantes às da relação da rejeição crônica e da rejeição aguda de aloenxertos. Por exemplo, a GVHD crônica pode representar a fibrose de cicatrização de feridas secundária à perda aguda de células epiteliais. No entanto, a GVHD crônica pode surgir sem evidências de GVHD aguda prévia. Uma explicação alternativa é de que a GVHD crônica representa uma resposta à isquemia causada pela lesão vascular.

Tanto as GVHD agudas quanto as crônicas são comumente tratadas com imunossupressão intensa, tais como altas doses de esteroides, mas muitos pacientes não respondem favoravelmente. Falhas terapêuticas podem acontecer porque estes tratamentos têm como alvo apenas alguns dos muitos mecanismos efetores em jogo na GVHD, e alguns tratamentos podem esgotar as células T reguladoras, que são importantes para a prevenção de GVHD. Com sua elevada mortalidade, a GVHD aguda representa o maior obstáculo para o transplante bem-sucedido de HSC. As terapias experimentais em desenvolvimento incluem anticorpos anti-TNF, e a transferência de células T reguladoras.

## Imunodeficiência após o Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas

**O transplante de HSC é muitas vezes acompanhado por imunodeficiência clínica.** Vários fatores podem contribuir para o defeito nas respostas imunes em receptores. Os receptores do transplante podem não ser capazes de regenerar um novo repertório completo de linfócitos. A terapia de radiação e quimioterapia usadas a fim de preparar receptores para o transplante podem esgotar as células de memória do paciente e os plasmócitos de vida longa e pode levar um longo tempo para se regenerar essas populações.

A consequência da imunodeficiência é que os receptores de transplante de HSC são suscetíveis a infecções virais, especialmente infecção por citomegalovírus, e muitas infecções bacterianas e fúngicas. Eles também são suscetíveis aos linfomas da célula B provocados pelo vírus Epstein-Barr. As imunodeficiências dos receptores de transplantes de HSC podem ser mais graves do que as dos pacientes imunodeprimidos convencionalmente. Portanto, os receptores vulgarmente recebem o tratamento profilático de antibióticos, profilaxia antiviral para prevenir infecções por

citomegalovírus, a profilaxia antifúngica para impedir a infecção invasiva por *Aspergillus* e a manutenção intravenosa de infusões de imunoglobulina (IVIG). Os receptores são também imunizados contra infecções comuns para restaurar a imunidade protetora que se perde após o transplante.

Há um grande interesse no uso de células-tronco pluripotentes para reparar tecidos que têm pouca capacidade regenerativa natural, tais como o músculo cardíaco, o cérebro e a medula espinal. Uma abordagem é a utilização de células-tronco embrionárias, que são as células-tronco pluripotentes derivadas da fase de blastocisto dos embriões humanos. Embora as células-tronco embrionárias ainda não tenham sido largamente utilizadas clinicamente, é provável que uma grande barreira para enxertos bem-sucedidos seja sua aloantigenicidade e a rejeição pelo sistema imunológico do receptor. Uma possível solução para isso pode ser a utilização de células-tronco pluripotentes induzidas (iPS), que podem ser derivadas de tecidos somáticos adultos por transdução de determinados genes. A vantagem imunológica da abordagem da célula iPS é que estas células podem ser derivadas de células somáticas coletadas do paciente, e, portanto, elas não irão ser rejeitadas.

## Resumo

O transplante de tecidos de um indivíduo para um receptor geneticamente não idêntico leva a uma resposta imunológica específica chamada de rejeição que pode destruir o enxerto. Os principais alvos moleculares da rejeição do enxerto são as moléculas do MHC alogênicas de classe I e classe II.

Moléculas de MHC alogênicas intactas podem ser apresentadas pelas APCs do doador para as células T do receptor (a via direta), ou os aloantígenos podem ser internalizados por APCs do hospedeiro que entram no enxerto ou residem nos órgãos linfoides de drenagem e ser processado e apresentados às células T, como peptídeos associados a as moléculas do MHC próprias (a via indireta).

A frequência de células T capazes de reconhecer as moléculas do MHC alogênicas é muito elevada, o que explica por que a resposta a aloantígenos é muito mais forte do que a resposta a antígenos estranhos convencionais.

A rejeição do enxerto é mediada pelas células T, incluindo os CTLs que matam as células do enxerto e células T auxiliares que causam a inflamação mediada por citocinas assemelhando-se às reações DTH e por anticorpos.

Vários mecanismos efetores causam a rejeição de enxertos de órgãos sólidos. Os anticorpos preexistentes específicos para os antígenos do grupo sanguíneo do doador ou os antígenos do MHC causam rejeição hiperaguda caracterizada por trombose de vasos do enxerto. As células T alorreativas e os anticorpos produzidos em resposta ao enxerto causam danos à parede do vaso sanguíneo e morte celular do parênquima, denominado de rejeição aguda. A rejeição crônica é caracterizada pela fibrose e estenose arterial (vasculopatia do enxerto), que pode



ser devido às reações inflamatórias mediadas por células T e citocinas. A rejeição de enxertos pode ser prevenida ou tratada por imunossupressão do hospedeiro e minimizando a imunogenicidade do enxerto (limitando diferenças alélicas do MHC). A maior parte da imunossupressão é dirigida às respostas das células T e implica a utilização de fármacos citotóxicos, agentes imunossupressores específicos ou anticorpos anticélulas T. Os agentes imunossupressores mais amplamente utilizados têm como alvo a calcineurina, mTOR, e a síntese de DNA dos linfócitos. A imunossupressão é muitas vezes combinada com fármacos anti-inflamatórios, tais como os corticosteroides, que inibem a síntese de citocinas por macrófagos e outras células.

Os pacientes que recebem transplantes de órgãos sólidos podem tornar-se imunodeficientes devido à sua terapia e são suscetíveis a infecções virais e tumores malignos.

O transplante xenogênico de órgãos sólidos é limitado pela presença de anticorpos naturais contra antígenos de carboidratos nas células de espécies discordantes que causam a rejeição hiperaguda, mediada por anticorpos, a rejeição vascular aguda, mediada pela resposta imunológica de células T a moléculas do MHC xenogênicas, e efeitos pró-trombóticos de endotélio xenogênico em plaquetas humanas e proteínas de coagulação.

Os antígenos do grupo sanguíneo ABO são estruturas polimórficas de carboidratos presentes nas células sanguíneas e endotélio que limitam as transfusões e alguns transplantes de órgãos sólidos entre os indivíduos. Os anticorpos naturais IgM anti-A ou anti-B estão presentes em indivíduos que não expressam os antígenos A ou B nas suas células, respectivamente, e estes anticorpos podem causar reações de transfusão e rejeição hiperagudas do aloenxerto.

Os transplantes de células-tronco hematopoéticas (HSC) são pré-formados para o tratamento de leucemias e defeitos genéticos restritos às células hematopoéticas. Transplantes de HSC são suscetíveis a rejeição, e os receptores exigem intensa imunossupressão preparatória. Além disso, os linfócitos T nos enxertos de HSC podem responder a aloantígenos do hospedeiro e causar GVHD. A GVHD aguda é caracterizada pela morte de células epiteliais na pele, trato intestinal e do fígado; que pode ser fatal. A GVHD crônica é caracterizada por fibrose e atrofia de um ou mais desses mesmos órgãos-alvo, assim como os pulmões e também pode ser fatal. Os receptores de transplantes de células-tronco hematopoéticas também desenvolvem frequentemente uma imunodeficiência grave, tornando-os suscetíveis a infecções.

## Leituras selecionadas

### Reconhecimento e Rejeição de Transplantes Alogênicos

- Baldwin, W. M., Valujskikh, A., Fairchild, R. L. Antibody-mediated rejection: emergence of animal models to answer clinical questions. *American Journal of Transplantation*. 2010; 10:1135–1142.
- Colvin, R. B., Smith, R. N. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nature Review Immunology*. 2005; 5:807–817.
- Gras, S., Kjer-Nielsen, L., Chen, Z., Rossjohn, J., McCluskey, J. The structural bases of direct T-cell allorecognition: implications for T-cell-mediated transplant rejection. *Immunology and Cell Biology*. 2011; 89:388–395.
- Kinnear, G., Jones, N. D., Wood, K. J. Costimulation blockade: current perspectives and implications for therapy. *Transplantation*. 2013; 95:527–535.
- Lakkis, F. G., Lechler, R. I. Origin and biology of the allogeneic response. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2013; 3:1–10.
- LaRosa, D. F., Rahman, A. H., Turka, L. A. The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *Journal of Immunology*. 2007; 178:7503–7509.
- Li, X. C., Rothstein, D. M., Sayegh, M. H. Costimulatory pathways in transplantation: challenges and new developments. *Immunological Reviews*. 2009; 229:271–293.
- Nagy, Z. A. Alloreactivity: an old puzzle revisited. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2012; 75:463–470.
- Nankivell, B. J., Alexander, S. I. Rejection of the kidney allograft. *New England Journal of Medicine*. 2010; 363:1451–1462.
- Wood, K. J., Goto, R. Mechanisms of rejection: current perspectives. *Transplantation*. 2012; 93:1–10.

### **Transplante Clínico**

- Blazar, B. R., Murphy, W. J., Abedi, M. M. Advances in graft-versushost disease biology and therapy. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:443–458.
- Chinen, J., Buckley, R. H. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; 125:S324–S335.
- Li, H. W., Sykes, M. Emerging concepts in haematopoietic cell transplantation. *Nature Reviews Immunology*. 2012; 12:403–416.
- McCall, M., Shapiro, A. M. Update on islet transplantation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2, 2012. [a007823].

### **Immunossupressão e Indução de Tolerância aos Aloenxertos**

- Chidgey, A. P., Layton, D., Trounson, A., Boyd, R. L. Tolerance strategies for stem-cell-based therapies. *Nature*. 2008; 453:330–377.
- Halloran, P. F. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *New England Journal of Medicine*. 2004; 351:2715–2729.

Safinia, N., Sagoo, P., Lechler, R., Lombardi, G. Adoptive regulatory T cell therapy: challenges in clinical transplantation. *Current Opinions in Organ Transplantation*. 2010; 15:427–434.

Turka, L. A., Lechler, R. I. Towards the identification of biomarkers of transplantation tolerance. *Nature Reviews Immunology*. 2009; 9:521–526.

### **Xenotransplante**

Yang, Y. G., Sykes, M. Xenotransplantation: current status and a perspective on the future. *Nature Reviews Immunology*. 2007; 7:519–531.

## CAPÍTULO 18

# Imunidade aos Tumores

### VISÃO GERAL DA IMUNIDADE TUMORAL

#### ANTÍGENOS TUMORAIS

Produtos de Genes Mutados

Proteínas Celulares não Mutadas mas Anormalmente Expressadas

Antígenos de Vírus Oncogênicos

Antígenos Oncofetais

Antígenos Glicolipídicos e Glicoproteicos Alterados

Antígenos de Diferenciação Tecido-Específicos

#### RESPOSTAS IMUNES AOS TUMORES

Linfócitos T

Anticorpos

Células *Natural Killer* (NK) (Assassinas Naturais)

Macrófagos

#### EVASÃO TUMORAL DAS RESPOSTAS IMUNES

Escape do Reconhecimento Imune por Perda da Expressão de Antígeno

Inibição Ativa das Respostas Imunes

#### IMUNOTERAPIA PARA TUMORES

Estimulação das Respostas Imunes Ativas do Hospedeiro contra Tumores

Imunoterapia Passiva para Tumores com Células T e Anticorpos

#### O PAPEL DA IMUNIDADE INATA E ADAPTATIVA NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO TUMORAL

#### RESUMO

O câncer é um grave problema de saúde em todo o mundo e uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade em crianças e adultos. A letalidade dos tumores malignos deve-se ao seu crescimento descontrolado dentro dos tecidos normais, causando danos e prejuízos funcionais. O fenótipo maligno dos cânceres reflete defeitos na regulação da proliferação celular, resistência das células tumorais à

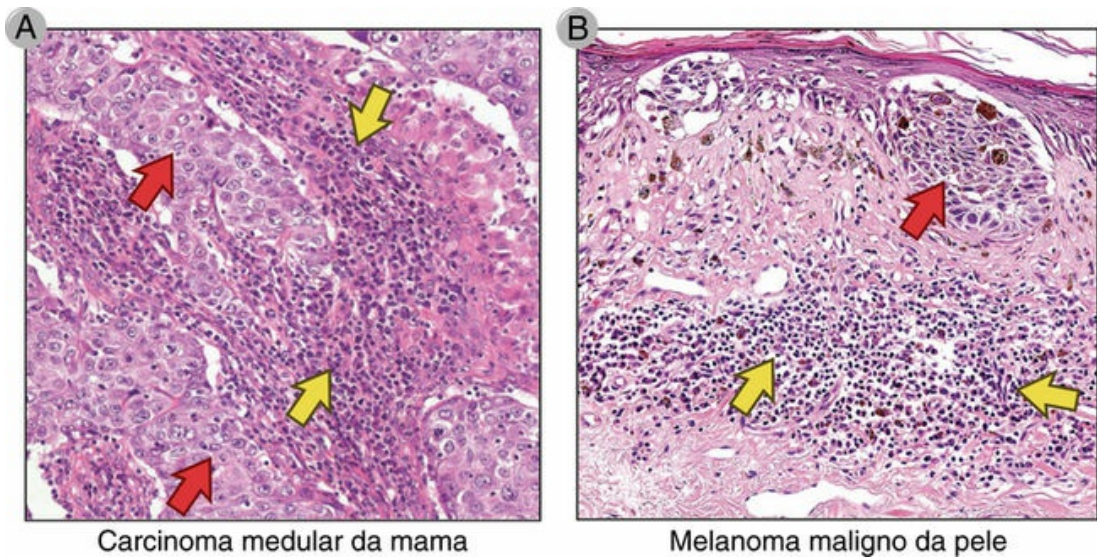
morte apoptótica, capacidade das células tumorais de invadir os tecidos do hospedeiro e formar metástases para locais distantes e evasão tumoral dos mecanismos de defesa imune. A possibilidade de que os cânceres possam ser erradicados pelas respostas imunológicas específicas tem sido impulso para uma grande quantidade de trabalhos na área da imunologia tumoral. O conceito de **vigilância imune** do câncer, proposto por Macfarlane Burnet na década de 1950, afirma que uma função fisiológica do sistema imune é de reconhecer e destruir clones de células transformadas antes que se transformem em tumores e de eliminar tumores depois de formados. A existência da vigilância imune foi demonstrada pelo aumento da incidência de alguns tipos de tumores em animais e seres humanos imunocomprometidos de forma experimental. Atualmente está claro que o sistema imune inato e adaptativo reage contra diversos tumores e explorar essas reações para destruir especificamente os tumores continua a ser um objetivo importante dos imunologistas tumorais. Neste capítulo, descreveremos os tipos de antígenos expressos pelos tumores malignos, como o sistema imune reconhece e responde a esses antígenos, como os tumores evadem do sistema imune do hospedeiro e a aplicação de abordagens imunológicas para o tratamento do câncer.

## Visão geral da imunidade tumoral

Várias características dos antígenos tumorais e da Resposta Imune aos tumores são fundamentais para a compreensão da imunidade tumoral e para o desenvolvimento de estratégias na imunoterapia contra o câncer.

- **Tumores estimulam respostas imunes adaptativas específicas.** Observações clínicas e experimentos com animais demonstraram que, embora as células tumorais sejam derivadas das células do hospedeiro, os tumores provocam respostas imunes. Estudos histopatológicos mostram que muitos tumores são circundados por infiltrados de células mononucleares compostos por linfócitos T, células *natural killer* (NK) e macrófagos ativados, e que os linfócitos e macrófagos ativados estão presentes nos linfonodos que drenam os locais de crescimento tumoral (Fig. 18-1). A presença de linfócitos infiltrados em alguns tipos de melanomas e carcinomas do colo do intestino e da mama é preditiva de um prognóstico melhor. A primeira demonstração experimental de que tumores podem induzir uma Resposta Imune protetora ocorreu a partir de estudos de tumores transplantados realizados na década de 1950 (Fig. 18-2). Um sarcoma pode ser induzido em um camundongo isogênico pincelando-se a sua pele com o carcinógeno químico metilcolantreno (MCA). Se o tumor induzido pelo MCA for excisado e transplantado para outro camundongo singênico, o tumor cresce. Em contrapartida, se as células do tumor original forem transplantadas de volta para o hospedeiro original, o camundongo rejeita este transplante e nenhum tumor cresce. O mesmo camundongo que havia se tornado imune a seu tumor é incapaz

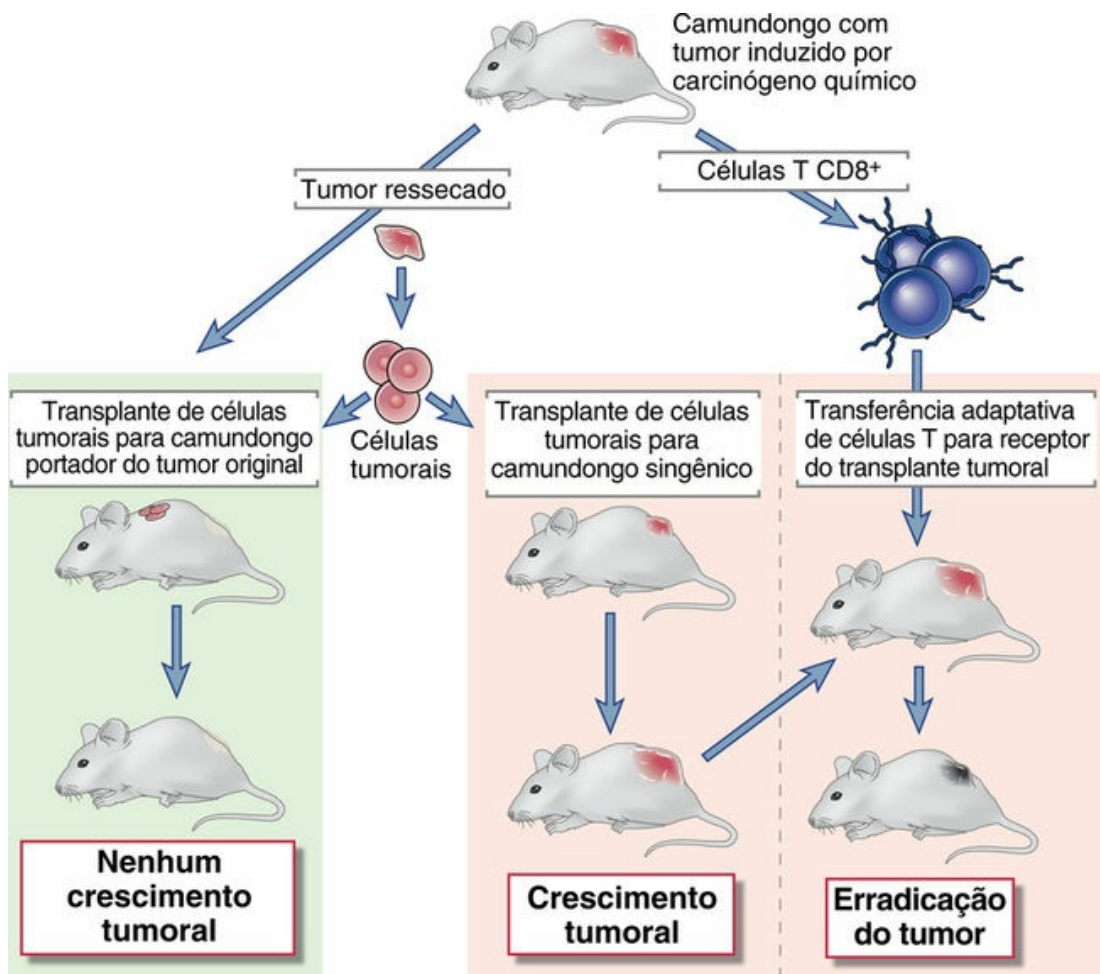
de rejeitar tumores induzidos por MCA em outros camundongos. Além disso, as células T do animal portador do tumor podem transferir imunidade protetora contra o tumor para um animal livre do tumor. Portanto, as respostas imunes contra os tumores apresentam as características que definem a imunidade adaptativa, ou seja, a especificidade e a memória, e constituem a função fundamental dos linfócitos. Como previsto a partir destes experimentos de transplantes, a resposta mais eficaz contra tumores surge naturalmente e parece ser mediada principalmente pelos linfócitos T.



**FIGURA 18-1** Inflamação linfocítica associada a certos tumores.

**A**, Carcinoma medular da mama. **B**, Melanoma maligno da pele. As setas vermelhas indicam células malignas. Setas amarelas indicam infiltrado inflamatório rico em linfócitos.





**FIGURA 18-2** Demonstração experimental da imunidade tumoral.

Os camundongos cirurgicamente curados de um tumor induzido pelo carcinógeno químico (MCA) rejeitam transplantes subsequentes do mesmo tumor, enquanto um tumor transplantado cresce em um camundongo singênico. O tumor também é rejeitado nos camundongos normais que recebem transferência adaptativa de linfócitos T do animal portador do tumor original.

- **As respostas imunes frequentemente falham em evitar o crescimento de tumores.** Podem existir várias razões para que a imunidade antitumoral seja incapaz de erradicar as células transformadas. Em primeiro lugar, muitos tumores apresentam mecanismos especializados para evadir da resposta imune do hospedeiro. Voltaremos a estes mecanismos no final do capítulo. Em segundo lugar, as células tumorais são derivadas das células do hospedeiro e assemelham-se a células normais em muitos aspectos. Assim, muitos tumores tendem a ser fracamente imunogênicos. Os tumores que induzem fortes respostas imunes incluem aqueles induzidos por vírus oncogênicos, nos quais as proteínas

virais são antígenos estranhos. Muitos tumores espontâneos induzem a imunidade de forma fraca ou mesmo indetectável. Isto pode acontecer porque os tumores que crescem sofreram mutações que reduzem a sua capacidade de estimular fortes respostas imunes. Assim, a importância da vigilância imune e tumoral varia conforme o tipo de tumor. Em terceiro lugar, o crescimento rápido e a disseminação de um tumor pode superar a capacidade do sistema imune de controlar eficazmente o tumor, o que exige que todas as células malignas sejam eliminadas.

- **O sistema imune pode ser ativado para eliminar eficazmente as células tumorais e erradicar tumores.** Como veremos no final deste capítulo, esta descoberta tem estimulado novos caminhos na imunoterapia tumoral, na qual o aumento da resposta antitumoral do hospedeiro é o objetivo do tratamento.

A existência de uma imunidade antitumoral específica indica que tumores devem expressar antígenos reconhecidos como estranhos pelo hospedeiro. A natureza e o significado desses antígenos serão descritos a seguir.

## Antígenos tumorais

A primeira classificação de antígenos tumorais baseou-se nos seus padrões de expressão. Os antígenos expressos em células tumorais, mas não em células normais, são chamados de **antígenos específicos do tumor**; alguns destes antígenos são exclusivos de alguns tumores, enquanto outros são compartilhados entre tumores do mesmo tipo. Antígenos tumorais que também são expressos em células normais são chamados de **antígenos associados ao tumor**; na maioria dos casos, estes antígenos são constituintes celulares normais cuja expressão é desregulada ou aberrante nos tumores. A classificação moderna dos antígenos tumorais baseia-se na estrutura molecular e origem dos antígenos expressos pelas células de tumor, que estimulam respostas de células T ou de anticorpos nos seus hospedeiros.

Várias abordagens bioquímicas e genéticas moleculares têm sido utilizadas para identificar antígenos tumorais. Para antígenos tumorais reconhecidos por linfócitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos (CTL), os pesquisadores estabeleceram linhagens clonadas de CTLs reativas ao tumor a partir de pacientes com câncer e as utilizaram como estas sondas para identificar especificamente os antígenos peptídicos relevantes ou os genes que codificavam os peptídeos. Estes clones de CTLs específicos de antígenos tumorais podem detectar respostas aos peptídeos derivados de um tumor ou respostas às proteínas produzidas pelas bibliotecas de DNA complementar (cDNA) do tumor. Estas abordagens foram empregadas primeiramente para identificar os antígenos de melanoma humano que estimularam respostas de CTL em pacientes com o tumor. Os mesmos métodos têm sido utilizados para identificar os antígenos que são reconhecidos pelas células T CD4<sup>+</sup> auxiliares, nos quais as sondas são clones de células T auxiliares derivadas de células T CD4<sup>+</sup> de pacientes.

Um método de identificação de antígenos tumorais que estimula a resposta imune humoral no paciente é chamado de análise sorológica da expressão de cDNA recombinante (SEREX). Neste método, bibliotecas de cDNA derivadas do RNA do tumor de um paciente são transferidas para uma linhagem de células e testes são realizados para detectar a ligação das imunoglobulinas séricas do paciente com câncer às células transfectadas. Desta forma, são obtidas sequências de genes de proteínas alvo de anticorpos e proteínas codificadas que estimulam a resposta de anticorpos no paciente são identificadas.

Na seção seguinte, descrevemos as principais classes de antígenos tumorais (Tabela 18-1). Incluiremos antígenos tumorais conhecidos por induzir respostas imunes em humanos com câncer, bem como os antígenos associados ao tumor que não podem induzir naturalmente respostas imunes no hospedeiro, mas que são alvos potenciais para a imunoterapia ou são marcadores úteis para o diagnóstico clínico e para observação e acompanhamento do paciente.

**Tabela 18-1**

**Antígenos Tumorais**

Tipo de Antígeno	Exemplos de Antígenos Tumorais Humanos
Produtos de oncogenes mutados, genes supressores de tumor	Produtos oncogênicos; mutações em Ras (~10% dos carcinomas humanos), produto de p210 de rearranjos de Bcr/Abl (CML) Produtos de genes supressores de tumor: p53 mutado (presente em ~50% dos tumores humanos)
Produtos de oncogenes não mutados, mas superexpressos	HER2/Neu (carcinomas de mama e outros)
Formas mutadas de genes celulares não envolvidos na tumorigênese	Várias proteínas mutadas nos melanomas reconhecidas pelos CTLs
Produtos de genes que são silenciosos na maioria dos tecidos normais	Antígenos de câncer/testículos expressados nos melanomas e muitos carcinomas; normalmente expressados principalmente nos testículos e placenta
Proteínas não oncogênicas normais superexpressas em células tumorais	Tirosinase, gp100, MART em melanomas (normalmente expressadas nos melanócitos)
Produtos de vírus oncogênicos	Proteínas E6 e E7 do Papilomavírus (carcinomas de colo do útero) Proteína EBNA-1 do EBV (linfomas associados ao EBV, carcinoma nasofaríngeo)
Antígenos oncofetais	Antígeno carcinoembrionário em muitos tumores, também é expressado no fígado e em outros tecidos durante a inflamação $\alpha$ -Fetoproteína
Glicolipídios e glicoproteínas	GM2, GD2 nos melanomas
Diferenciação de antígenos normalmente presentes nos tecidos de origem	Antígeno específico da próstata no carcinomas de próstata CD20 nos linfomas de células B

*CML*, leucemia mielogênica crônica; *CTL*, linfócito T citotóxico; *EBNA*, antígeno nuclear do vírus Epstein-Barr; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *MART*, antígeno do melanoma reconhecido pelas células T.

## Produtos de Genes Mutados

**Os oncogenes e genes supressores de tumores mutados produzem proteínas diferentes das proteínas celulares normais e, portanto, podem induzir respostas imunes.** Muitos tumores expressam genes cujos produtos são necessários para a transformação maligna ou para a manutenção do fenótipo maligno. Muitas vezes, estes genes são produzidos por mutações pontuais, deleções, translocações cromossômicas ou inserções de genes virais que afetam os proto-oncogenes celulares ou os genes supressores de tumor. Os produtos de muitos destes oncogenes mutados e genes supressores de tumores são proteínas nucleares e citossólicas que são degradadas no proteossoma e podem ser apresentadas às moléculas do MHC de classe I nas células tumorais. Estas proteínas podem entrar na via de apresentação de antígeno do MHC de classe I e classe II nas células dendríticas que fagocitaram células tumorais mortas ou corpos apoptóticos derivados das células tumorais. Como os genes alterados não estão presentes nas células normais, os peptídeos codificados por eles não induzem a autotolerância e podem estimular respostas das células T no hospedeiro. Alguns pacientes com câncer exibem células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> circulantes que podem responder aos peptídeos codificados por oncogenes mutados, como *RAS*, ou novos peptídeos derivados de proteínas de fusão, tais como Bcr/Abl gerados por translocações cromossômicas relacionadas ao tumor, bem como peptídeos codificados por genes supressores de tumor mutados, como o *p53*. Além disso, nos animais, a imunização com as proteínas Ras ou p53 mutadas ativa os CTL e a resposta de rejeição contra tumores que expressam esses mutantes. No entanto, essas proteínas não parecem ser alvos principais dos CTLs específicos de tumores na maioria dos pacientes com diversos tumores.

**Antígenos tumorais podem ser produzidos por genes mutados aleatoriamente cujos produtos não estão relacionados ao fenótipo maligno.** Os antígenos tumorais que foram definidos pelo transplante de tumores induzidos por carcinógenos em animais, denominados antígenos de transplante específicos de tumor, são mutantes de várias proteínas celulares do hospedeiro. Estudos com sarcomas induzidos quimicamente em roedores, como aqueles ilustrados na [Figura 18-2](#), estabeleceram que diferentes tumores de roedores, todos induzidos pelo mesmo agente carcinógeno, expressavam diferentes antígenos de transplante. Os antígenos tumorais identificados por essas experiências são peptídeos derivados de proteínas próprias mutadas e apresentados na forma de complexos peptídeo-MHC de classe I capazes de estimular os CTLs. Esses antígenos são extremamente diversos porque os agentes carcinogênicos que induzem os tumores podem mutar aleatoriamente qualquer gene do hospedeiro, e a via apresentadora de antígeno do MHC de classe I pode apresentar os peptídeos a partir de qualquer proteína citossólica mutada de qualquer tumor. Mais recentemente, o sequenciamento de genes em

cânceres humanos comuns revelou que muitos tumores carregam um grande número de mutações específicas do tumor, sendo que a maioria envolve genes que não se acreditava estarem relacionados ao desenvolvimento e fenótipo maligno do tumor. Proteínas mutadas podem servir como antígenos do tumor se puderem ser ligadas a alelos do MHC do indivíduo afetado. Recentemente, tumores comuns e células normais pareadas de um mesmo indivíduo foram analisados para todas as possíveis mutações de codificação através de uma abordagem denominada *Next Generation Sequencing*. Tais análises levaram à identificação de peptídeos específicos de tumores.

## Proteínas Celulares não Mutadas mas Anormalmente Expressadas

***Antígenos tumorais que induzem respostas imunes podem ser proteínas celulares normais, que são anormalmente expressadas nas células tumorais.***

Muitos destes antígenos foram identificados em tumores humanos, como nos melanomas, por clonagem molecular de antígenos reconhecidos pelas células T e de anticorpos de pacientes portadores de tumor. Uma das descobertas que surgiram a partir destes estudos foi a de que alguns antígenos tumorais são proteínas não mutadas produzidas em níveis baixos nas células normais e superexpressas nas células tumorais. Um desses antígenos é a tirosinase, uma enzima envolvida na biossíntese da melanina expressa nos melanócitos normais e nos melanomas. Tanto os clones de CTL CD8<sup>+</sup> restritos ao MHC de classe I como os clones de células T CD4<sup>+</sup> auxiliares restritos ao MHC de classe II de pacientes com melanoma reconhecem peptídeos derivados da tirosinase. Assim, é surpreendente que esses pacientes sejam capazes de responder a um antígeno próprio normal. A explicação provável é de que a tirosinase é produzida normalmente em quantidades tão pequenas e em tão poucas células que não é reconhecida pelo sistema imune e não induz a tolerância. Portanto, o aumento da quantidade produzida pelas células do melanoma pode desencadear respostas imunes. A descoberta da resposta de células T específicas para tirosinase em pacientes aumenta a possibilidade de que as vacinas que incluam peptídeos tirosinase possam estimular estas respostas contra os melanomas; ensaios clínicos com essas vacinas estão em andamento.

***Antígenos de câncer/testículos são proteínas expressas nos gametas e trofoblastos e em muitos tipos de cânceres, mas não nos tecidos somáticos normais.*** Os primeiros antígenos câncer/ testículos foram identificados por clonagem de genes de melanomas humanos que codificavam antígenos de proteínas celulares reconhecidos por clones de CTL específicos de melanoma derivados de pacientes portadores de melanoma. Estas foram denominadas proteínas MAGE e posteriormente descobriu-se que eram expressas em outros tumores além dos

melanomas, incluindo carcinomas da bexiga, da mama, da pele, do pulmão, da próstata e alguns sarcomas, bem como em testículos normais. Subsequentemente à identificação dos genes MAGE, foram identificadas várias outras famílias de genes não relacionados que codificam antígenos de melanoma reconhecidos por clones de CTL derivados de pacientes com melanoma. Como as proteínas MAGE, estes antígenos de melanoma são silenciosos na maioria dos tecidos normais, exceto nos testículos ou trofoblastos na placenta, mas são expressos em vários tumores malignos. Foram identificadas mais de 40 famílias diferentes de antígenos de câncer/testículos. Cerca de metade é codificada por genes no cromossomo X; o restante é codificado por genes distribuídos ao longo do genoma. Apesar de ter sido demonstrado que alguns antígenos de câncer/testículos regulem a transcrição ou tradução de outros genes, as funções da maior parte destas proteínas são desconhecidas. Em geral, não são necessários para o fenótipo maligno das células, e as suas sequências são idênticas às de genes correspondentes em células normais; isto é, eles não são mutados. Vários antígenos de câncer/testículos ligados ao X estão sendo usados em testes de vacinas tumorais.

## Antígenos de Vírus Oncogênicos

***Os produtos de vírus oncogênicos funcionam como antígenos tumorais e induzem respostas de células T específicas que podem servir para erradicar tumores.*** Vírus de DNA estão envolvidos no desenvolvimento de uma variedade de tumores em humanos e em animais experimentais. Exemplos em seres humanos incluem o vírus Epstein-Barr (EBV), que está associado ao linfoma de células B e ao carcinoma nasofaríngeo; o Papilomavírus humano (HPV), que está associado ao carcinoma do colo do útero, orofaringe e em outros locais; o Herpes-vírus associado ao sarcoma de Kaposi (KSHV/HHV-8), associado a tumores vasculares. Os Papovavírus, incluindo Poliomavírus e Vírus símio 40 (SV40), e adenovírus induzem tumores malignos em roedores recém-nascidos ou adultos imunodeficientes. Na maioria destes tumores induzidos por vírus de DNA, os antígenos proteicos codificados pelos vírus são encontrados no núcleo, citoplasma ou membrana plasmática das células tumorais. Estas proteínas virais sintetizadas endogenamente podem ser processadas e apresentadas por moléculas do MHC na superfície da célula tumoral. Como os peptídeos virais são antígenos estranhos, os tumores induzidos pelos vírus de DNA estão entre os tumores mais imunogênicos conhecidos.

A capacidade da imunidade adaptativa de impedir o crescimento de tumores induzidos por vírus de DNA foi comprovada por meio de várias observações. Por exemplo, os linfomas associados ao EBV e cânceres de colo do útero associados ao HPV surgem com maior frequência em indivíduos imunossuprimidos, como pacientes transplantados que fazem terapia imunossupressora e pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), do que em indivíduos saudáveis, e o sarcoma de



Kaposi ocorre mais comumente nos pacientes com AIDS. Estudos com transplantes de tumores do tipo ilustrado na [Figura 18-2](#) demonstraram que os animais podem ser imunizados especificamente contra tumores induzidos por vírus de DNA e rejeitam transplantes destes tumores. Ao contrário dos antígenos de tumores induzidos por MCA, que são produtos de genes celulares mutados aleatoriamente, os antígenos tumorais codificados pelos vírus não são exclusivos para cada tumor, mas são compartilhados por todos os tumores induzidos pelo mesmo tipo de vírus.

A constatação de que as respostas imunes contra o vírus protegem os indivíduos de cânceres induzidos pelos vírus levou ao desenvolvimento de vacinas contra vírus oncogênicos. Por exemplo, a vacina contra o HPV, usada atualmente por homens e mulheres, tem reduzido a incidência de lesões uterinas pré-malignas em mulheres vacinadas. A vacina é composta por proteínas recombinantes do capsídeo do HPV de cepas oncogênicas mais comuns, que formam as partículas semelhantes aos vírus livres do genoma viral. A vacinação contra o vírus da hepatite B reduziu a incidência de câncer hepático. Neste caso, o vírus não é oncogênico, mas promove o desenvolvimento de câncer hepático provavelmente por meio da indução de inflamação crônica, que é um fator de risco para desenvolvimento de câncer (discutido mais adiante neste capítulo).

Vírus tumorais de RNA (retrovírus) são importantes causas de tumores em animais. Produtos de oncogenes retrovirais, teoricamente, apresentam as mesmas potenciais propriedades antigênicas que os oncogenes celulares mutados e respostas imunes humorais e mediadas por células contra os produtos de genes retrovirais nas células tumorais podem ser observadas experimentalmente. O único retrovírus humano bem definido conhecido por causar tumores é o vírus linfotrópico da célula T humana tipo 1 (HTLV-1), agente etiológico da leucemia/linfoma de células T de adultos (ATL), um tumor maligno de células T CD4<sup>+</sup>. Embora respostas imunes específicas contra antígenos codificados pelo HTLV-1 tenham sido demonstradas em indivíduos infectados com o vírus, não está esclarecido se desempenham um papel na imunidade protetora contra o desenvolvimento dos tumores. Além disso, pacientes com ATL estão, muitas vezes, profundamente imunossuprimidos, provavelmente porque o vírus infecta as células T CD4<sup>+</sup> e induz alterações funcionais nestas células.

## Antígenos Oncofetais

***Antígenos oncofetais são proteínas expressas em níveis elevados nas células cancerosas e em condições normais de desenvolvimento de tecidos fetais, mas não em adultos.*** Acredita-se que os genes que codificam estas proteínas são silenciados durante o desenvolvimento e são reativados na transformação maligna. Os antígenos oncofetais são identificados por meio de anticorpos produzidos em outras espécies, e sua principal importância é a de fornecer marcadores que auxiliam no diagnóstico de tumores. No entanto, a sua

expressão em adultos não está limitada aos tumores, mas encontra-se aumentada em tecidos e na circulação em várias condições inflamatórias, sendo estes encontrados em pequenas quantidades, mesmo nos tecidos normais. Não há evidências de que os antígenos oncofetais sejam importantes indutores ou alvos da imunidade antitumoral. Os dois antígenos oncofetais mais bem caracterizados são o antígeno carcinoembrionário (CEA) e a  $\alpha$ -fetoproteína (AFP).

O CEA (CD66) é uma proteína de membrana altamente glicosilada que é um membro da superfamília de imunoglobulinas (Ig) e funciona como uma molécula de adesão intercelular. A alta expressão do CEA normalmente está restrita às células do intestino, pâncreas, fígado e durante os dois primeiros trimestres da gravidez, e uma expressão reduzida é observada na mucosa de colo do intestino normal no adulto e na mama durante a lactação. A expressão do CEA está elevada em muitos carcinomas do colo do intestino, pâncreas, estômago e da mama, e os níveis séricos encontram-se aumentados nestes pacientes. O nível sérico do CEA é utilizado para monitorar a persistência ou recorrência de tumores após tratamento, mas não é um marcador de diagnóstico porque o CEA sérico também pode estar elevado em quadros de doenças não neoplásicas, como doenças inflamatórias crônicas do intestino ou fígado.

A AFP é uma glicoproteína circulante normalmente sintetizada e secretada na vida fetal pelo saco vitelino e pelo fígado. As concentrações séricas fetais podem ser tão elevadas quanto 2 a 3 mg/mL, mas na vida adulta, a proteína é substituída pela albumina, e apenas níveis baixos estão presentes no plasma. Os níveis séricos da AFP podem estar significativamente elevados em pacientes com carcinoma hepatocelular, tumores de células germinativas, e, ocasionalmente, cânceres gástrico e pancreático. Um nível sérico elevado de AFP é um indicador de tumores hepáticos ou de células germinativas avançados ou de recidiva destes tumores após o tratamento. Além disso, a detecção da AFP em cortes de tecido por meio de técnicas de imuno-histoquímicas pode ajudar na identificação histopatológica das células tumorais. Da mesma forma que o CEA, a AFP sérica não é um marcador útil para o diagnóstico de tumores, porque níveis elevados também são encontrados em doenças não neoplásicas, como a cirrose hepática.

## Antígenos Glicolipídicos e Glicoproteicos Alterados

***A maioria dos tumores humanos e experimentais expressam níveis acima do normal ou formas anormais de glicoproteínas e glicolipídios de superfície, que podem ser marcadores de diagnóstico e alvos para terapia.*** Estas moléculas alteradas incluem gangliosídeos, antígenos do grupo sanguíneo e mucinas. Alguns aspectos do fenótipo maligno dos tumores, incluindo a invasão tecidual e o comportamento metastático, podem refletir propriedades alteradas da superfície celular, resultantes da síntese de glicolipídios e glicoproteínas anormais.

Foram criados em animais muitos anticorpos capazes de reconhecer grupos de carboidratos ou núcleos peptídicos destas moléculas. Embora a maioria dos epítomos reconhecidos por estes anticorpos não seja especificamente expressa em tumores, eles estão presentes em níveis mais elevados em células cancerosas do que nas células normais. Esta classe de antígenos associados a tumores é um alvo para a terapia com anticorpos específicos contra o câncer.

Os gangliosídeos, incluindo GM2, GD2, GD3 e, são glicolipídios expressos em níveis elevados em neuroblastomas, melanomas e diversos sarcomas. Em função da expressão seletiva do tumor destas moléculas, elas são alvos interessantes para terapias específicas contra tumores, como terapia com anticorpos. Estudos clínicos com anticorpos antigangliosídeos e imunização com vacinas de gangliosídeos estão em andamento em pacientes com melanoma. As mucinas são glicoproteínas de elevado peso molecular que contêm inúmeras cadeias laterais de carboidratos O-ligadas a um núcleo polipeptídico. Os tumores frequentemente apresentam uma expressão desregulada das enzimas que sintetizam estas cadeias laterais de carboidratos, o que leva ao aparecimento de epítomos específicos de tumores nas cadeias laterais carboidratos ou no núcleo polipeptídico anormalmente exposto. Várias mucinas são objeto de estudos diagnósticos e terapêuticos, incluindo CA-125 e CA-19-9, expressa em carcinomas de ovário, e a MUC-1, expressa em carcinomas da mama e do colo do intestino. Ao contrário de muitas mucinas, a MUC-1 é uma proteína integral da membrana, normalmente expressa apenas na superfície apical do epitélio ductal da mama, região relativamente isolada do sistema imunológico. No carcinoma ductal da mama, no entanto, a molécula está expressa de forma despolarizada, contendo novos epítomos peptídicos e de carboidratos específicos de tumores detectáveis por anticorpos monoclonais de camundongos. Os epítomos peptídicos induzem respostas de anticorpos e de células T em pacientes com câncer, e esforços estão sendo realizados para desenvolver vacinas que contenham formas imunogênicas de epítomos de MUC-1.

## Antígenos de Diferenciação Tecido-Específicos

***Os tumores podem expressar moléculas que são normalmente expressas apenas nas células de origem do tumor e não nas células de outros tecidos.***

Estes antígenos são denominados antígenos de diferenciação porque são específicos para determinadas linhagens ou estágios de diferenciação de vários tipos de células. A sua importância é de potenciais alvos para a imunoterapia e para identificação do tecido de origem dos tumores. Por exemplo, vários antígenos de melanoma que são alvos dos CTL nos pacientes são antígenos de diferenciação de melanócitos, como a tirosinase, mencionada anteriormente. Os linfomas podem ser diagnosticados como tumores derivados de células B por meio da detecção de marcadores de superfície característicos desta linhagem, como o CD10

(anteriormente chamado antígeno da leucemia linfoblástica aguda comum, ou CALLA) e o CD20. Anticorpos contra estas moléculas também são utilizados para a imunoterapia antitumoral; a imunoterapia mais bem-sucedida para os linfomas de células B não Hodgkin é com um anticorpo anti-CD20 (rituximab). Estes antígenos de diferenciação são moléculas próprias normais, e, portanto, normalmente não induzem fortes respostas imunes em hospedeiros portadores de tumor.

## Respostas imunes aos tumores

***Foi demonstrado que respostas imunes adaptativas, mediadas principalmente por células T, controlam o desenvolvimento e a progressão de tumores malignos.*** Ambas as respostas imunes inata e adaptativa podem ser detectadas em pacientes e animais experimentais, e diversos mecanismos imunes podem eliminar células tumorais *in vitro*. O desafio para os imunologistas de tumores é determinar quais destes mecanismos podem contribuir de forma significativa para a proteção contra tumores e melhorar estes mecanismos efetores de forma que sejam específicos para o tumor. Nesta seção, revisaremos as evidências da eliminação de tumores por vários mecanismos imunes efetores e discutiremos quais seriam, provavelmente, os mais relevantes para os tumores humanos.

## Linfócitos T

***O principal mecanismo de proteção imune adaptativa contra tumores está na eliminação das células tumorais por CTL CD8<sup>+</sup>.*** A capacidade dos CTLs de proporcionar imunidade antitumoral eficaz *in vivo*, pode ser observada claramente em estudos experimentais com animais usando tumores induzidos por carcinógenos e por vírus de DNA. Como discutido anteriormente, os CTLs podem desempenhar uma função de vigilância por reconhecer e destruir células potencialmente malignas que expressam peptídeos derivados de antígenos tumorais que são apresentados associados a moléculas do MHC de classe I. CTLs específicos de tumor podem ser isolados de animais e seres humanos com tumores estabelecidos, e há evidências de que o prognóstico dos tumores humanos, incluindo tumores comuns, como carcinomas do colo do intestino, é mais favorável quanto mais CTLs estiverem presentes no interior do tumor. Além disso, células mononucleares derivadas do infiltrado inflamatório em tumores sólidos humanos, denominadas de linfócitos infiltrantes do tumor (TILs), contêm CTL com a capacidade de destruir o tumor a partir do qual foram derivadas. Essencialmente, a incapacidade de detectar CTLs específicos de tumores em alguns pacientes pode ser devido a mecanismos de regulação explorados pelo tumor. Um dos resultados mais impressionantes de ensaios clínicos recentes é que o bloqueio destas vias inibitórias, eliminando, assim, as contenções das respostas imunes, induz o desenvolvimento de fortes respostas

de células T contra o tumor. Voltaremos a esse conceito mais adiante neste capítulo

**As respostas de células T CD8<sup>+</sup> específicas para antígenos tumorais podem exigir apresentação cruzada dos antígenos tumorais pelas células dendríticas.** A maioria das células tumorais não são derivadas de APCs e, portanto, não expressa os coestimuladores necessários para iniciar as respostas das células T ou das moléculas de MHC de classe II necessárias para estimular as células T auxiliares, que promovem a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup>. Uma explicação provável de como as respostas das células T contra tumores são iniciadas é e que as células tumorais ou seus antígenos sejam ingeridos pelas APCs do hospedeiro, particularmente pelas células dendríticas, e os antígenos tumorais sejam processados no interior das APCs. Os peptídeos derivados destes antígenos são em seguida exibidos ligados às moléculas do MHC de classe I para reconhecimento pelas células T CD8<sup>+</sup>. As APCs expressam coestimuladores que fornecem os sinais necessários para a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> em CTLs antitumorais. Este processo de apresentação cruzada, ou *cross-priming*, foi descrito nos capítulos anteriores (Fig. 6-20). Uma vez sendo gerados os CTL efetores, eles são capazes de reconhecer e destruir as células tumorais sem a necessidade de haver uma coestimulação. A aplicação prática do conceito de *cross-priming* é de cultivar as células dendríticas de um paciente com câncer, incubar as APCs com células ou antígenos do tumor desse paciente, e utilizar estas APCs pulsadas com antígenos como vacinas para estimular a resposta de células T antitumorais.

A importância das células T CD4<sup>+</sup> auxiliares na imunidade tumoral está menos esclarecida. As células CD4<sup>+</sup> podem desempenhar um papel nas respostas imunes antitumorais, proporcionando citocinas para a diferenciação de células T CD8<sup>+</sup> *naive* e de memória em CTL efetores (Cap. 11). Além disso, as células T auxiliares específicas para antígenos tumorais são capazes de secretar citocinas, como TNF e IFN- $\gamma$ , que podem aumentar expressão do MHC de classe I pelas células tumorais e a sensibilidade à lise por CTLs. O IFN- $\gamma$  também pode ativar macrófagos para eliminar células tumorais. A importância do IFN- $\gamma$  na imunidade antitumoral é demonstrada pelo achado de que há aumento da incidência de tumores em camundongos *knockout* desprovidos dessa citocina, o receptor de IFN- $\gamma$  ou dos componentes da cascata de sinalização do receptor de IFN- $\gamma$ .

## Anticorpos

Hospedeiros portadores de tumores podem produzir anticorpos contra vários antígenos tumorais. Por exemplo, pacientes com linfomas associados ao EBV apresentam anticorpos séricos contra antígenos codificados pelo EBV expressos na superfície das células do linfoma. Os anticorpos podem destruir as células tumorais

através da ativação do complemento ou por citotoxicidade dependente de anticorpos, na qual macrófagos portadores do receptor Fc ou células NK medeiam a eliminação. No entanto, a capacidade dos anticorpos de eliminar as células tumorais tem sido amplamente demonstrada *in vitro*, e há poucas evidências de respostas imunes humorais efetivas contra tumores. Alguns anticorpos antitumorais terapêuticos efetivos estão sendo administrados passivamente a pacientes propensos a desenvolver a citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos, como discutiremos mais adiante.

## Células *Natural Killer* (NK) (Assassinas Naturais)

**As células NK eliminam muitos tipos de células tumorais, especialmente células que apresentam expressão diminuída do MHC de classe I e expressam ligantes para receptores de ativação da célula NK.** *In vitro*, as células NK podem destruir células infectadas por vírus e certas linhagens de células tumorais, especialmente de tumores hematopoéticos. As células NK também respondem à ausência de moléculas do MHC de classe I porque o reconhecimento destas proporciona sinais inibidores para as células NK (Fig. 4-8). Como veremos mais adiante, alguns tumores perdem a expressão de moléculas do MHC de classe I, talvez como resultado da seleção contra as células que expressam MHC de classe I pelos CTLs. Esta perda de moléculas do MHC de classe I torna os tumores bons alvos particularmente para as células NK. Alguns tumores também expressam MIC-A, MIC-B, e ULB, que são ligantes de ativação do receptor NKG2D nas células NK. Além disso, as células NK podem ser direcionadas para as células tumorais revestidas por anticorpo IgG pelos receptores Fc (Fc RIII  $\gamma$  ou CD16). A capacidade tumoricida das células NK é aumentada pelas citocinas, incluindo o interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-15 e IL-12, e os efeitos antitumorais destas citocinas são parcialmente atribuídos à estimulação da atividade das células NK. As células NK ativadas por IL-2, chamadas de células assassinas ativadas por linfocina (LAK), são obtidas por cultura de células em doses elevadas de IL-2 a partir do sangue periférico ou de linfócitos infiltrativos do tumor de pacientes com tumores. Estas células são as assassinas mais potentes de tumores do que as células NK não ativadas. A utilização de células LAK na imunoterapia adaptativa de tumores será discutida posteriormente.

A importância das células NK na imunidade contra tumores, *in vivo*, não está clara. Em alguns estudos sugeriu-se que camundongos deficientes de células T não apresentam alta incidência de tumores espontâneos devido à presença de números normais de células NK que desempenham a função de vigilância imune. Já foram descritos alguns poucos pacientes com deficiência de células NK e alta incidência de linfomas associados ao EBV.

## Macrófagos



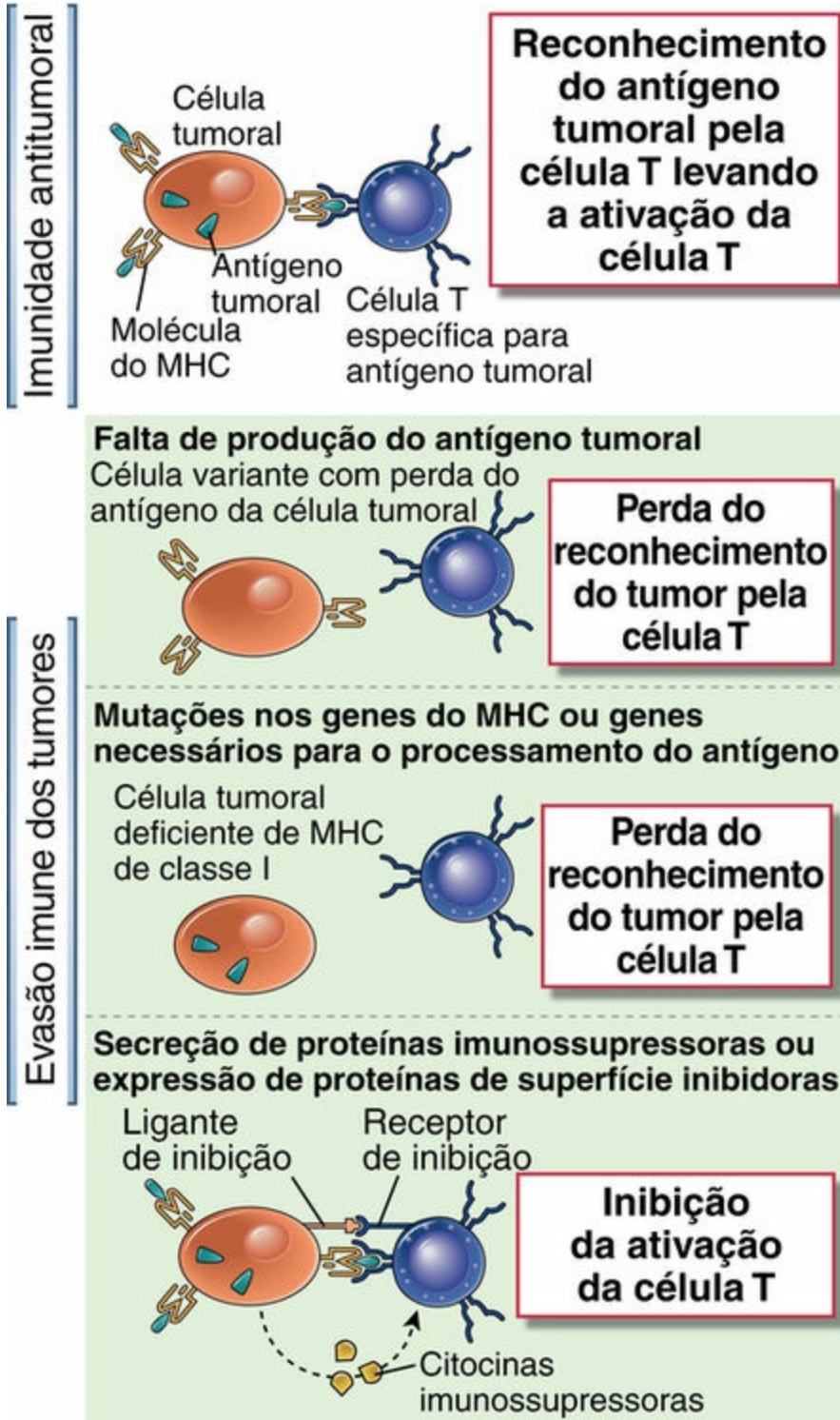
**Os macrófagos são capazes tanto de inibir como de promover o crescimento e a propagação de cânceres, dependendo do seu estado de ativação.**

Classicamente, os macrófagos M1 ativados, discutidos no [capítulo 10](#), podem destruir muitas células tumorais. Como os macrófagos são ativados por tumores não foi descoberto ainda. Possíveis mecanismos incluem o reconhecimento de padrões moleculares associados a danos a partir das células tumorais em processo de morte por macrófagos TLRs e outros receptores da imunidade inata, e ativação dos macrófagos pelo IFN- $\gamma$  produzido pelas células T específicas do tumor. Macrófagos M1 podem destruir células tumorais por mecanismos que eles também usam para matar organismos infecciosos. Entre estes está a produção de óxido nítrico (NO), que, como já demonstrado, destrói tumores *in vitro* e em modelos murinos *in vivo*.

Existem evidências de que alguns macrófagos em tumores contribuem para a progressão tumoral e apresentam um fenótipo M2. Estas células secretam fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator transformador do crescimento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), e outros fatores solúveis que promovem a angiogênese tumoral. O papel destas células e de outros componentes da resposta do hospedeiro no crescimento tumoral será discutido no final deste capítulo.

## **Evasão tumoral das respostas imunes**

Muitos tumores malignos desenvolvem mecanismos que lhes permitem escapar das respostas imunes antitumorais. Estes mecanismos podem ser divididos entre aqueles que são intrínsecos às células tumorais e aqueles que são mediados por outras células ([Fig. 18-3](#)). Um dos principais focos da imunologia de tumores é compreender os mecanismos de evasão imune dos tumores, com a esperança de que intervenções que evitem a evasão imune aumentem a imunogenicidade dos tumores e maximizem as respostas do hospedeiro.



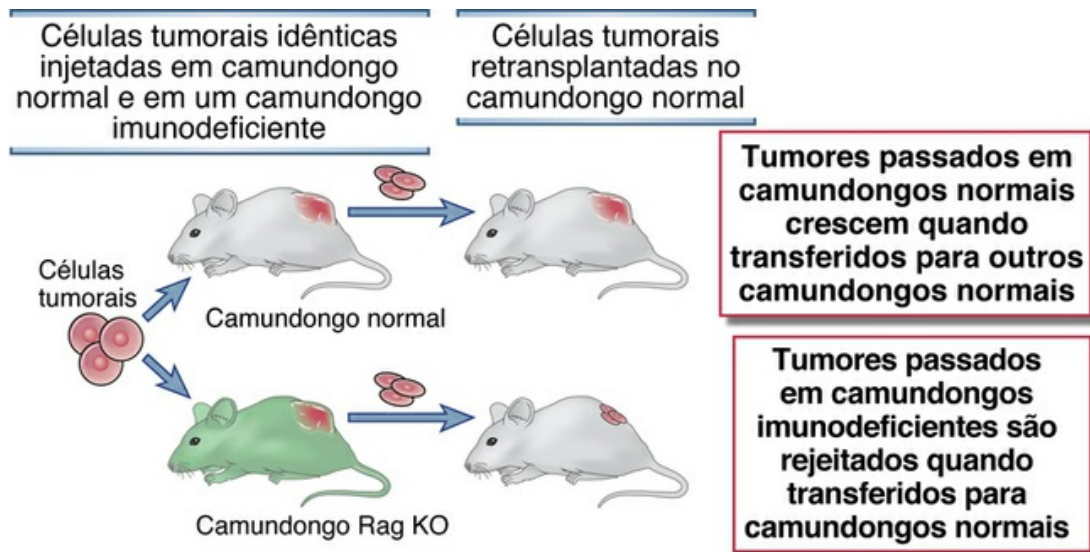
**FIGURA 18-3** Mecanismos pelos quais os tumores escapam das defesas imunes.

A imunidade antitumoral desenvolve-se quando as células reconhecem antígenos tumorais e são ativadas. As células tumorais podem evadir das respostas imunes por meio da perda da expressão de antígenos ou moléculas do MHC ou pela produção de ligantes para receptores inibidores das

células T e citocinas imunossupressoras.

## Escape do Reconhecimento Imune por Perda da Expressão de Antígeno

***As respostas imunes contra células tumorais conferem pressões seletivas que resultam na sobrevivência e no crescimento de células tumorais variantes com imunogenicidade reduzida, um processo que tem sido chamado de imunoedição tumoral.*** Por exemplo, quando os tumores são induzidos por tratamento com carcinógenos em camundongos imunodeficientes ou imunocompetentes, e os tumores são então transplantados para outros camundongos imunocompetentes, os tumores que foram obtidos a partir dos camundongos imunodeficientes são mais rejeitados com mais frequência pelo sistema imune do animal receptor do que os tumores derivados dos camundongos imunocompetentes (Fig. 18-4). Este resultado indica que os tumores que se desenvolveram na configuração de um sistema imune normal, se tornam menos imunogênicos ao longo do tempo, o que é consistente com a seleção de células variantes menos imunogênicas. Dada a elevada taxa mitótica das células tumorais e a sua instabilidade genética, mutações ou deleções em genes que codificam antígenos tumorais são comuns. Se estes antígenos não são necessários para o crescimento de tumores ou a manutenção do fenótipo transformado, as células de tumor antígeno-negativas apresentam uma vantagem de crescimento em relação ao sistema imune do hospedeiro. Assim, acredita-se que a imunoedição tumoral seja a base do surgimento de tumores que escapam da vigilância imune.



**FIGURA 18-4** Imunoedição tumoral.

Este experimento demonstra que as células tumorais que crescem sob pressão seletiva do sistema imune normal serão editadas de forma a se obter células tumorais que possam escapar da imunidade. As células sobreviverão após transferência para um hospedeiro secundário. De forma contrária, tumores removidos de um camundongo RAG KO, sem sistema imune adaptativo, não sentirão as mesmas pressões seletivas, permanecerão imunogênicos e serão rejeitadas após transferência para um camundongo normal.

Além da perda de antígenos específicos do tumor, a expressão do MHC de classe I pode estar regulada negativamente nas células tumorais de modo que não pode ser reconhecida pelos CTLs. Vários tumores exibem diminuição da síntese de moléculas do MHC de classe I, microglobulina- $\beta 2$ , ou de componentes da maquinaria de processamento do antígeno, incluindo o transportador associado ao processamento do antígeno e algumas subunidades do proteassoma. Estes mecanismos são presumivelmente adaptações dos tumores que surgem em resposta às pressões seletivas da imunidade do hospedeiro, e podem permitir que as células tumorais escapem das respostas imunes mediadas por células T. No entanto, não existe uma correlação clara entre o nível de expressão do MHC em uma ampla variedade de células tumorais humanas e experimentais ou o crescimento *in vivo* destas células.

## Inibição Ativa das Respostas Imunes

**Os tumores podem envolver mecanismos inibitórios que suprimem as respostas imunes.** Existem fortes evidências experimentais e clínicas, de que a resposta das células T para alguns tumores são inibidas pelo envolvimento de CTLA-4 ou PD-1, duas das vias inibitórias mais bem definidas nas células T (Cap. 15). Uma

possível razão para esse papel de CTLA-4 é que os antígenos tumorais são apresentados pelas APCs na ausência de uma forte imunidade inata e, então, com baixos níveis de coestimuladores de B7. Estes níveis baixos podem ser suficientes para ocupar o receptor de alta afinidade CTLA-4. PD-L1, uma proteína da família B7 que é um ligante do receptor inibitório de DP-1 das células T (Cap. 15), é expressa em muitos tumores humanos e estudos em animais indicam que as respostas antitumorais das células T ficam comprometidas pela expressão de PD-L1. PD-L1 nas APCs também pode estar envolvida na inibição da ativação de células T específicas do tumor. Como discutiremos mais adiante, o bloqueio das vias de CTLA-4 e PD-L1/PD-1 já está sendo usado clinicamente para melhorar a imunidade tumoral.

**Produtos secretados pelas células tumorais podem suprimir as respostas imunes antitumorais.** Um exemplo de produto tumoral imunossupressor é o TGF- $\beta$ , secretado em grandes quantidades por muitos tumores e inibe a proliferação e as funções efetoras dos linfócitos e macrófagos (Cap. 15).

**As células T regulatórias podem suprimir a resposta antitumoral das células T.** Evidência a partir de sistemas de modelos murinos e pacientes com câncer que indicam que o número de células T regulatórias está elevado em indivíduos portadores de tumores e as células podem ser encontradas em infiltrados celulares em certos tumores. A depleção de células T regulatórias em camundongos portadores de tumor aumenta a imunidade antitumoral e reduz o crescimento do tumor.

**Macrófagos associados a tumores podem promover o crescimento tumoral e invasão por alterar o microambiente do tecido e por supressão de respostas das células T.** Estes macrófagos apresentam um fenótipo M2, como discutido anteriormente de forma breve, e secretam mediadores, como IL-10 e prostaglandina E<sub>2</sub>, que prejudicam as funções ativadoras e efetoras das células T. Por outro lado, macrófagos associados aos tumores também secretam fatores que promovem a angiogênese, como TGF- $\beta$  e VEGF, que podem favorecer o crescimento do tumor.

**Células supressoras mieloide-derivadas (MDSCs) são precursores mielóides imaturos recrutados a partir da medula óssea e que se acumulam nos tecidos linfóides, sangue ou tumores de animais portadores de tumores e pacientes com câncer e suprimem as respostas das células T e inatas antitumorais.** As MDSCs são um conjunto heterogêneo de tipos celulares, incluindo precursores de células dendríticas, monócitos e neutrófilos. Eles compartilham alguns marcadores de superfície comuns, como Ly6C ou Ly6G e CD11b em camundongos e CD33, CD11b e CD15 em humanos. O recrutamento das MDSCs da medula óssea para linfonodos e outros tecidos é induzido por vários mediadores pró-inflamatórios produzidos pelos tumores. Estes mediadores, dentre os quais se inclui a prostaglandina E<sub>2</sub>, IL-6, VEGF e fragmento C5a do complemento, não são específicos para tumores, e, na verdade, as MDSCs se acumulam nos locais de inflamação crônica não relacionados aos tumores. As MDSCs suprimem as respostas



imunes inatas por meio da secreção de IL-10, que inibe várias funções inflamatórias dos macrófagos ativados e das células dendríticas. As MDSCs também suprimem as respostas das células T, por meio de diversos mecanismos. Elas geram radicais livres que inibem a ativação das células T, como peroxinitrito, e produzem indolamina 2,3-disoxigenase, que cataboliza o triptofano necessário para a proliferação das células T. As MDSCs afetam indiretamente a resposta antitumoral das células T através da indução do desenvolvimento de linfócitos T regulatórios e distorcendo a diferenciação das células T auxiliares em relação às células T<sub>H</sub>2.

## Imunoterapia para tumores

O potencial para o tratamento de pacientes com câncer através de abordagens imunológicas é promissor para oncologistas e imunologistas por muitos anos. A principal razão para interesse em uma abordagem imunológica é que a maioria das terapias atuais para o câncer depende de medicamentos que destroem as células em divisão ou a divisão celular e estes tratamentos têm efeitos nocivos sobre as células normais em proliferação. Como consequência, o tratamento do câncer é causa de morbidade e mortalidade significativas. As respostas imunes contra tumores podem ser específicas para antígenos tumorais e não lesarão a maioria das células normais. Assim, a imunoterapia apresenta o potencial para ser o tratamento mais específico que pode ser concebido contra os tumores. Avanços na compreensão do sistema imunológico e na definição dos antígenos das células tumorais têm incentivado muitas estratégias novas. A imunoterapia contra tumores tem como objetivo aumentar a resposta imunológica fraca do hospedeiro contra os tumores (imunização ativa) ou para administrar anticorpos ou células T específicos contra tumores, uma forma de imunidade passiva. Nesta seção, descrevemos algumas formas de imunoterapia tumoral que foram experimentadas no passado ou que estão sendo investigadas atualmente.

## Estimulação das Respostas Imunes Ativas do Hospedeiro contra Tumores

As primeiras tentativas de aumentar a imunidade antitumoral basearam-se na estimulação imune inespecífica. Mais recentemente, vacinas compostas de células tumorais mortas, antígenos tumorais ou células dendríticas incubadas com antígenos tumorais foram administradas a pacientes, e estratégias para aumentar as respostas imunes contra os tumores estão sendo desenvolvidas.

### Vacinação com Antígenos Tumorais

**A imunização de indivíduos portadores de tumores com antígenos tumorais resulta em melhora da resposta imune contra o tumor. A identificação de**



peptídios reconhecidos por CTLs específicos do tumor e a clonagem de genes que codificam antígenos específicos de tumores reconhecidos por CTL têm fornecido muitos antígenos candidatos a vacinas tumorais (Tabela 18-2). Para antígenos que são exclusivos de um único tumor, como antígenos produzidos por mutações pontuais aleatórias em genes celulares, abordagens personalizadas de vacinação já estão sendo tentadas. Uma abordagem que tem demonstrado algum sucesso é a utilização de peptídios imunogênicos longos que contêm alterações de aminoácidos individuais correspondentes às mutações do tumor, juntamente com adjuvantes selecionados.

**Tabela 18-2**

**Vacinas Tumorais**

Tipo de antígeno	Exemplos	Características
Produtos de genes mutados	FNDC3B (para CLL), NeoVax	Epítomos gerados a partir de mutações tumorais somáticas; não presentes em células normais
Proteínas celulares não mutadas, mas superexpressas	Gp100, Tirosinase (melanoma)	Proteínas nativas; preferencialmente superexpressas em tumores
Antígenos do câncer/testículos	NY-ESO1	Expressão aberrante em células tumorais; não presentes nos tecidos com diferenciação normal
Células tumorais inativadas inteiras/lisadas de células tumorais	GVAX, canavaxina	Misturas complexas de antígenos geradas a partir de células tumorais autólogas ou linhagens de células malignas humanas
Antígenos associados à HSP	HSPPC-96	Proteínas com dobramento errôneo ligadas a HSPs destinadas a degradação pelo proteossoma
Tumor <i>in situ</i>	oncoVAX	Infecção de células tumorais <i>in situ</i> com um vírus oncolítico que pode iniciar uma reação imune que se estende sistemicamente

CLL, leucemia linfocítica crônica; HSP, proteína de choque térmico.

Esta tabela foi compilada com a ajuda do Dr. Catherine Wu, do *Dana-Farber Cancer Institute and Harvard Medical School*, Boston, Massachusetts.

**Estratégias de vacinação contra tumores empregam vários adjuvantes e métodos de liberação.**

- Moléculas pró-inflamatórias são usadas para aumentar o número de células dendríticas ativadas no local de vacinação. Estes adjuvantes incluem ligantes de TLR, tal como o RNAs, DNA CpG, BCG e citocinas, como CSF-GM e IL-12.
- Os antígenos tumorais são liberados na forma de vacinas de células dendríticas. Nesta abordagem, as células dendríticas são purificadas a partir dos pacientes, incubadas com os antígenos tumorais e, em seguida, injetadas de volta nos pacientes. Atualmente, uma vacina com base celular está aprovada para o tratamento do câncer da próstata avançado. Esta vacina é composta de um preparado de leucócitos do sangue periférico de um paciente enriquecido em células dendríticas, que são expostas a uma proteína de fusão recombinante que

consiste de fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) e fosfatase ácida prostática do antígeno associado ao tumor. O GM-CSF promove a maturação das células dendríticas, que apresentam o antígeno tumoral e estimulam as respostas antitumorais das células T.

- Outra abordagem consiste na utilização de vacinas de DNA e vetores virais que codificam antígenos tumorais; algumas delas estão sob estudos clínicos ativos ou planejados. As vacinas à base de células e DNA podem ser a melhor forma para induzir respostas de CTLs porque os antígenos codificados são sintetizados no citoplasma celular, como as células dendríticas, que assumem estes antígenos, plasmídeos e vetores, e peptídios entram na via de apresentação de antígeno do MHC de classe I.

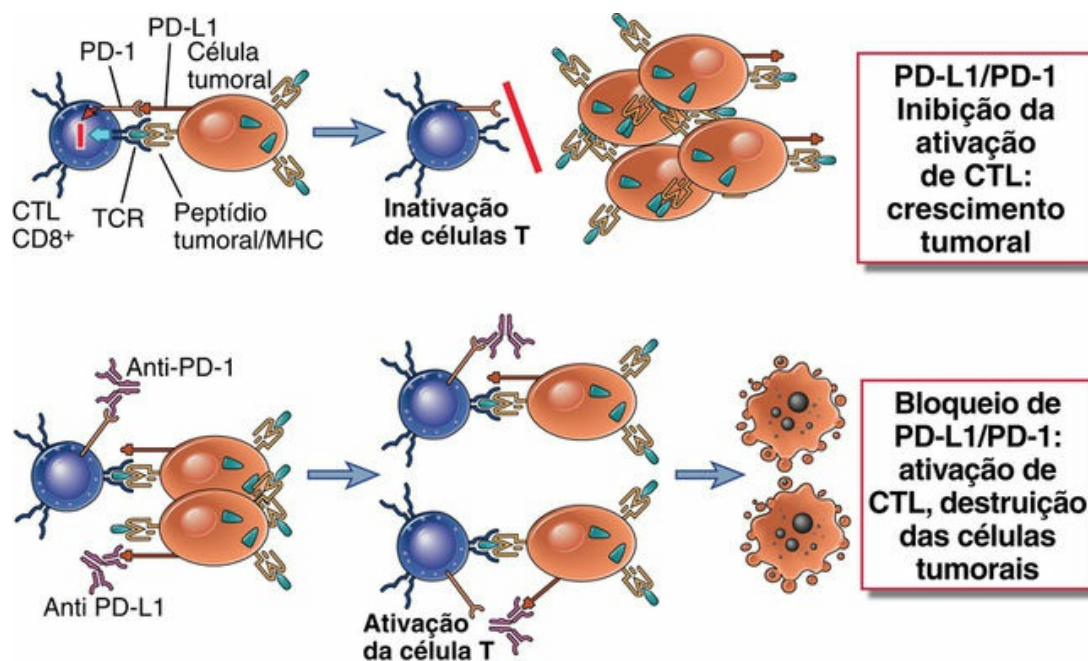
Em geral, os resultados dos ensaios com muitos tipos diferentes de vacinas tumorais têm sido inconsistentes, e isso provavelmente reflete o fato de que uma das características do câncer é evadir da imunidade do hospedeiro. Os tumores costumam fazer isso inibindo respostas imunes. A maioria das vacinas contra tumores são vacinas terapêuticas; elas devem ser administradas após o tumor ser encontrado no hospedeiro (ao contrário de vacinas preventivas para infecções), e, para ser eficaz, deve superar a regulação imune que os cânceres estabelecem.

O desenvolvimento de tumores induzidos por vírus pode ser reduzido pela vacinação preventiva com antígenos virais ou vírus vivos atenuados. Como mencionado anteriormente, as vacinas contra o HPV, recentemente desenvolvidas, têm sido eficazes na redução da incidência de lesões pré-malignas induzidas pelo HPV no colo do útero. Esta abordagem tem sido bastante bem-sucedida na redução da incidência de tumores malignos hematológicos induzidos pelo vírus da leucemia felina em gatos e na prevenção da doença de Marek, um linfoma induzido por Herpes-vírus, em galinhas.

## **Bloqueio de Vias Inibitórias para Promover Imunidade Tumoral**

***O bloqueio de moléculas inibidoras de células T tem emergido como um dos métodos mais promissores para melhorar efetivamente as respostas imunes dos pacientes contra os tumores.*** Esta abordagem baseia-se na ideia de que as células tumorais exploram diversas vias normais de regulação imune ou da tolerância para escapar da resposta imune do hospedeiro, como discutido anteriormente. Uma vez que estes inibidores estabeleçam pontos de verificação (do inglês, *checkpoints*) nas respostas imunes, a abordagem de estimulação das respostas imunes através da remoção de inibição muitas vezes é chamada de **bloqueio dos pontos de verificação**. Um anticorpo específico para o CTLA-4, o receptor inibitório das células T para B7 ( [Capítulo 15](#)), é uma terapia aprovada para o melanoma avançado, e que é eficaz em retardar a progressão dos tumores em muitos pacientes. Este anticorpo pode funcionar não só bloqueando a ação do CTLA-4, mas talvez também depletando as células T regulatórias, que expressam altos níveis de CTLA-4. Como

discutido anteriormente, as respostas das células T contra os tumores também podem ser inibidas pela via de PD-L1/PD-1 (Fig. 18-5). O anticorpo que bloqueia DP-1 ou seu ligante é eficaz no aumento da morte de células T de tumores em camundongos, e vários estudos clínicos em humanos têm mostrado que o bloqueio de DP-1 ou PD-L1 pode limitar a progressão tumoral e reduzir a carga do tumor em pacientes com cânceres avançados. Estudos combinando o bloqueio de DP-1 e CTLA-4 parecem ser muito eficazes. As complicações mais comuns destes tratamentos têm sido as reações autoimunes e inflamatórias, fato previsível levando em consideração as funções conhecidas de CTLA-4 e DP-1 na manutenção da autotolerância e da regulação das respostas das células T, mas estas reações podem ser controladas com uso de medicamentos anti-inflamatórios, como corticoides. Os agentes que bloqueiam a supressão imune e, assim, aumentam as respostas imunes antitumorais podem ser mais eficazes em combinação com vacinas de tumores ou outras medicações que apresentem como alvo as vias moleculares intrínsecas que contribuem para o crescimento tumoral.



**FIGURA 18-5** Bloqueio inibidor de células T.

Pacientes portadores de tumor frequentemente produzem respostas ineficazes das células T contra seus tumores devido à superregulação de receptores inibitórios como PD-1 sobre as células T específicas do tumor e a expressão do ligante PD-L1 nas células tumorais. Os ensaios clínicos que usam anticorpos bloqueadores anti-PD-L1 ou anti-CD-1 têm demonstrado eficácia no tratamento de vários tipos de tumores avançados. Uma estratégia semelhante, utilizando anti-CTLA-4, foi aprovada para o tratamento de melanomas, que pode funcionar através do bloqueio de CTLA-4 nas células efetoras ou Treg.

## **Aumento da Imunidade do Hospedeiro contra Tumores com Citocinas**

**A imunidade mediada por células contra os tumores pode, teoricamente, ser melhorada através do tratamento de indivíduos que possuem tumores com citocinas que estimulam a proliferação e diferenciação de linfócitos T e células NK.** Uma possível abordagem para aumentar a resposta do hospedeiro ao tumor é fornecer artificialmente citocinas que podem aumentar a ativação das células dendríticas e das células T específicas do tumor, particularmente CTL CD8<sup>+</sup>. Muitas citocinas também apresentam o potencial de induzir respostas inflamatórias inespecíficas, o que por si só pode ter uma atividade antitumoral.

A maior experiência clínica com altas doses de IL-2 administradas via intravenosa, que foi eficaz na indução de resposta mensurável de regressão tumoral foi de cerca de 10% em pacientes com melanoma avançado e carcinoma de células renais, e

atualmente é um tratamento aprovado para estes cânceres. No entanto, o uso de altas doses de IL-2 é limitado, porque ela estimula a produção de quantidades tóxicas de citocinas pró-inflamatórias, como TNF e IFN- $\gamma$ , que agem no endotélio vascular e em outras células desencadeando uma síndrome de permeabilidade vascular grave.

O IFN- $\alpha$  está aprovado para o tratamento do melanoma maligno, combinado à quimioterapia, e para tumores carcinoides. Também é utilizado para o tratamento de certos linfomas e leucemias. Os mecanismos dos efeitos antineoplásicos do IFN- $\alpha$  provavelmente incluem a inibição da proliferação das células tumorais, aumento da atividade citotóxica das células NK e aumento da expressão do MHC de classe I nas células tumorais, o que as torna mais susceptíveis à morte mediada por CTL.

Outras citocinas, como TNF e IFN- $\gamma$ , são agentes antitumorais eficazes em modelos animais, mas a sua utilização em pacientes é limitada pelos seus efeitos tóxicos secundários. Fatores de crescimento hematopoéticos incluindo GM-CSF e G-CSF, são utilizados em protocolos de tratamento de câncer para encurtar os períodos de neutropenia e trombocitopenia após a quimioterapia ou transplante autólogo de medula óssea.

## **Estimulação Inespecífica do Sistema Imune**

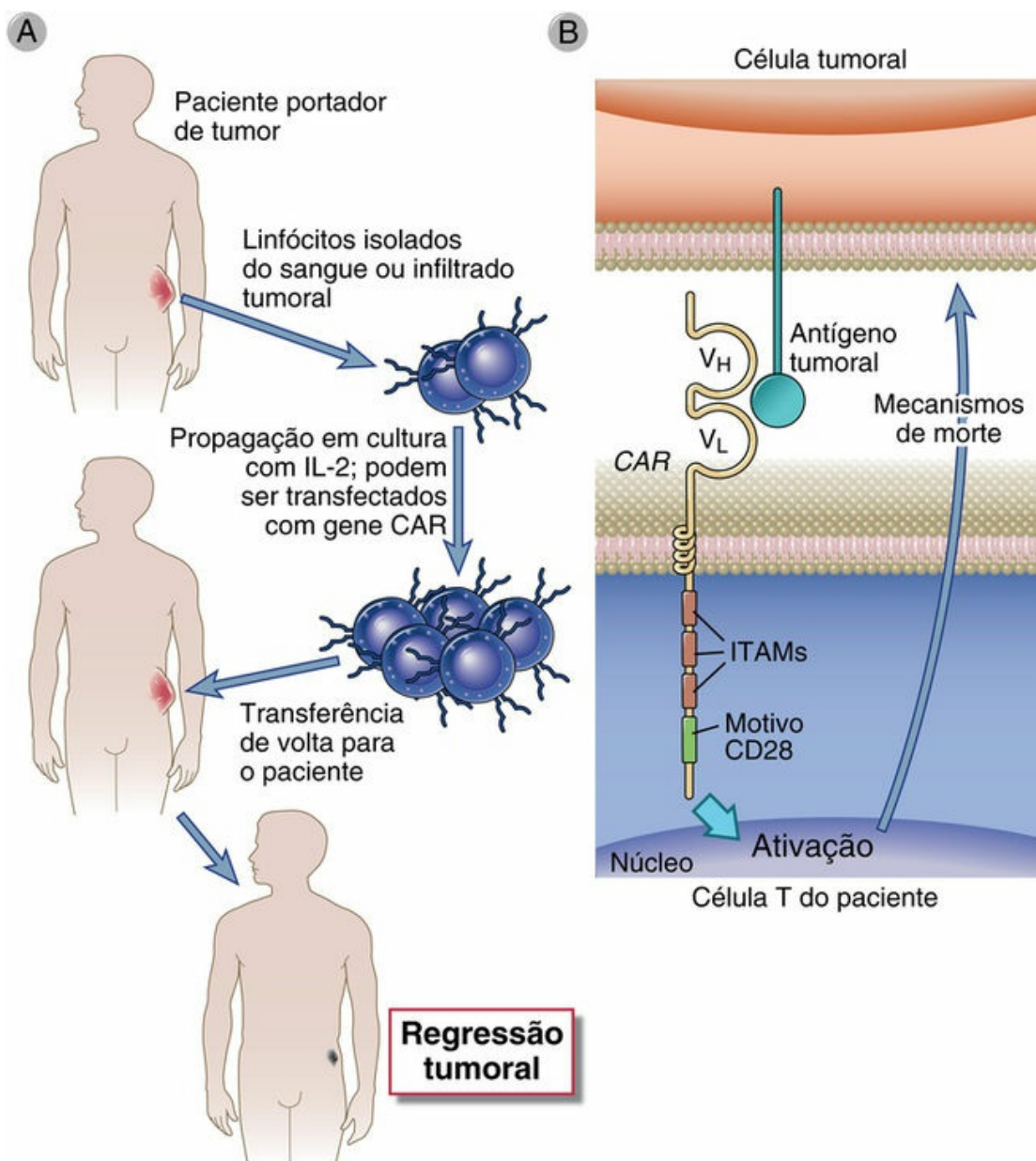
***As respostas imunes a tumores podem ser estimuladas pela administração local de substâncias inflamatórias ou por tratamento sistêmico com agentes que funcionem como ativadores policlonais de linfócitos.*** A estimulação imune inespecífica de pacientes com tumores por meio de injeção de substâncias inflamatórias, como o bacilo de Calmette-Guérin morto (BCG) nos locais de crescimento tumoral tem sido experimentada há muitos anos. As micobactérias BCG ativam os macrófagos e, assim, promovem a morte das células tumorais mediada por macrófagos. Além disso, as bactérias funcionam como adjuvantes e podem estimular respostas de células T contra antígenos tumorais. Atualmente, a BCG intravesicular é usada para o tratamento do câncer de bexiga urinária. O tratamento com citocinas, discutido anteriormente, representa outro método para aumentar as respostas imunes de forma inespecífica.

## **Imunoterapia Passiva para Tumores com Células T e Anticorpos**

Imunoterapia passiva envolve a transferência de efetores imunológicos, incluindo células T e anticorpos específicos para os tumores, para os pacientes. A imunização passiva contra tumores é rápida, mas não leva à imunidade de longa duração. Atualmente, alguns anticorpos antitumorais estão aprovados para o tratamento de certos cânceres. Várias outras abordagens para imunoterapia passiva estão sendo estudadas, com sucesso variável.

## Terapia Celular Adotiva

Imunoterapia celular adaptativa é a transferência de células imunes em cultura que tenham reatividade antitumoral para um hospedeiro portador de tumor. As células do sistema imune são derivadas do sangue ou de um tumor sólido de um paciente com câncer, e, em seguida, são tratadas de várias maneiras para expandir numericamente e melhorar a sua atividade antitumoral, antes da reinfusão no paciente (Fig. 18-6, A).



**FIGURA 18-6** Terapia celular adotiva. Linfócitos isolados do sangue ou de um infiltrado tumoral do paciente podem ser expandidos em cultura em IL-2 e devolvidos por infusão ao paciente (A). Os linfócitos podem



ser transfectados com os genes do CAR (**B**). Este tratamento, muitas vezes combinado à administração sistêmica de IL-2, leva à regressão de tumores em alguns pacientes. Em alguns casos, as células T do paciente podem ser geneticamente transduzidas *ex vivo* para expressar receptores de antígeno quiméricos recombinantes (CARs) antes de serem transferidos de volta para o paciente. CARs (**B**) são compostos por domínios de receptores específicos para antígenos tumorais e domínios de sinalização, como ITAMs e motivos citossólicos de CD28, que promovem uma robusta ativação das células T.

***A terapia adaptativa utilizando células T que expressam receptores de antígeno quimérico (CAR) tem sido bem-sucedida em algumas doenças hematológicas, e esta abordagem está em estudo para outros tumores.*** CARs são receptores construídos geneticamente com locais de ligação específicos para antígenos tumorais codificados por genes Ig-variáveis e caudas citoplasmáticas contendo domínios de sinalização tanto de receptores de antígenos como de moléculas de coestimulatórias por engenharia genética (Fig. 18-6, B). Nos protocolos recentes, as células T do sangue periférico do paciente são isoladas, estimuladas com anti-CD3 e/ou anticorpos anti-CD28, e submetidas à transdução do gene com vetores de codificação de CAR. As células T que expressam o CAR são, então, expandidas *in vitro* e injetadas no paciente. As células T transferidas sofrem uma proliferação mais intensa no paciente, em resposta ao reconhecimento do antígeno tumoral pelo CAR. A morte do tumor é alcançada tanto por mecanismos citotóxicos diretos como por mediados por citocinas. Os pacientes com doenças malignas das células B, incluindo leucemia linfocítica crônica e leucemia linfoblástica aguda, têm sido tratados eficazmente com células T que expressam CAR específicas para CD19, um marcador celular pan-B também expresso nas células tumorais. A morte de células B normais ocorre, mas os pacientes podem tolerá-la porque as células produtoras de anticorpos de vida longa não expressam CD19 e não são destruídas, e continuam a fornecer imunidade mediada por anticorpos. Um grande obstáculo para a expansão do uso da terapia com células T-CAR para tumores, como carcinomas, é identificar os antígenos-alvo que sejam relativamente específicos do tumor.

Outro protocolo mais antigo em relação à imunoterapia celular adaptativa consiste em gerar células LAK a partir de cultura de leucócitos do sangue periférico de pacientes com tumor em altas concentrações de IL-2 e injetar as células LAK de volta nos pacientes. Como discutido anteriormente, as células LAK são derivadas principalmente de células NK. A terapia adaptativa com células LAK autólogas em conjunto com a administração *in vivo* de IL-2 ou medicações quimioterápicas produziu resultados impressionantes em camundongos, que apresentaram

regressão de tumores sólidos. Estudos de terapia com células LAK humanos até agora estão em grande parte restritos a casos de tumores metastáticos avançados, e a eficácia desta abordagem parece variar de paciente para paciente. Uma variação desta abordagem consiste em isolar TILs do infiltrado inflamatório presente em tumores sólidos e ao seu redor, obtidos a partir de amostras de ressecção cirúrgica, e propagação dos TILs em cultura com IL-2. A justificativa para esta abordagem é que os TILs podem ser enriquecidos por CTLs específicos para o tumor e células NK ativadas. A terapia com TIL para melanoma metastático é utilizada em vários centros.

### **Efeito Enxerto-Versus-Leucemia**

***Em pacientes com leucemia, a administração de células T e células NK juntamente com células-tronco hematopoéticas de um doador alogênico pode contribuir para a erradicação do tumor.*** O efeito enxerto-versus-leucemia mediado por células T é dirigido a moléculas do MHC alogênicas presentes nas células hematopoéticas do receptor, inclusive as células leucêmicas. As células NK doadoras respondem às células tumorais porque os tumores podem expressar baixos níveis de moléculas do MHC de classe I, que normalmente inibem a ativação das células NK (Cap. 4). O desafio no uso deste tratamento para melhorar o resultado clínico é minimizar a doença do enxerto-versus-hospedeiro que pode ser mediada pelas mesmas células T doadoras (Cap. 17).

### **Terapia com Anticorpos Antitumorais**

***Anticorpos monoclonais específicos do tumor podem ser úteis para a imunoterapia específica contra tumores.*** A possibilidade do uso de anticorpos como “balas mágicas” tem sido atraente para os pesquisadores há muitos anos, e ainda é uma área ativa da pesquisa. Atualmente, há mais de 100 diferentes anticorpos monoclonais sendo considerados como agentes terapêuticos para o câncer, em estudos experimentais em animais ou em humanos, e alguns foram aprovados para uso clínico (Tabela 18-3). Os anticorpos antitumorais podem erradicar tumores pelos mesmos mecanismos efetores que são utilizados para eliminar os microrganismos, incluindo opsonização e fagocitose, ativação do sistema de complemento, e citotoxicidade celular dependente de anticorpos (Cap. 13). Estes mecanismos, provavelmente, funcionem em pacientes com linfoma de células B tratadas com anti-CD20, um dos tratamentos com anticorpos antitumorais mais bem-sucedidas até o momento. Além disso, alguns anticorpos podem ativar diretamente as vias intrínsecas da apoptose nas células tumorais; este é o mecanismo proposto para o uso do anti-CD30 no tratamento de linfomas, atualmente em ensaios clínicos. Um anticorpo monoclonal específico para o produto do oncogene HER2/Neu é um tratamento aprovado para pacientes com câncer de mama, cujos tumores expressam níveis elevados desta proteína. Além de estimular os mecanismos imunitários efetores, o anticorpo anti-HER2/Neu interfere nas funções de sinalização de crescimento da

molécula HER2/Neu.

### Tabela 18-3

#### Anticorpos Monoclonais Antitumorais em Estudo ou Aprovados para Uso Clínico

Especificidade do Anticorpo	Forma de Anticorpo Usada	Uso Clínico
HER2/Neu (receptor de EGF, oncogene)	Monoclonal de camundongo humanizado	Câncer de mama (aprovado)
CD20 (marcador de célula B)	Monoclonal de camundongo humanizado	Linfoma de células B (aprovado)
D52 (marcador de linfócito)	Monoclonal de camundongo humanizado	Linfoma de células B (aprovado)
Antígeno carcinoembrionário	Monoclonal de camundongo humanizado	Câncer gastrointestinal (imagem)
CA-125 (marcador tumoral)	Monoclonal de camundongo	Deteção de câncer de ovário
Gangliosídeo GD <sub>3</sub> (antígeno tumoral)	Monoclonal de camundongo humanizado	Melanoma, neuroblastoma (estudo)

Uma vez que os anticorpos antitumorais utilizados nos estudos iniciais em humanos eram anticorpos monoclonais de camundongos, frequentemente a resposta imune ocorria contra a Ig do camundongo, resultando em anticorpos anti-Ig murinos, o que causava o aumento da eliminação dos anticorpos antitumorais ou bloqueio da ligação do agente terapêutico no seu alvo. Este problema foi reduzido com a utilização de anticorpos humanizados que consistem em regiões variáveis específicas de um anticorpo monoclonal murino para o antígeno tumoral combinadas com porções de Fc humanas. Um dos problemas mais difíceis no uso de anticorpos antitumorais é aumento de variantes com perda de antígenos das células tumorais que não expressam mais os antígenos reconhecidos pelos anticorpos. Uma forma de evitar este problema pode ser o uso de coquetéis de anticorpos específicos para diferentes antígenos expressos no mesmo tumor.

Muitas variações de anticorpos antitumorais têm sido experimentadas na tentativa de melhorar a sua eficácia. Anticorpos específicos para tumor podem ser acoplados a moléculas tóxicas, radioisótopos e fármacos antitumorais a fim de promover a liberação destes agentes citotóxicos especificamente para o tumor. Toxinas como a ricina e a toxina diférica são inibidores potentes de síntese de proteínas e podem ser eficazes em doses extremamente baixas, se forem transportadas para tumores ligados a anticorpos antitumorais; tais conjugados são denominados imunotoxinas. Esta abordagem requer a ligação covalente da toxina (sem o seu componente de ligação celular) a uma molécula de anticorpo antitumoral sem haver toxicidade ou perda de especificidade do anticorpo. A imunotoxina injetada sistemicamente está sujeita a endocitose pelas células tumorais, e a porção com a toxina é liberada no seu local de ação intracelular. Várias dificuldades práticas devem ser superadas para que esta técnica seja bem-sucedida. A especificidade do anticorpo deve ser de tal

forma que ele não se ligue às células não tumorais. Uma quantidade suficiente de anticorpos deve atingir o alvo tumoral apropriado antes de serem eliminados do sangue pelas células fagocíticas portadoras de receptores Fc. As toxinas, os fármacos, os radioisótopos ligados ao anticorpo podem apresentar efeitos sistêmicos, como resultado da circulação através dos tecidos normais. Por exemplo, hepatotoxicidade e síndrome de permeabilidade vascular são problemas comuns na terapia com imunotoxinas. Administração de imunotoxinas pode causar respostas de anticorpos contra as toxinas e os anticorpos injetados. Devido a essas dificuldades práticas, os ensaios clínicos com as imunotoxinas têm obtido sucesso variável e modesto.

O crescimento do tumor geralmente depende de fatores de crescimento, que são possíveis alvos para terapia. Anticorpos que bloqueiam o receptor do fator de crescimento epidérmico são aprovados para o tratamento de tumores colorretais. Os tumores dependem da formação de novos vasos sanguíneos que suprem o tumor com oxigênio e nutrientes. Este processo, chamado de angiogênese tumoral, depende de outros fatores de crescimento especializados, inclusive VEGF. Vários inibidores destes fatores angiogênicos podem bloquear o crescimento do tumor. Atualmente, anticorpos anti-VEGF estão aprovados para uso clínico combinados a agentes quimioterápicos para o tratamento de alguns tumores metastáticos, embora a sua eficácia seja modesta.

## O papel da imunidade inata e adaptativa na promoção do crescimento tumoral

Embora grande parte da ênfase em imunologia tumoral seja sobre o papel do sistema imune na erradicação de tumores, é evidente que o sistema imune também pode contribuir para o desenvolvimento de alguns tumores sólidos. Na verdade, a inflamação crônica tem sido reconhecida como um fator de risco para o desenvolvimento de tumores em muitos diferentes tecidos, especialmente aqueles afetados por doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo, o esôfago de Barrett, a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Alguns tipos de câncer associados a infecções também são considerados como resultado indireto dos efeitos carcinogênicos dos estados inflamatórios crônicos induzidos pelos organismos infecciosos. Estes incluem carcinoma gástrico e o linfoma dentro do quadro de infecção crônica por *Helicobacter pylori* e carcinoma hepatocelular associado a hepatite B crônica e infecções por vírus C. Embora os mecanismos pelos quais a inflamação crônica pode promover o desenvolvimento do tumor não sejam bem compreendidos, existem várias possibilidades sustentadas por dados em modelos de roedores.

As células do sistema imune inato são consideradas as culpadas mais diretas pela promoção de tumores entre as células do sistema imunológico. Macrófagos do

fenótipo alternativamente ativado (M2) associados a tumores, assim como outras células são fontes de VEGF, o que promove a angiogênese, e de metaloproteinases de matriz, que modificam o tecido extracelular. Portanto, a ativação crônica de algumas células do sistema imune inato é caracterizada pela angiogênese e pela remodelação do tecido, o que favorece o crescimento de tumores e seu espalhamento. Células imunes inatas também podem contribuir para a transformação maligna celular através da geração de radicais livres que causam danos no DNA e desencadeiam mutações em genes supressores de tumor e oncogenes. Alguns dados sugerem que as células do sistema imune inato, incluindo mastócitos, neutrófilos e macrófagos, secretam fatores solúveis que promovem a progressão do ciclo celular e a sobrevivência das células tumorais. O fator de transcrição NF-κB, que é um importante mediador da resposta imune inata, pode desempenhar um papel importante na progressão do câncer associado à inflamação.

O sistema imune adotivo pode promover a ativação crônica das células imunitárias inatas de várias maneiras, incluindo a ativação dos macrófagos mediada por células T nos quadros de infecções microbianas intracelulares persistentes, bem como durante a doença maligna inicial, mesmo quando os agentes infecciosos não estão presentes. Existem também evidências experimentais de que os linfócitos B podem contribuir para a progressão do tumor pela secreção de fatores que regulam diretamente a proliferação das células tumorais, bem como pela capacidade de ativar células do sistema imune inato cronicamente presentes em tumores iniciais. Os efeitos da promoção de tumores do sistema imunitário são paradoxais e constituem um assunto de investigação ativa neste momento. Estes efeitos da inflamação crônica são, teoricamente, também alvo para intervenção farmacológica porque há uma grande variedade de fármacos anti-inflamatórios eficazes já disponíveis. O desafio para os oncologistas é alcançar um equilíbrio benéfico no qual as respostas imunes adaptativas antitumorais protetoras não fiquem comprometidas enquanto as reações inflamatórias promotoras tumorais potencialmente prejudiciais estejam controladas.

## Resumo

Os tumores expressam antígenos que são reconhecidos pelo sistema imune, mas a maioria dos tumores suprime as respostas imunes ou é fracamente imunogênica, e as respostas imunes muitas vezes não conseguem impedir o crescimento tumoral. O sistema imune pode ser estimulado a destruir efetivamente os tumores. Antígenos tumorais reconhecidos por CTLs são os principais indutores e alvos para a imunidade antitumoral. Estes antígenos incluem mutantes de oncogenes e de outras proteínas celulares, proteínas normais cuja expressão é aumentada ou desregulada em tumores, e os produtos de vírus oncogênicos.

Anticorpos específicos para antígenos de células tumorais são utilizados para diagnóstico, e os antígenos são alvos potenciais para a terapia com anticorpos.

Estes antígenos incluem os antígenos oncofetais, que normalmente são expressos durante a vida fetal e cuja expressão está desregulada em alguns tumores; glicoproteínas e glicolipídios da superfície alterados; e moléculas que normalmente são expressas nas células das quais os tumores se originam e constituem, assim, antígenos de diferenciação para tipos específicos de células.

As respostas imunes que são capazes de destruir as células tumorais são mediadas por CTL, células NK e macrófagos ativados. Entre esses mecanismos efetores imunitários, o papel dos CTLs na proteção de indivíduos com tumores é o mais bem definido.

Os tumores evadem das respostas imunes através de vários mecanismos, incluindo a regulação negativa da expressão de moléculas do MHC, crescimento seletivo de células que não expressam antígenos tumorais, produção de substâncias imunossupressoras solúveis, acoplamento dos receptores inibitórios nos linfócitos por seus ligantes expressos nas células tumorais, e a indução de células T regulatórias. Macrófagos associados ao tumor e células supressoras derivadas mieloides, encontrados na maioria dos tumores sólidos, podem suprimir a imunidade antitumoral.

A imunoterapia contra tumores é desenvolvida para aumentar as respostas imunes ativas contra estes tumores ou para administrar efetores imunitários específicos para o tumor nos pacientes. A imunidade antitumor pode ser potencializada através do bloqueio de mecanismos de regulação imune. As respostas imunes também podem ser ativamente estimuladas pela vacinação com células tumorais ou antígenos, e pela administração sistêmica de citocinas que estimulam as respostas imunes. A estratégia de sucesso mais recente é o bloqueio do ponto de verificação (*checkpoint*), onde anticorpos contra os receptores inibitórios nas células T ou seus ligantes são administrados para remover as travas da ativação de linfócitos e, assim, promover a imunidade antitumoral.

Abordagens para a imunoterapia passiva incluem a administração de anticorpos antitumorais, anticorpos conjugados com fármacos tóxicos (imunotoxinas), e células T reativas ao tumor e células NK isoladas de pacientes e propagadas em cultura com fatores de crescimento. Uma nova abordagem promissora é a transferência adaptativa de células T transfectadas para expressar receptores de antígeno quimérico específicos para antígenos tumorais.

## Leituras selecionadas

### Respostas Imunes contra Tumores

Boon, T., Coulie, P. G., Van den Eynde, B. J., van der Bruggen, P. Human T cell responses against melanoma. *Annual Review of Immunology*. 2006; 24:175–208.

Burnet, F. M. The concept of immunological surveillance. *Progress in Experimental*



*Tumor Research*. 1970; 13:1–27.

- Coussens, L. M., Zitvogel, L., Palucka, A. K. Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? *Science*. 2013; 339:286–291.
- Fridman, W. H., Pages, F., Sautes-Fridman, C., Galon, J. The immune contexture in human tumors: impact on clinical outcome. *Nature Reviews Cancer*. 2012; 12:298–306.
- Gajewski, T. F., Schreiber, H., Fu, Y. X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nature Immunology*. 2013; 14:1014–1022.
- Grivnikov, S. I., Greten, F. R., Karin, M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010; 140:883–899.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., Balkwill, F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008; 454:436–444.
- Schreiber, R. D., Old, L. J., Smyth, M. J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011; 331:1565–1570.

### **Imunoterapia contra Tumores**

- Curiel, T. J. Regulatory T cells and treatment of cancer. *Current Opinions in Immunology*. 2008; 20:241–246.
- Dranoff, G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2004; 4:11–22.
- Farkas, A. M., Finn, O. J. Vaccines based on abnormal self-antigens as tumor-associated antigens: immune regulation. *Seminars in Immunology*. 2010; 22:125–131.
- Gilboa, E. DC-based cancer vaccines. *Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117:1195–1203.
- Kalos, M., June, C. H. Adoptive T cell transfer for cancer immunotherapy in the era of synthetic biology. *Immunity*. 2013; 39:49–60.
- Maus, M. V., Fraietta, J. A., Levine, B. L., Kalos, m., Zhao, Y., June, C. H. Adoptive immunotherapy for cancer and viruses. *Annual Review of Immunology*. 2014; 32:189–225.
- Mellman, I., Coukos, G., Dranoff, G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2012; 480:480–489.
- Mougiakakos, D., Choudhury, A., Lladser, A., Kiessling, R., Johansson, C. C. Regulatory T cells in cancer. *Advances in Cancer Research*. 2010; 107:57–117.
- Page, D. B., Postow, M. A., Callahan, M. K., Allison, J. P., Wolchok, J. D. Immune modulation in cancer with antibodies. *Annual Review of Medicine*. 2014; 65:185–202.
- Palucka, K., Banchereau, J. Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines.

*Immunity*. 2013; 39:38–48.

Pardoll, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2012; 12:252–264.

Topalian, S. L., Weiner, G. J., Pardoll, D. M. Cancer immunotherapy comes of age. *Journal of Clinical Oncology*. 2011; 29:4828–4836.

Vanneman, M., Dranoff, G. M. Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nature Reviews Cancer*. 2012; 12:237–251.

Weiner, L. M., Surana, R., Wang, S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:317–327.

## CAPÍTULO 19

# Reações de Hipersensibilidade

### CAUSAS DA HIPERSENSIBILIDADE

### MECANISMOS E CLASSIFICAÇÃO DAS REAÇÕES DE HIPERSENSIBILIDADE

### DOENÇAS CAUSADAS POR ANTICORPOS

Doenças Causadas por Anticorpos contra Células Fixas e Antígenos de Tecido

Doenças Mediadas por Imunocomplexos

### DOENÇAS CAUSADAS POR LINFÓCITOS T

Doenças Causadas por Inflamação Mediada por Citocinas

Doenças Causadas por Linfócitos T Citotóxicos

### ABORDAGENS TERAPÊUTICAS PARA AS DOENÇAS IMUNOLÓGICAS

### DOENÇAS IMUNOLÓGICAS SELECIONADAS: PATOGENIA E ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES): O Protótipo de Doença Mediada por Imunocomplexo

Artrite Reumatoide

Esclerose Múltipla

Diabetes Mellito Tipo 1

Doença Inflamatória Intestinal

### RESUMO

A imunidade adaptativa tem a importante função de defesa do hospedeiro contra infecções microbianas, mas as respostas imunológicas também são capazes de produzir lesão tecidual e doenças. Os distúrbios causados por respostas imunes são chamados de **hipersensibilidade**. Este termo surgiu da definição clínica de imunidade como uma sensibilidade, baseando-se na observação de que um indivíduo que tenha sido exposto a um antígeno exibe uma reação detectável, ou torna-se sensível, a encontros subsequentes com esse antígeno. Em geral, as respostas imunes erradicam os organismos infectantes sem provocar graves lesões aos tecidos do hospedeiro. No entanto, essas respostas são, algumas vezes, controladas de maneira inadequada, inapropriadamente direcionadas aos tecidos do

hospedeiro ou desencadeadas por microrganismos comensais ou antígenos ambientais, os quais geralmente são inofensivos. Nestas situações, a resposta imune, normalmente benéfica, torna-se a causa da doença.

Neste capítulo, descreveremos a patogenia de diferentes tipos de reações de hipersensibilidade, com ênfase nos mecanismos efetores que causam lesão tecidual. Concluiremos com uma breve consideração sobre o tratamento de doenças imunológicas e exemplos de doenças que ilustram princípios importantes.

## Causas da hipersensibilidade

As respostas imunes contra antígenos de diferentes fontes podem ser a causa subjacente de distúrbios de hipersensibilidade.

- **Autoimunidade: reações contra antígenos próprios.** A falha dos mecanismos normais de autotolerância resulta em reações contra as próprias células e tecidos. Esse fenômeno é chamado de **autoimunidade** (Cap. 15). As doenças causadas por reações de autoimunidade são denominadas **doenças autoimunes**. Estima-se que as doenças autoimunes afetem, pelo menos, 2% a 5% da população nos países desenvolvidos, de modo que essa incidência é crescente. Muitas dessas doenças são comuns em indivíduos da faixa etária entre 20 a 40 anos de idade. Elas também são mais comuns em mulheres do que em homens, por motivos ainda desconhecidos. As doenças autoimunes são crônicas e debilitantes e representam um enorme fardo médico e econômico. Embora no passado, o tratamento para esses distúrbios tenha se mostrado frustrantes, foram desenvolvidas muitas abordagens novas e eficazes no início do século XXI com base em princípios científicos. Os mecanismos de autoimunidade foram descritos no Capítulo 15. Neste capítulo, apresentaremos diversas doenças autoimunes para ilustrar como a autoimunidade pode causá-las.
- **Reações contra microrganismos.** As respostas imunes contra antígenos microbianos podem causar doença se as reações forem excessivas ou se os microrganismos forem anormalmente persistentes. As respostas das células T contra microrganismos persistentes podem dar origem a uma inflamação grave, algumas vezes, com a formação de granulomas; esta é a causa da lesão tecidual observada na tuberculose e algumas outras infecções crônicas. Se forem produzidos anticorpos contra antígenos microbianos, eles podem se ligar aos antígenos para produzir imunocomplexos, que se depositam nos tecidos e desencadeiam inflamação. Raramente, os anticorpos ou células T contra um microrganismo apresentarão uma reação cruzada com o tecido do hospedeiro. Em algumas doenças que envolvem o trato intestinal, denominadas doença do intestino irritável, a resposta imune é direcionada contra bactérias comensais que normalmente residem no intestino e não causem danos. Muitas vezes, os mecanismos que uma resposta imune usa para erradicar um microrganismo

patogênico requerem a morte das células infectadas e, por conseguinte, causam lesão do tecido do hospedeiro. Por exemplo, na hepatite viral, o vírus que infecta as células hepáticas não é citopático, mas é reconhecido como estranho pelo sistema imunológico. Os linfócitos T citotóxicos (CTLs) tentam eliminar as células infectadas, e essa resposta imune normal danifica as células do fígado. Esse tipo de reação normal não é considerada hipersensibilidade.

- **Reações contra antígenos ambientais.** A maioria dos indivíduos saudáveis não reage contra substâncias ambientais comuns, em geral inofensivas, mas quase 20% da população é anormalmente responsiva a uma ou mais destas substâncias. Esses indivíduos produzem anticorpos imunoglobulina E (IgE) que causam doenças alérgicas (Cap. 20). Alguns indivíduos tornam-se sensibilizados a antígenos ambientais e substâncias químicas, que, em contato com a pele, desenvolvem reações de células T que levam à inflamação mediada por citocinas, resultando em sensibilidade de contato.

Em todas essas condições, os mecanismos de lesão do tecido são os mesmos normalmente observados na eliminação de agentes infecciosos. Esses mecanismos incluem respostas imunes inatas e adaptativas que envolvem fagócitos, anticorpos, linfócitos T, mastócitos e várias outras células efetoras, além dos mediadores da inflamação. O problema na hipersensibilidade é que a resposta imune não é controlada adequadamente. Como os estímulos para essas respostas imunes anormais são difíceis ou impossíveis de se eliminar (p. ex., autoantígenos, microrganismos comensais e antígenos ambientais) e o sistema imune possui muitas alças de retroalimentação positiva intrínsecas (mecanismos de amplificação), sempre que uma resposta imune patológica é iniciada, é difícil controlá-la ou interrompê-la. Dessa maneira, as doenças de hipersensibilidade tendem a ser crônicas e progressivas, representando verdadeiros desafios terapêuticos na clínica médica.

## Mecanismos e classificação das reações de hipersensibilidade

***As hipersensibilidades são geralmente classificadas de acordo com o tipo de resposta imune e o mecanismo efetor responsável pela lesão celular e tecidual (Tabela 19-1).***

**Tabela 19-1****Classificação das Doenças de Hipersensibilidade**

Tipo de Hipersensibilidade	Mecanismos Imunopatológicos	Mecanismos de Lesão Tecidual e de Doença
Imediata: tipo I	Anticorpo IgE; células T <sub>H</sub> 2	Mastócitos, eosinófilos e seus mediadores (aminas vasoativas, mediadores lipídicos, citocinas)
Mediada por anticorpo: tipo II	Anticorpos IgM, IgG contra antígenos de superfície celular ou da matriz extracelular	Opsonização e fagocitose de células Recrutamento e ativação de leucócitos (neutrófilos, macrófagos) mediados pelo receptor de Fc e pelo complemento Anormalidades nas funções celulares, por exemplo, sinalização do receptor de hormônio, bloqueio do receptor de neurotransmissores
Mediada por imunocomplexo: tipo III	Imunocomplexos de antígenos circulantes e anticorpos IgM ou IgG	Recrutamento e ativação de leucócitos mediados pelo receptor de Fc e pelo complemento
Mediada por célula T: tipo IV	1. Células T CD4 <sup>+</sup> (células T <sub>H</sub> 1 e T <sub>H</sub> 17) 2. CTLs CD8 <sup>+</sup>	1. Inflamação mediada por citocina 2. Morte direta da célula-alvo, inflamação mediada por citocina

- A hipersensibilidade imediata (hipersensibilidade do tipo I), causada por anticorpos IgE específicos para antígenos ambientais, é o tipo mais prevalente de hipersensibilidade e será descrita separadamente no [Capítulo 20](#). A hipersensibilidade imediata, comumente chamada de alergia ou atopia, é o exemplo de doença resultante da ativação de células T auxiliares produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13, classicamente denominadas células T<sub>H</sub>2, onde as células T estimulam a produção de anticorpos IgE e a inflamação.
- Os anticorpos IgG e IgM podem causar lesão tecidual por meio da ativação do sistema complemento, recrutando células inflamatórias e interferindo nas funções celulares normais. Alguns desses anticorpos são específicos para antígenos de determinadas células ou da matriz extracelular e são encontrados ligados a essas células ou tecidos ou como anticorpos livres na circulação; as doenças induzidas por esses anticorpos são chamadas de hipersensibilidade do tipo II. Outros anticorpos podem formar imunocomplexos na circulação – de modo que os complexos são subsequentemente depositados nos tecidos, particularmente nas paredes dos vasos sanguíneos – e causar lesões. As doenças decorrentes de imunocomplexos também são chamadas de hipersensibilidade do tipo III.
- A lesão tecidual pode ocorrer em razão dos linfócitos T que induzem inflamação ou matam diretamente as células-alvo; tais condições são chamadas de hipersensibilidade do tipo IV. Elas são causadas principalmente pela ativação de células T auxiliares CD4<sup>+</sup>, as quais secretam citocinas que promovem a inflamação e ativam os leucócitos, especialmente neutrófilos e macrófagos. As células T auxiliares também estimulam a produção de anticorpos que danificam os tecidos e induzem a inflamação. Os CTLs contribuem para a lesão de tecidos em

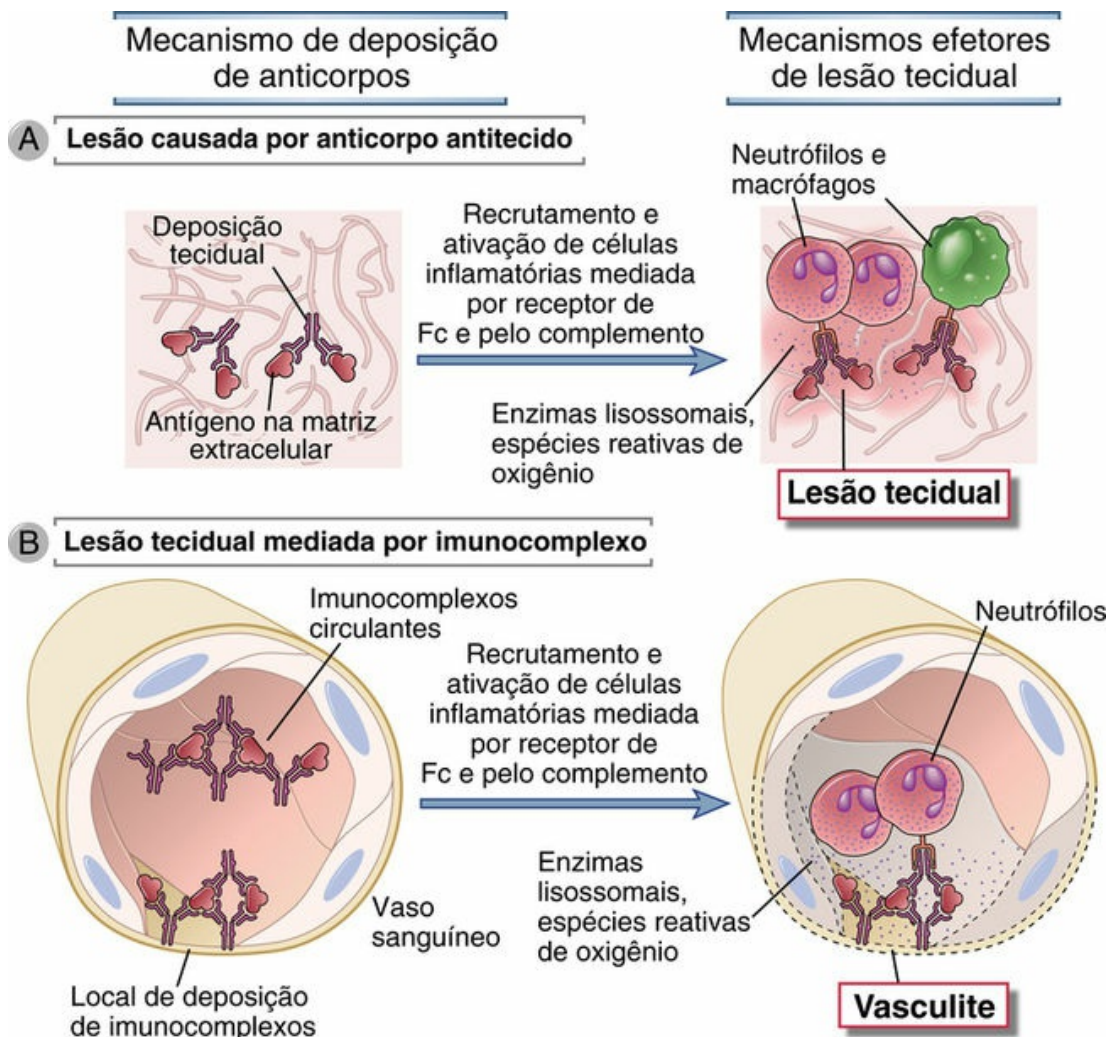


determinadas doenças.

Essa classificação é útil porque diferentes tipos de respostas imunopatológicas mostram distintos padrões de lesão tecidual e podem variar em relação à especificidade para o tecido. Como resultado, os diferentes mecanismos imunológicos produzem distúrbios com características clínicas e patológicas distintas. No entanto, em humanos, as doenças imunológicas são frequentemente complexas e causadas por combinações de respostas imunes humorais e mediadas por células, além de múltiplos mecanismos efetores. Essa complexidade não é surpreendente, dado que um único antígeno pode normalmente estimular ambas as respostas imunes humoral e mediada por células, nas quais são produzidos diversos tipos de anticorpos e de células T efetoras. Como os principais componentes da patologia e das manifestações clínicas dessas doenças são os múltiplos mecanismos que podem estar envolvidos e a repetição dos ataques de inflamação, eles podem ser, algumas vezes, agrupados sob a designação de **doenças inflamatórias imunomediadas**. Como discutiremos mais adiante neste capítulo, essas doenças, quando agrupadas, também possuem algum valor clínico, uma vez que muitas delas são tratadas com os mesmos agentes biológicos ou com agentes relacionados. Na discussão que se segue, utilizaremos as descrições que identificam os mecanismos patogênicos, em vez das designações numéricas menos informativas para os tipos de hipersensibilidade. Com esta introdução, vamos proceder a uma discussão sobre doenças mediadas por anticorpos e por células T.

## Doenças causadas por anticorpos

***Doenças mediadas por anticorpos são produzidas por anticorpos que se ligam a antígenos em determinadas células ou em tecidos extracelulares ou, ainda, por complexos antígeno-anticorpo que se formam na circulação e são depositados nas paredes dos vasos (Fig. 19-1).*** Para provar que a doença é causada por anticorpos, seria necessário demonstrar que as lesões podem ser induzidas em um animal normal pela transferência passiva de imunoglobulina purificada do sangue ou tecidos afetados de indivíduos com a doença. Ocasionalmente, é possível observar um experimento dessa natureza em crianças cujas mães sofrem de doenças mediadas por anticorpos. Essas crianças podem nascer com manifestações transitórias de tais doenças em razão da passagem transplacentária de anticorpos. No entanto, em situações clínicas, o diagnóstico de doenças causadas por anticorpos ou imunocomplexos geralmente se baseia na demonstração de anticorpos ou de imunocomplexos na circulação ou depositados nos tecidos, além das semelhanças clinicopatológicas com doenças experimentais que se provaram ser mediadas por transferência adotiva de anticorpos.

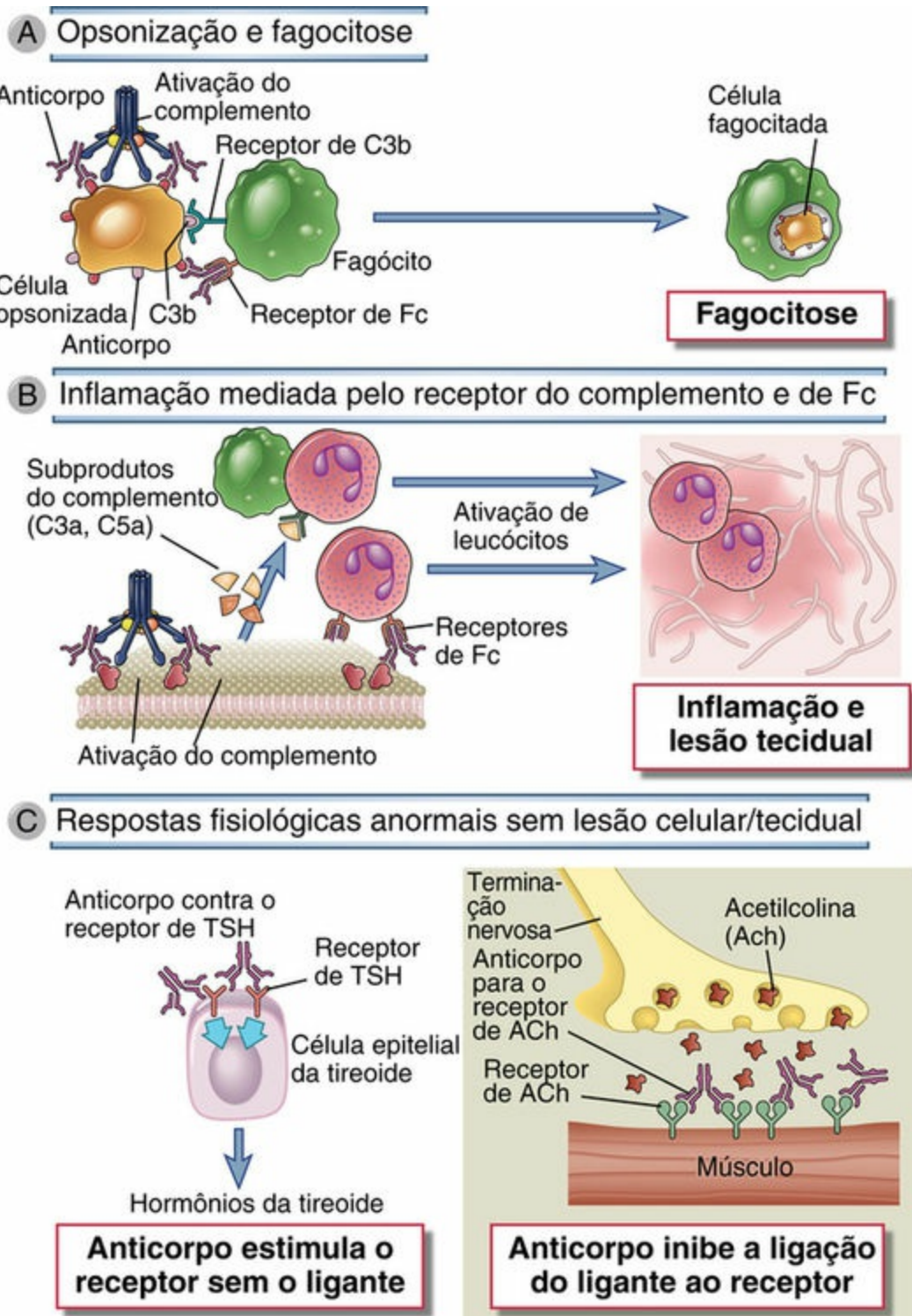


**FIGURA 19-1** Tipos de doenças mediadas por anticorpos. **A**, Os anticorpos podem se ligar especificamente a antígenos teciduais e os leucócitos recrutados causam lesão tecidual. **B**, Complexos de antígenos e anticorpos podem se formar na circulação e se depositar nos vasos sanguíneos e em outros locais. Esses imunocomplexos induzem inflamação vascular e subsequente dano isquêmico aos tecidos. Os anticorpos contra proteínas celulares também podem provocar depleção de células e anormalidades funcionais (*não mostrado*).

## Doenças Causadas por Anticorpos contra Células Fixas e Antígenos de Tecido

Os anticorpos contra os antígenos celulares ou da matriz causam doenças que afetam especificamente as células ou tecidos onde esses antígenos estão presentes e, frequentemente, essas doenças não são sistêmicas. Os anticorpos contra

antígenos de tecidos produzem doença por três mecanismos principais (Fig. 19-2).



**FIGURA 19-2** Mecanismos efetores da doença mediada por anticorpo.

A, Os anticorpos opsonizam as células e podem ativar o complemento, gerando produtos do complemento que

também opsonizam células, levando à fagocitose delas por meio dos receptores de Fc ou receptores para C3b nos fagócitos. **B**, Os anticorpos recrutam os leucócitos pela ligação aos receptores de Fc ou pela ativação do complemento e, então, liberam subprodutos que são quimiotáticos para leucócitos. **C**, Os anticorpos específicos para receptores de hormônios ou de neurotransmissores da superfície celular podem estimular a atividade desses receptores mesmo na ausência do hormônio, como se observa na doença de Graves (hipertireoidismo) (*painel à esquerda*), ou podem inibir a ligação do neurotransmissor ao seu receptor, como ocorre na miastenia grave (*painel à direita*). *TSH*, hormônio estimulante da tireoide (do inglês *thyroid-stimulating hormone*).

- **Opsonização e fagocitose.** Os anticorpos que se ligam a antígenos da superfície celular podem opsonizar diretamente as células ou ativar o sistema complemento, resultando na produção de proteínas do complemento que opsonizam as células. Essas células opsonizadas são fagocitadas e destruídas pelos fagócitos, que expressam receptores para as porções Fc dos anticorpos IgG e receptores para proteínas do complemento. Este é o principal mecanismo de destruição celular na anemia hemolítica autoimune e púrpura trombocitopênica autoimune, nas quais os anticorpos específicos para os eritrócitos ou para as plaquetas, respectivamente, levam à opsonização e remoção dessas células da circulação. O mesmo mecanismo é responsável pela hemólise nas reações transfusionais ([Cap. 17](#)).
- **Inflamação.** Os anticorpos depositados nos tecidos recrutam neutrófilos e macrófagos, que se ligam aos anticorpos ou às proteínas do complemento ligadas pelos receptores de Fc de IgG e do complemento. Esses leucócitos são ativados pela sinalização dos receptores (particularmente receptores de Fc) e produtos de leucócitos, incluindo enzimas lisossomais e espécies reativas de oxigênio, que são liberados e produzem lesão tecidual. O mecanismo de lesão na glomerulonefrite mediada por anticorpos e em muitas outras doenças é a inflamação e ativação de leucócitos.
- **Funções celulares anormais.** Os anticorpos que se ligam a receptores celulares normais ou outras proteínas podem interferir nas funções destes receptores ou proteínas e causar doença sem inflamação ou dano tecidual. Os anticorpos específicos para o receptor do hormônio estimulante da tireoide ou o receptor nicotínico da acetilcolina provocam anormalidades funcionais que levam à doença de Graves e à miastenia grave, respectivamente ([Fig. 19-2, C](#)). Os anticorpos específicos para o fator intrínseco, necessários para a absorção de vitamina B<sub>12</sub>, causam anemia perniciosa.



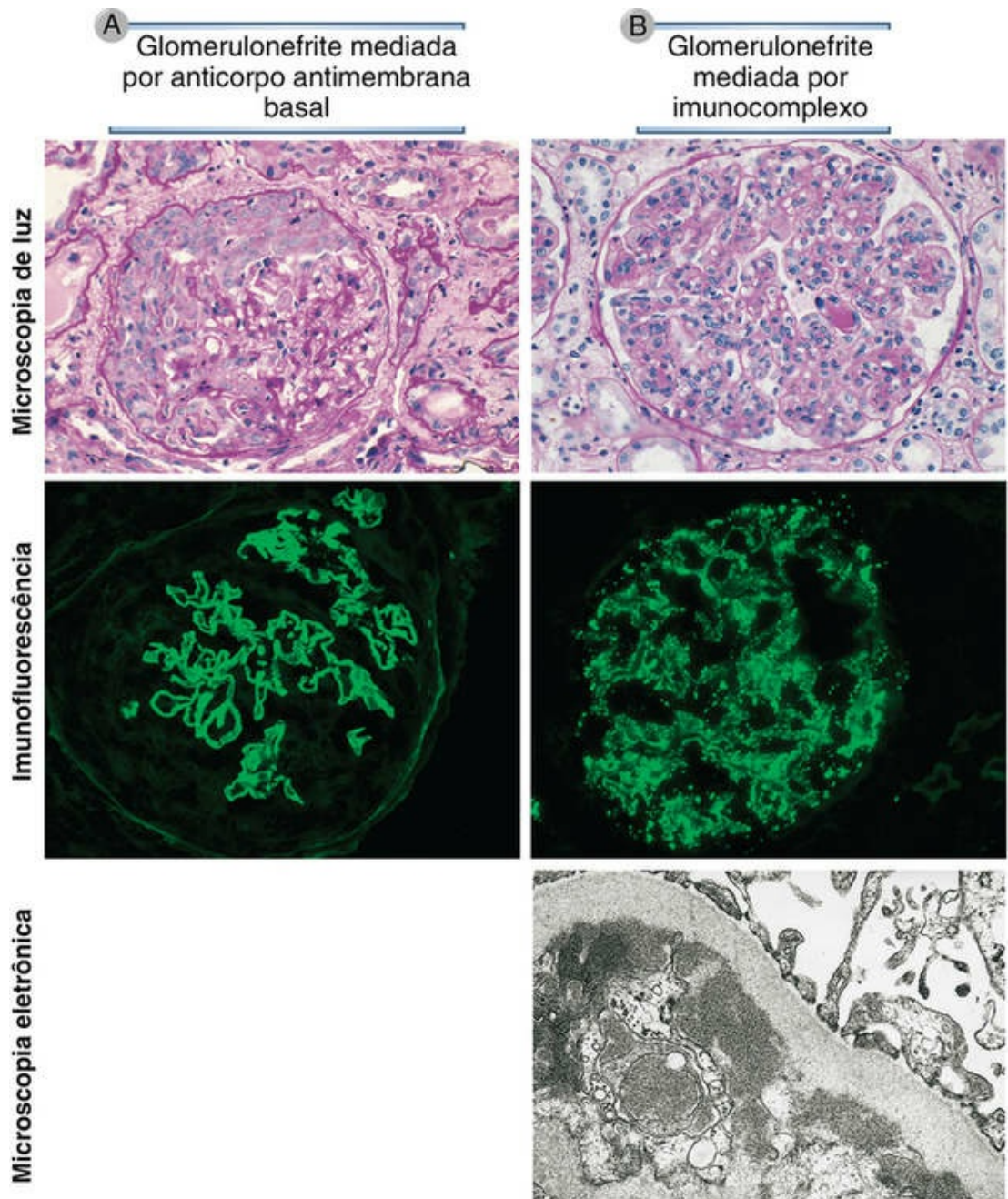
**Os anticorpos que causam doenças específicas de células ou de tecido geralmente são autoanticorpos produzidos como parte de uma reação autoimune, mas, algumas vezes, esses anticorpos são específicos para microrganismos.** Exemplos de autoanticorpos contra antígenos dos tecidos estão listados na [Tabela 19-2](#). Menos frequentemente, os anticorpos podem ser produzidos contra um antígeno estranho (p. ex., microbiano) que é imunologicamente reativo a um componente de tecidos próprios. Em uma rara sequela de infecção estreptocócica conhecida como febre reumática, os anticorpos produzidos contra as bactérias reagem de forma cruzada com antígenos do coração, depositam-se neste órgão e produzem inflamação e danos teciduais. Os depósitos de anticorpos no tecido podem ser detectados por exame morfológico em algumas dessas doenças, e a deposição de anticorpo frequentemente está associada a ativação local de complemento, inflamação e lesão dos tecidos ([Fig. 19-3, A](#)).

**Tabela 19-2**

**Exemplos de Doenças Causadas por Anticorpos Específicos para Células ou Tecidos**

Doença	Antígeno-alvo	Mecanismo da Doença	Manifestação clinicopatológica
Anemia hemolítica autoimune	Proteínas de membrana do eritrócito	Opsonização e fagocitose de eritrócitos, lise mediada pelo complemento	Hemólise, anemia
Púrpura trombocitopênica autoimune	Proteínas de membrana de plaquetas (integrina gpIIb-IIIa)	Opsonização e fagocitose de plaquetas	Sangramento
Pênfigo vulgar	Proteínas nas junções intercelulares das células epidérmicas (desmogleína)	Ativação de proteases mediada por anticorpo, ruptura das adesões intercelulares	Vesículas cutâneas (bolhas)
Vasculite causada por ANCA	Proteínas dos grânulos dos neutrófilos, presumivelmente liberadas de neutrófilos ativados	Degranulação de neutrófilos e inflamação	Vasculite
Síndrome de Goodpasture	Proteína não colagenosa NCI da membrana basal nos glomérulos e nos pulmões	Inflamação mediada pelo complemento e pelo receptor de Fc	Nefrite, hemorragia pulmonar
Febre reumática aguda	Antígeno da parede celular de estreptococo; o anticorpo reage cruzadamente com o antígeno miocárdico	Inflamação, ativação de macrófago	Miocardite, artrite
Miastenia grave	Receptor de acetilcolina	Anticorpo inibe a ligação da acetilcolina, regulando negativamente os receptores	Fraqueza muscular, paralisia
Doença de Graves (hipertireoidismo)	Receptor de TSH	Estimulação dos receptores de TSH mediada por anticorpos	Hipertireoidismo
Diabetes insulino-resistente	Receptor de insulina	Anticorpo inibe a ligação da insulina	Diabetes melito
Anemia perniciosa	Fator intrínseco das células parietais gástricas	Neutralização do fator intrínseco; absorção reduzida de vitamina B <sub>12</sub>	Eritropoese anormal, anemia, sintomas neurológicos

*ANCA*, anticorpos citoplasmáticos antineutrófilos (do inglês *anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*); *TSH*, hormônio estimulante da tireoide (do inglês *thyroid-stimulating hormone*).



**FIGURA 19-3** Características patológicas da glomerulonefrite mediada por anticorpos.

**A**, Glomerulonefrite induzida por um anticorpo contra a membrana basal glomerular (síndrome de Goodpasture): a micrografia de luz mostra a inflamação glomerular e o dano grave, ao passo que a imunofluorescência evidencia os depósitos de anticorpo planos (lineares) ao longo da membrana basal. **B**, Glomerulonefrite induzida pela deposição de imunocomplexos (lúpus eritematoso sistêmico): a micrografia de luz mostra a inflamação neutrofilica, ao passo que a imunofluorescência e a eletromicrografia evidenciam os



depósitos grosseiros (granulares) de complexos antígeno-anticorpo ao longo da membrana basal. (Micrografias de imunofluorescência foram cortesia de Dr. Jean Olson, Department of Pathology, University of California, San Francisco, e a eletromicrografia foi cortesia de Dr. Helmut Rennke, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

## Doenças Mediadas por Imunocomplexos

Os imunocomplexos que causam doença podem ser compostos por anticorpos ligados a autoantígenos ou a antígenos estranhos. As características patológicas das doenças provocadas por imunocomplexos refletem o local de deposição do complexo antígeno-anticorpo e não são determinadas pela fonte celular do antígeno. Dessa maneira, as doenças mediadas por imunocomplexos tendem a ser sistêmicas e afetar vários órgãos e tecidos, embora alguns sejam particularmente suscetíveis, como os rins e as articulações.

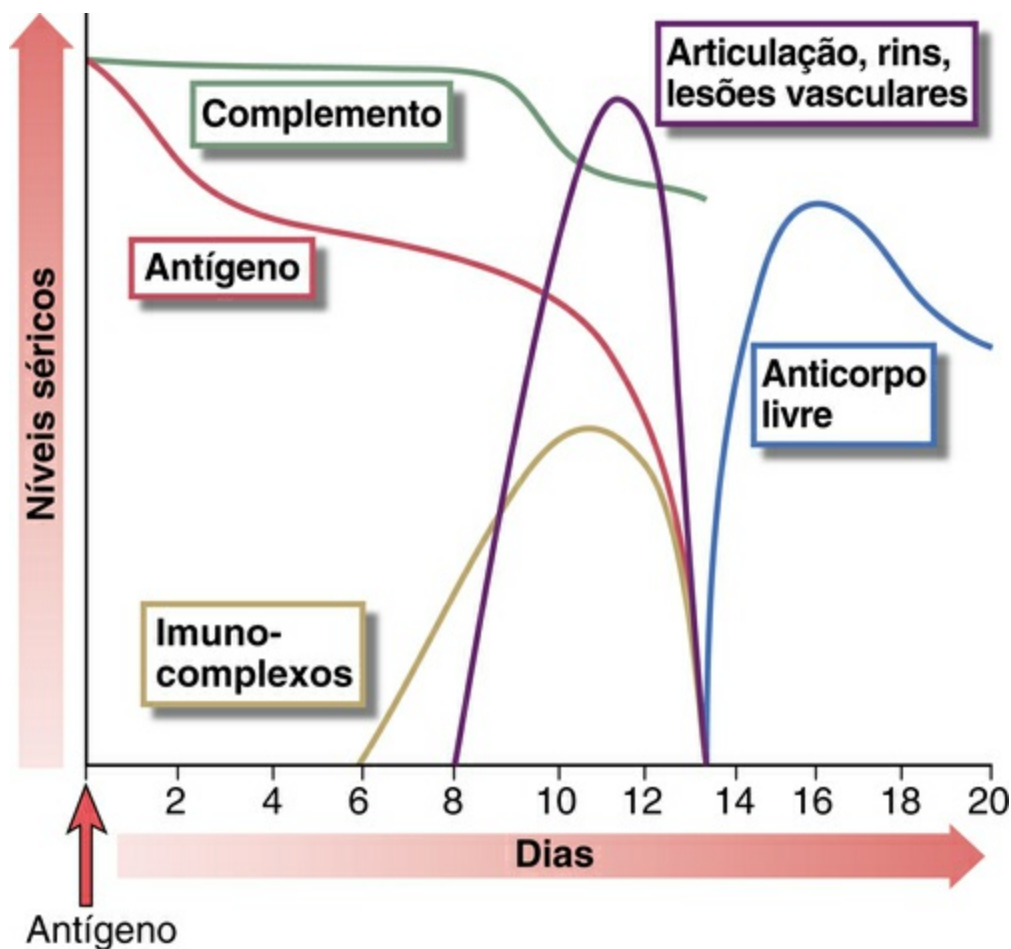
Desde o início dos anos 1900, suspeita-se da ocorrência de doenças causadas por imunocomplexos. O responsável por essa suspeita foi um médico astuto chamado Clemens von Pirquet. Naquele tempo, as infecções de difteria eram tratadas com soro de cavalos que tinham sido imunizados com a toxina da difteria, um clássico exemplo de imunização passiva contra a toxina por meio da transferência de soro contendo anticorpos antitoxina. Von Pirquet astutamente observou que determinados pacientes que foram injetados com o soro de cavalo contendo a antitoxina desenvolviam inflamação das articulações (artrite), erupção cutânea e febre. Duas características clínicas dessa reação sugeriam que isso não era resultado da infecção ou de um componente tóxico do próprio soro. Em primeiro lugar, esses sintomas apareciam mesmo após a injeção de um soro de cavalo que não continha a antitoxina; logo, as lesões não poderiam ser atribuídas ao anticorpo antidifteria. Em segundo lugar, os sintomas surgiam pelo menos 1 semana após a primeira injeção de soro de cavalo e mais rapidamente após cada repetição. Von Pirquet concluiu que essa doença ocorria em virtude de uma resposta do hospedeiro a algum componente do soro. Ele sugeriu que o hospedeiro produzia anticorpos contra as proteínas séricas do cavalo e esses anticorpos formavam complexos com as proteínas injetadas, ou seja, essa doença ocorria por causa dos anticorpos produzidos ou dos imunocomplexos. Sabemos, atualmente, quão precisa foi sua conclusão. Ele chamou essa condição de doença do soro. A mesma reação também foi observada em humanos que recebem terapia de soro para o tétano, que também é denominada doença do soro. Esse problema continua preocupante até os dias de hoje na clínica médica, considerando uma proporção de indivíduos que recebem anticorpos monoclonais terapêuticos derivados de roedores ou antissoros policlonais

humano para o tratamento de picadas de cobras ou de raiva. Distúrbios mediados por imunocomplexos sistêmicos não relacionados com a injeção de proteína estranha também apresentam os mesmos mecanismos de lesão tecidual, como observado na doença do soro.

## **Modelos Experimentais de Doenças Mediadas por Imunocomplexos**

### **Doença do Soro**

Muito do nosso conhecimento atual sobre doenças causadas por imunocomplexo está baseado em análises de modelos experimentais da doença do soro. A imunização de um animal como um coelho com uma grande dose de um antígeno proteico estranho leva à formação de anticorpos contra o antígeno (Fig. 19-4). Esses anticorpos ligam-se e formam complexos com o antígeno circulante, e os complexos são inicialmente captados por macrófagos no fígado e no baço. À medida que mais complexos antígeno-anticorpo são formados, alguns deles são depositados em leitos vasculares. Nesses tecidos, os complexos induzem inflamação rica em neutrófilos pela ativação da via clássica do complemento e pelo acoplamento a receptores de Fc em leucócitos. Como os complexos são frequentemente depositados em pequenas artérias, glomérulos renais e sinóvia das articulações, as manifestações clínicas e patológicas mais comuns são vasculite, nefrite e artrite. Os sintomas clínicos geralmente são de curta duração, e as lesões se curam a menos que o antígeno seja novamente injetado. Esse tipo de doença é um exemplo de doença do soro aguda. Uma doença mais indolente e mais prolongada, denominada doença do soro crônica, é produzida por meio de múltiplas injeções de antígeno, o que leva à formação de complexos menores que são depositados, na maioria das vezes, nos rins, nas artérias e nos pulmões.



**FIGURA 19-4** Sequência de respostas imunológicas na doença do soro aguda experimental.

A injeção de albumina sérica bovina em um coelho leva à produção de anticorpos específicos e à formação de imunocomplexos. Esses complexos são depositados em diversos tecidos, ativam o complemento (levando à redução sérica das concentrações de proteínas do complemento) e causam lesões inflamatórias que se resolvem conforme os complexos e o antígeno remanescente são removidos e começa a aparecer anticorpo livre (não ligado ao antígeno) na circulação. (Adaptado de Cochrane CG: Immune complex-mediated tissue injury. In Cohen S, Ward PA, McCluskey RT [eds.]: *Mechanisms of immunopathology*, New York, 1979, Werbel & Peck, pp 29-48. Copyright © 1979, Wiley-Liss, Inc.)

### Reação de Arthus

A forma localizada de uma vasculite experimental mediada por imunocomplexo é chamada de reação de Arthus. Ela é induzida pela injeção subcutânea de um antígeno em um animal previamente imunizado ou em um animal no qual tenha sido

administrada uma injeção intravenosa de anticorpo específico para o antígeno. Os anticorpos circulantes ligam-se rapidamente ao antígeno injetado e formam imunocomplexos que são depositados nas paredes de pequenas artérias no local da injeção. Esta deposição dá origem a uma vasculite cutânea local, com trombose dos vasos afetados, levando à necrose tecidual. A relevância clínica da reação de Arthus é limitada; ocasionalmente, um indivíduo que recebeu uma dose de reforço de uma vacina pode desenvolver inflamação no local da injeção, em decorrência do acúmulo local de imunocomplexos, como em uma reação de Arthus.

## **Patogenia das Doenças Mediadas por Imunocomplexos**

### ***A quantidade de deposição de imunocomplexos nos tecidos é determinada pela natureza dos complexos e pelas características dos vasos sanguíneos.***

Os complexos antígeno-anticorpo são gerados durante as respostas imunes normais, mas somente provocam doença quando são produzidos em quantidades excessivas, não são eficientemente eliminados e se depositam nos tecidos. Pequenos complexos muitas vezes não são fagocitados e tendem a ser mais depositados em vasos do que os grandes complexos, os quais geralmente são capturados pelos fagócitos. Os complexos contendo antígenos catiônicos ligam-se avidamente a componentes negativamente carregados das membranas basais dos vasos sanguíneos e dos glomérulos renais. Tais complexos normalmente produzem lesão tecidual grave e de longa duração. Os capilares nos glomérulos renais e na sinóvia são locais onde o plasma é ultrafiltrado (para formar a urina e o líquido sinovial, respectivamente), passando através de membranas basais especializadas, e esses locais estão entre os mais comuns de deposição de imunocomplexos. No entanto, os imunocomplexos podem ser depositados em pequenos vasos em praticamente qualquer tecido. Depósitos de anticorpo e de complemento podem ser detectados nos vasos e, se o antígeno for conhecido, também é possível identificar as moléculas de antígeno nos depósitos (Fig. 19-3, B).

Os imunocomplexos depositados nas paredes dos vasos e nos tecidos ativam os leucócitos e mastócitos, que, então, secretam citocinas e mediadores vasoativos. Esses mediadores podem aumentar a deposição de imunocomplexo nas paredes dos vasos em razão do aumento da permeabilidade vascular e do fluxo sanguíneo que promovem.

Muitas doenças imunológicas sistêmicas em seres humanos são causadas pela deposição de imunocomplexos nos vasos sanguíneos (Tabela 19-3). O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune na qual complexos constituídos de antígenos e anticorpos nucleares depositam-se nos rins, nos vasos sanguíneos, na pele e em outros tecidos. Em quase 50% dos casos de um tipo de vasculite mediada por imunocomplexo envolvendo artérias musculares médias, a poliarterite nodosa, os complexos são compostos de antígenos virais e anticorpos e a doença é uma complicação tardia da infecção viral, mais frequentemente com o vírus da hepatite

B. Esse também é o mecanismo de uma doença chamada glomerulonefrite pós-estreptocócica, que se desenvolve em casos raros após a infecção estreptocócica e é causada por complexos de antígeno estreptocócico e anticorpos que se depositam nos glomérulos do rim. Em algumas formas de glomerulonefrite, os imunocomplexos não são detectados na circulação, o que nos faz acreditar que os antígenos são inicialmente fixados no rim e os complexos se formam localmente.

---

### Tabela 19-3

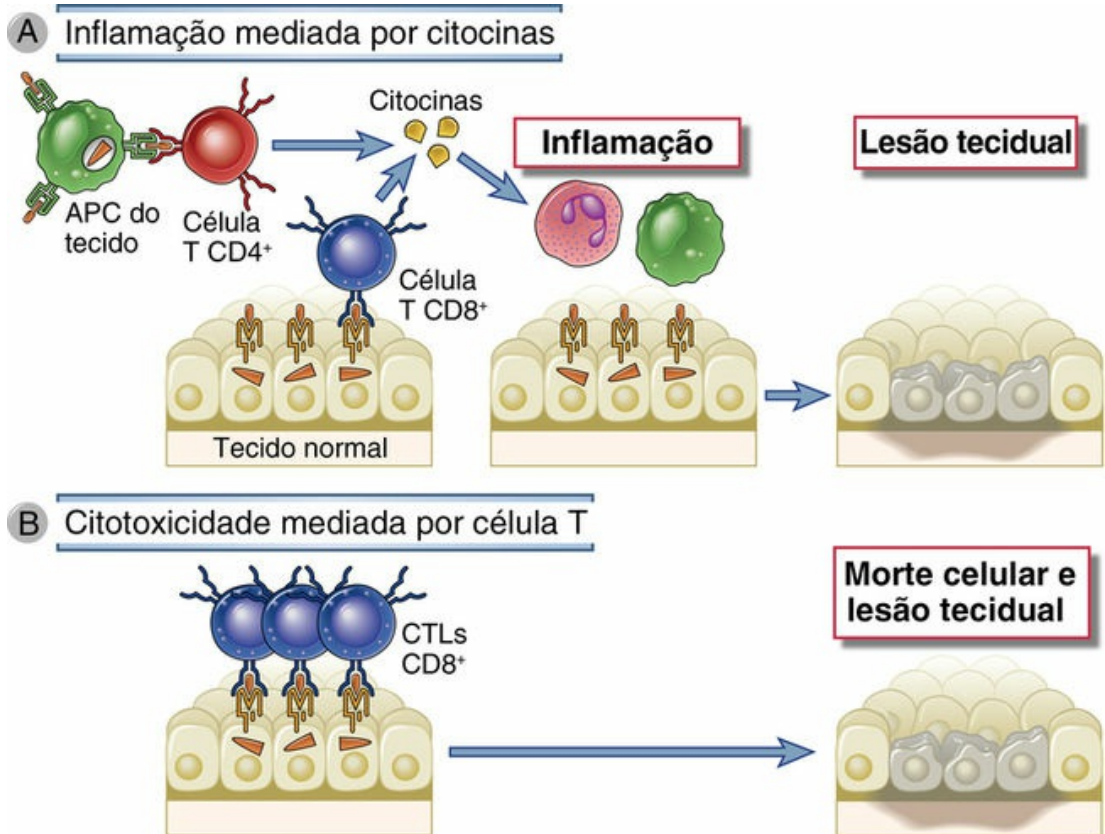
#### Exemplos de Doenças Humanas Mediadas por Imunocomplexos

---

Doença	Antígeno Envolvido	Manifestações Clinicopatológicas
Lúpus eritematoso sistêmico	DNA, nucleoproteínas, outros	Nefrite, artrite, vasculite
Poliarterite nodosa	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B (em alguns casos)	Vasculite
Glomerulonefrite pós-estreptocócica	Antígeno da parede celular do estreptococo	Nefrite
Doença do soro	Diversas proteínas	Artrite, vasculite, nefrite

## Doenças causadas por linfócitos T

**Os linfócitos T danificam os tecidos pelo desencadeamento de inflamação ou por matar diretamente as células-alvo (Fig. 19-5).** As reações inflamatórias são desencadeadas principalmente por células T CD4<sup>+</sup> das subpopulações TH1 e TH17, que secretam citocinas que recrutam e ativam os leucócitos. Em algumas doenças mediadas por células T, os CTLs CD8<sup>+</sup> matam as células hospedeiras. As células T que causam lesão dos tecidos podem ser autorreativas ou específicas para os antígenos proteicos estranhos que são apresentados no interior ou ligados a células ou tecidos. A lesão tecidual mediada por linfócitos T também pode ser acompanhada de fortes respostas imunes protetoras contra microrganismos persistentes, especialmente microrganismos intracelulares que resistem à erradicação pelos fagócitos e anticorpos.



**FIGURA 19-5** Mecanismos das doenças mediadas por células T.

**A**, Nas reações inflamatórias mediadas por citocinas, as células T CD4<sup>+</sup> (e, às vezes, as células CD8<sup>+</sup>) respondem aos antígenos dos tecidos secretando citocinas que estimulam a inflamação e ativam os fagócitos, produzindo lesão tecidual. APC, célula apresentadora de antígeno (do inglês *antigen-presenting cell*). **B**, Em algumas doenças, as CTLs CD8<sup>+</sup> matam diretamente as células dos tecidos.

A grande suspeita de um papel das células T na promoção de uma doença imunológica específica dá-se, em maioria, devido à demonstração da presença de células T em lesões e na detecção de níveis aumentados de citocinas no sangue ou tecidos que podem ser derivadas de células T. Os modelos animais foram muito úteis na elucidação da patogenia desses transtornos.

## Doenças Causadas por Inflamação Mediada por Citocinas

**Na inflamação imunomediada, as células TH1 e TH17 secretam citocinas que recrutam e ativam leucócitos.** IL-17, produzida por células TH17, promove o



recrutamento de neutrófilos; interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), produzido por células T<sub>H</sub>1, ativa macrófagos; e o fator de necrose tumoral (TNF) e as quimiocinas, produzidos pelos linfócitos T e outras células, estão envolvidos no recrutamento e ativação de muitos tipos de leucócitos. Apesar de enfatizar as células T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17 como as fontes dessas citocinas, muitas outras células podem produzir as mesmas citocinas nas lesões. Por exemplo, em alguns modelos animais de inflamação cutânea crônica, a fonte de IL-17 no início do curso da doença parece ser as células T  $\gamma\delta$ .

A lesão tecidual resulta de produtos dos neutrófilos e macrófagos recrutados e ativados, tais como enzimas lisossomais, espécies reativas de oxigênio, óxido nítrico e citocinas pró-inflamatórias (Cap. 10). As células endoteliais vasculares nas lesões podem expressar níveis aumentados de proteínas de superfície, tais como moléculas de adesão e moléculas MHC classe II, regulados por citocinas. A inflamação associada a doenças mediadas por células T normalmente é crônica, mas crises de inflamação aguda podem se sobrepor em uma condição de inflamação crônica. A hipersensibilidade do tipo tardio (DTH, do inglês *delayed-type hypersensitivity*) é um exemplo dessas reações inflamatórias e será descrita mais adiante. As reações inflamatórias crônicas frequentemente produzem fibrose, como resultado da secreção de citocinas e de fatores de crescimento por macrófagos e células T.

***Muitas doenças autoimunes específicas de órgãos são causadas pela interação de células T autorreativas com autoantígenos, o que leva à liberação de citocinas e inflamação.*** Acredita-se que esse seja o principal mecanismo de base da artrite reumatoide (AR), da esclerose múltipla, do diabetes melito do tipo 1, da psoríase e de outras doenças autoimunes (Tabela 19-4). Algumas delas são descritas em maior detalhe ao final deste capítulo.

**Tabela 19-4****Doenças Mediadas pela Célula T**

Doença	Especificidade das Células T Patogênicas	Mecanismos Principais de Lesão Tecidual
Artrite reumatoide	Colágeno? Proteínas próprias citrulinadas?	Inflamação mediada pelas citocinas $T_H1$ e $T_H17$ Papel dos anticorpos e dos imunocomplexos?
Esclerose múltipla	Antígenos proteicos na mielina (p. ex., proteína básica de mielina)	Inflamação mediada pelas citocinas $T_H1$ e $T_H17$ Destruição da mielina por macrófagos ativados
Diabetes melito tipo I	Antígenos das células $\beta$ das ilhotas pancreáticas (insulina, descarboxilase do ácido glutâmico, outros)	Inflamação mediada por célula T Destruição das células das ilhotas por CTLs
Doença intestinal inflamatória	Bactérias entéricas Antígenos próprios?	Inflamação mediada pelas citocinas $T_H1$ e $T_H17$
Psoríase	Antígenos cutâneos desconhecidos	Inflamação mediada por citocinas derivadas de células T

Lista de exemplos de doenças humanas mediadas por células T. Em muitos casos, a especificidade das células T e os mecanismos de lesão tecidual são referidos com base na similaridade com modelos experimentais dessas doenças em animais. Os papéis das células  $T_H1$  e  $T_H17$  foi inferido de modelos experimentais e pela presença de citocinas específicas de subpopulações nas lesões humanas. As citocinas podem ser produzidas por outras células além dos linfócitos T  $CD4^+$ . Os ensaios de acompanhamento clínico dessas citocinas-alvo podem fornecer novas informações acerca das contribuições das citocinas nas diferentes doenças.

**Reações de células T específicas para microrganismos e outros antígenos estranhos também podem levar a inflamação e lesão dos tecidos.** Bactérias intracelulares, tais como *Mycobacterium tuberculosis*, induzem fortes respostas de células T e de macrófagos que resultam em inflamação granulomatosa e fibrose (descritas mais adiante); a inflamação e a fibrose podem causar destruição extensa do tecido e incapacidade funcional, caracteristicamente nos pulmões. A tuberculose é um bom exemplo de uma doença infecciosa, na qual a lesão tecidual se deve, principalmente, à resposta imune do hospedeiro (Cap. 16). Uma variedade de doenças cutâneas que resultam da exposição tópica a produtos químicos e antígenos ambientais, chamada **sensibilidade de contato**, ocorre em decorrência de reações inflamatórias, provavelmente desencadeadas por neoantígenos formados pela ligação dos produtos químicos a proteínas próprias. As células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$  podem ser a fonte de citocinas nas reações de sensibilidade de contato. Exemplos de sensibilidade de contato incluem erupções cutâneas induzidas por hera venenosa e veneno de carvalho (nas quais as células T reagem contra proteínas próprias que

foram modificadas por substâncias químicas produzidas pelas plantas, denominadas uruxióis) e erupções cutâneas induzidas pelo contato com metais (níquel e berílio), além de uma variedade de produtos químicos, tais como tiourama, que é utilizado na fabricação de luvas de látex. Algumas dessas reações tornam-se crônicas e são chamadas clinicamente de **eczema**. Acredita-se que as respostas das células T contra as bactérias intestinais são a base de algumas formas de doença intestinal inflamatória.

A reação inflamatória clássica mediada por células T é chamada de **hipersensibilidade de tipo tardio** e será descrita a seguir.

### **Hipersensibilidade do Tipo Tardio**

***A hipersensibilidade do tipo tardio (DTH) é uma reação inflamatória prejudicial mediada por citocinas resultantes da ativação de células T, particularmente das células T CD4<sup>+</sup>. A reação é chamada tardia porque se desenvolve tipicamente 24 a 48 horas após o desafio com o antígeno, em contraste com as reações de hipersensibilidade imediata (alérgicas), que se desenvolvem em minutos (Cap. 20).***

No modelo animal clássico de DTH, um porquinho-da-índia é imunizado pela primeira vez pela administração de um antígeno de uma proteína em adjuvante; este passo é chamado de sensibilização. Cerca de 2 semanas depois, o animal é desafiado por via subcutânea com o mesmo antígeno e a subsequente reação é analisada; este passo é chamado de fase de elicitação. Humanos podem ser sensibilizados para as reações DTH por infecção microbiana, por sensibilização de contato com produtos químicos e antígenos ambientais ou por injeção intradérmica ou subcutânea de antígenos proteicos (Fig. 19-6). A exposição subsequente ao mesmo antígeno (chamada de desafio) provoca a reação. Por exemplo, o derivado proteico purificado (PPD), um antígeno proteico do *Mycobacterium tuberculosis*, induz uma reação de DTH, a chamada reação de tuberculina, quando é injetado em indivíduos que tenham sido expostos ao *M. tuberculosis*. Uma resposta positiva do teste cutâneo de tuberculina é um indicador clínico amplamente utilizado para se evidenciar uma infecção prévia ou ativa de tuberculose.

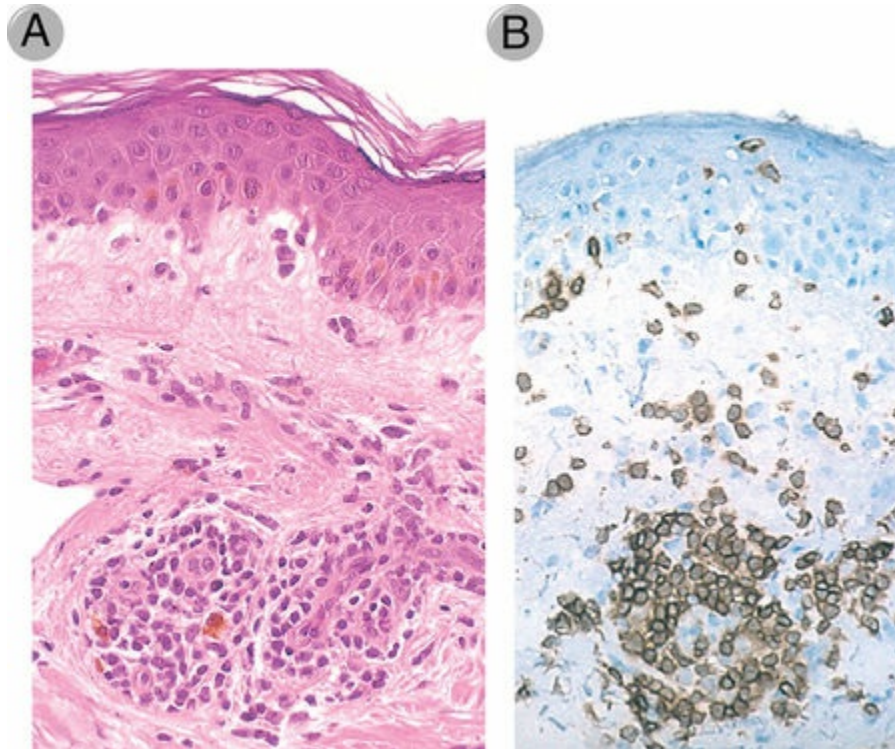


**FIGURA 19-6** Reação de hipersensibilidade do tipo tardio.

A infecção ou imunização (vacinação) sensibiliza um indivíduo, e o desafio subsequente com um antígeno do agente infeccioso elicitava uma reação de DTH. A reação é manifestada pelo endurecimento com eritema e inchaço no local do desafio, com pico em aproximadamente 48 horas. (Cortesia de Dr. J. Faix, Department of Pathology, Stanford

University School of Medicine, Palo Alto, California.)

A resposta característica de DTH evolui durante 24 a 48 horas. Cerca de 4 horas depois da injeção do antígeno em um indivíduo sensibilizado, os neutrófilos acumulam-se em torno das vênulas pós-capilares no local da injeção. Aproximadamente após 12 horas, o local da injeção torna-se infiltrado por células T e monócitos sanguíneos, também organizados em uma distribuição perivenular (Fig. 19-7). As células endoteliais que revestem essas vênulas tornam-se intumescidas, exibem aumento da biossíntese de organelas e tornam-se permeáveis às macromoléculas plasmáticas. Há escape de fibrinogênio dos vasos sanguíneos para os tecidos circundantes, onde é convertido em fibrina. A deposição de fibrina, o edema e o acúmulo de células T e de monócitos no espaço extravascular do tecido em torno do local da injeção promovem o inchaço do tecido, que se torna firme (endurecido). O endurecimento, um recurso de diagnóstico de DTH, é detectável por cerca de 18 horas após a injeção do antígeno e torna-se máximo 24 a 48 horas após. Na prática clínica, a perda de resposta de DTH para antígenos universalmente encontrados (p. ex., antígenos de *Candida*) é uma indicação de deficiência da função das células T, uma condição conhecida como **anergia**. (Esta perda de capacidade de resposta imunológica geral é diferente da anergia de linfócitos, um mecanismo para a manutenção da tolerância a antígenos específicos, discutida no [Cap. 15](#).)



**FIGURA 19-7** Morfologia da reação de hipersensibilidade do tipo tardio.

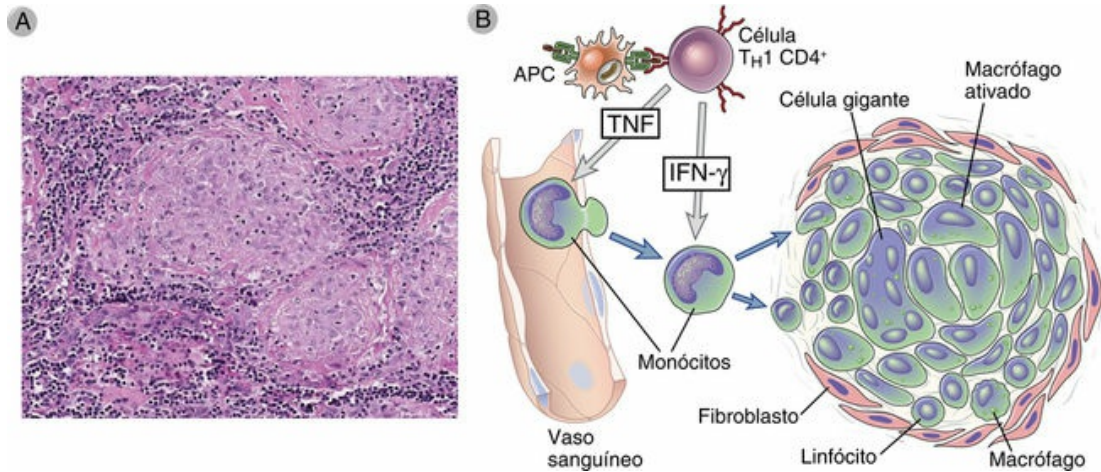
**A**, Exame histopatológico da reação na pele ilustrada na [Figura 19-6](#) mostra o infiltrado de células mononucleares perivasculars na derme. No maior aumento (não mostrado), o infiltrado observado consiste em linfócitos e macrófagos ativados ao redor dos vasos sanguíneos nos quais as células endoteliais também estão ativadas. **B**, Coloração imunohistoquímica demonstra a presença de muitos linfócitos T CD4<sup>+</sup>. (Cortesia de Dr. J. Faix, Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California).

Embora a DTH tenha sido tradicionalmente considerada uma reação prejudicial mediada por T<sub>H</sub>1, outras células T podem contribuir para a inflamação. Em algumas lesões de DTH, os neutrófilos são proeminentes, o que sugere o envolvimento de células T<sub>H</sub>17. Em infecções por alguns parasitas helmínticos, as reações contra os ovos do parasita provocam uma DTH com um forte componente de eosinófilos. Nesses casos, foi demonstrado um papel para as citocinas T<sub>H</sub>2. As células T CD8<sup>+</sup> também produzem IFN- $\gamma$  e contribuem para as reações de DTH, especialmente na pele.

***As reações crônicas de DTH podem se desenvolver se uma resposta T<sub>H</sub>1 a uma infecção ativar os macrófagos, mas não conseguir eliminar os microrganismos fagocitados. Se os microrganismos estiverem localizados em***



**uma área pequena, a reação produzirá nódulos de tecido inflamatório chamados de granulomas** (Fig. 19-8, A). ADTH crônica, tal como exemplificado por uma inflamação granulomatosa, é causada por sinais prolongados de citocinas (Fig. 19-8, B). Nessas reações, as células T e os macrófagos ativados continuam a produzir citocinas e fatores de crescimento que amplificam as reações dos dois tipos celulares e modificam progressivamente o ambiente do tecido local. O resultado é um ciclo de lesão tecidual e inflamação crônica, seguido por substituição com tecido conjuntivo (fibrose). Em reações crônicas de DTH, os macrófagos ativados também sofrem alterações em resposta a sinais persistentes de citocinas. Esses macrófagos desenvolvem citoplasma e organelas citoplasmáticas aumentados e podem se assemelhar, histologicamente, às células epiteliais cutâneas, motivo pelo qual eles, às vezes, são chamados de células epitelioides. Os macrófagos ativados podem se fundir para formar células gigantes multinucleadas. A inflamação granulomatosa é uma tentativa de conter a infecção, mas também é a causa de lesão tecidual significativa e prejuízo funcional. Esse tipo de inflamação é uma resposta característica de alguns microrganismos persistentes, como *M. tuberculosis* e alguns fungos. Grande parte da dificuldade respiratória associada à tuberculose ou infecção fúngica crônica do pulmão é causada pela substituição do tecido pulmonar normal por tecido fibroso e não é diretamente atribuível aos microrganismos.



**FIGURA 19-8** Inflamação granulomatosa.

**A**, Linfonodo de um paciente com tuberculose contendo granulomas com macrófagos ativados, células gigantes multinucleadas e linfócitos. Em alguns granulomas, pode existir uma área central de necrose. Estudos imunohistoquímicos poderiam identificar os linfócitos como células T. **B**, Mecanismos de formação do granuloma. Citocinas estão envolvidas na geração de células  $T_H1$ , ativação de macrófagos e recrutamento de leucócitos. As reações prolongadas desse tipo levam à formação de granulomas.

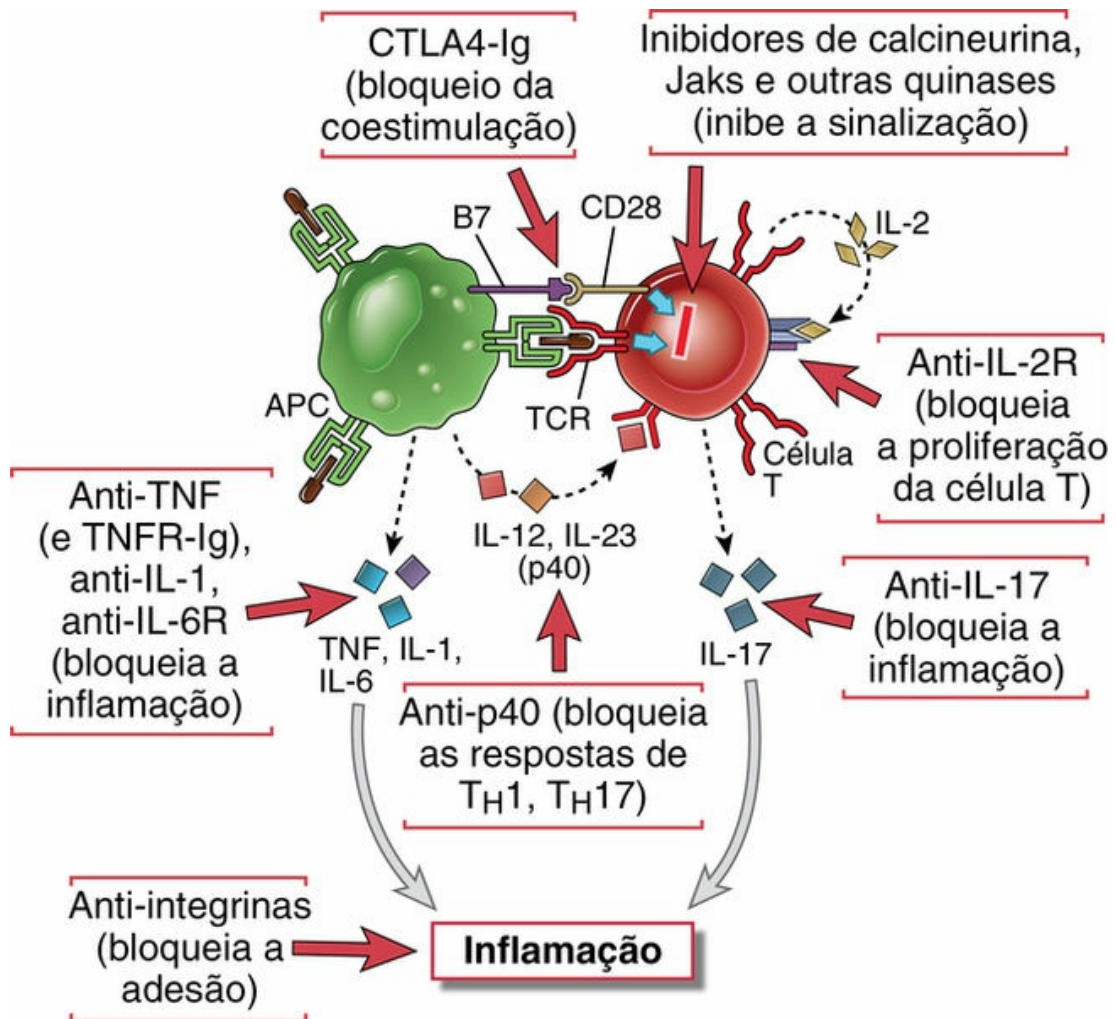
## Doenças Causadas por Linfócitos T Citotóxicos

**As respostas de CTLs à infecção viral podem levar à lesão tecidual em decorrência da morte das células infectadas, mesmo se o vírus por si só não tiver efeitos citopáticos.** A principal função fisiológica dos CTLs é eliminar os microrganismos intracelulares, principalmente vírus, matando as células infectadas. Alguns vírus lesionam diretamente as células infectadas e são referidos como sendo citopáticos, ao passo que outros não o são. Como os CTLs podem não ser capazes de distinguir entre os vírus citopáticos e não citopáticos, matam células infectadas por vírus, não importando se a própria infecção é prejudicial para o hospedeiro. Exemplos de infecções virais, nas quais as lesões se devem à resposta de CTL do hospedeiro e não ao próprio vírus, incluem a coriomeningite linfocitária em camundongos e determinadas formas de hepatite viral em humanos (Cap. 16).

Os CTLs podem contribuir para a lesão de tecidos em doenças autoimunes nas quais a destruição de determinadas células hospedeiras é um componente importante, como acontece no diabetes melito tipo 1, onde as células  $\beta$  produtoras de insulina nas ilhotas pancreáticas são destruídas.

## Abordagens terapêuticas para as doenças imunológicas

Uma das realizações recentes mais impressionantes da Imunologia foi o desenvolvimento de novas terapias para doenças imunológicas com base no entendimento da ciência básica (Fig. 19-9). Os tratamentos podem ser divididos em vários grupos amplos.



**FIGURA 19-9** Novas terapias para doenças inflamatórias com alvo em respostas de células T.

A figura ilustra locais de ação de alguns novos agentes desenvolvidos para o bloqueio de diferentes componentes das respostas imunes. Muitos desses agentes têm como alvo as citocinas e seus receptores. A depleção de células B por anticorpos anti-CD20 também pode reduzir as respostas patológicas de células T (*não mostrado*).

## Agentes Anti-Inflamatórios

A base do tratamento para as doenças de hipersensibilidade foi, durante muitos anos, o emprego de fármacos anti-inflamatórios, particularmente corticosteroides. Esses fármacos inibem a secreção de citocinas e de outros mediadores de inflamação e, assim, reduzem a inflamação associada às respostas imunes patológicas.

## Depleção de Células e de Anticorpos

Os anticorpos monoclonais que depletam todas as células linfoides, somente as células B ou somente as células T são utilizados para tratar doenças inflamatórias graves. No [Capítulo 5](#), listamos alguns desses anticorpos usados na prática clínica ([Tabela 5-3](#)). Um desenvolvimento recente é a utilização bem-sucedida do anticorpo anti-CD20 (rituximab), que depleta apenas células B, para o tratamento de doenças que se pensava serem causadas principalmente pela inflamação mediada por células T. Este tratamento tem demonstrado eficácia em alguns pacientes com artrite reumatoide (AR), esclerose múltipla ou outros distúrbios autoimunes. A eficácia do anti-CD20 pode estar relacionada com um papel das células B nas respostas de células T, especialmente a geração e manutenção das células T de memória. A plasmáfereze tem sido utilizada para eliminar os autoanticorpos e imunocomplexos circulantes.

## Terapias Anticitocinas

Um grande número de citocinas e seus receptores envolvidos na inflamação têm sido alvos de antagonistas específicos para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas mediadas por célula T ([Tabela 19-5](#)). O primeiro sucesso com esta classe de agentes biológicos veio com uma forma solúvel do receptor de TNF e anticorpos anti-TNF, que se ligam e neutralizam esta citocina. Esses agentes proporcionam grande vantagem em muitos pacientes com AR, doença de Crohn e psoríase cutânea. Anticorpos contra o receptor da IL-6 foram utilizados com sucesso em ensaios para a AR juvenil e adulta. Antagonistas de outras citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, a cadeia p40 que está presente em IL-12 e em IL-23, IL-6, IL-17 e outras, estão em uso ou em ensaios clínicos para doenças inflamatória.

## Tabela 19-5

### Exemplos de Antagonistas de Citocinas em Uso Clínico ou em Ensaios Clínicos

Citocina ou Receptor de Interesse	Efeito Biológico de Antagonismo Previsto	Indicações Clínicas
TNF	Inibe a migração de leucócitos para os locais de inflamação	Artrite reumatoide, psoríase, doença intestinal inflamatória
IL-1	Inibe a migração de leucócitos para os locais de inflamação	Síndromes autoinflamatórias raras, gota grave, artrite reumatoide
IL-6, Receptor de IL-6	Inibe inflamação, respostas de anticorpos?	Artrite juvenil idiopática, artrite reumatoide
IL-17	Inibe o recrutamento de leucócitos para os locais de inflamação	Psoríase; possivelmente artrite reumatoide (ensaios em andamento)
Cadeia p40 da IL-12 e IL-23	Inibe as respostas T <sub>H</sub> 1 e T <sub>H</sub> 17	Doença intestinal inflamatória, psoríase
Receptor de IL-2 (CD25)	Inibe a proliferação de células T mediada por IL-2	Rejeição aguda do enxerto
IFN- $\alpha$	Pode ter múltiplos efeitos sobre a diferenciação de T <sub>H</sub> 1, produção de anticorpo	Lúpus eritematoso sistêmico
IL-4/IL-13	Inibe a diferenciação e a função de T <sub>H</sub> 2, produção de IgE	Asma
BAFF	Reduz a sobrevivência de linfócitos B	Lúpus eritematoso sistêmico

A tabela lista exemplos de antagonistas contra citocinas (anticorpos ou receptores solúveis) que estão aprovados para uso ou ensaios clínicos.

*IFN*, interferon; *IL*, interleucina; *TNF*, fator de necrose tumoral (do inglês *tumor necrosis factor*).

## Agentes que Inibem Interações Célula-Célula e Migração de Leucócitos

Os agentes que bloqueiam os coestimuladores B7 estão aprovados para o tratamento da AR e da rejeição ao enxerto. Os anticorpos contra as integrinas têm sido utilizados para inibir a migração de leucócitos para os tecidos, particularmente o sistema nervoso central (SNC) na esclerose múltipla; uma complicação rara, mas grave, do tratamento com este anticorpo será descrita posteriormente neste capítulo na discussão sobre esclerose múltipla. Os anticorpos contra o ligante de CD40 bloqueiam a ativação de células B e de macrófagos mediada por células T e foram benéficos em pacientes com esclerose múltipla e doença intestinal inflamatória, mas alguns dos pacientes tratados desenvolveram complicações trombóticas, aparentemente porque essa molécula é expressa em plaquetas humanas (onde sua função é desconhecida).

## IgG Intravenosa

Doses elevadas de IgG intravenosa (IVIG) apresentam efeitos benéficos em algumas

hipersensibilidades. Não está claro como esse agente suprime a inflamação imune; uma possibilidade é que a IgG se ligue ao receptor inibidor de Fc (FcγRIIB) em macrófagos e linfócitos B e, assim, diminua a resposta inflamatória (Cap. 12). IgG também pode competir com os anticorpos patogênicos para a ligação ao receptor Fc neonatal (FcRn), que funciona em adultos para proteger os anticorpos do catabolismo (Cap. 5), resultando na redução da meia-vida dos anticorpos patogênicos.

## **Terapias Baseadas em Células T Reguladoras**

Recentemente, tem havido grande interesse em explorar nosso conhecimento das células T reguladoras (Tregs) para tratar doenças inflamatórias. Diversos ensaios clínicos estão em andamento para purificar Tregs de pacientes, expandi-las e ativá-las em cultura e, então, transferi-las de volta para os pacientes. Outra abordagem é tratar os pacientes com doses baixas de IL-2 na expectativa de ativar e manter as Tregs mais do que as células efetoras.

Há tentativas em andamento de tratamentos mais específicos, como a indução de tolerância em células T produtoras de doença. A esclerose múltipla e o diabetes melito tipo 1 são duas doenças imunes em que os antígenos-alvo foram definidos; em ambas as doenças, os estudos clínicos em curso apostam na administração de antígenos (peptídeos de proteína básica de mielina e de insulina, respectivamente) a pacientes de forma a tolerizar linfócitos específicos para esses antígenos. Um risco de muitos tratamentos que bloqueiam vários componentes do sistema imune é a possível interferência com a função normal do sistema imunológico no combate a microrganismos e, portanto, tornar os indivíduos suscetíveis a infecções. A tolerância específica ao antígeno evita esse problema ao determinar seletivamente o alvo dos linfócitos que causam a doença. Esses princípios gerais assemelham-se àqueles nos quais se baseia o tratamento da rejeição ao transplante (Cap. 17).

## **Doenças imunológicas selecionadas: patogenia e estratégias terapêuticas**

Na seção a seguir, descreveremos a patogenia de doenças selecionadas que são causadas por anticorpos e células T e a aplicação de novas terapias para essas doenças para ilustrar os princípios que discutimos anteriormente.

### **Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES): O Protótipo de Doença Mediada por Imunocomplexo**

O LES é uma doença crônica, recidivante e remitente, autoimune multissistêmica, que afeta predominantemente o sexo feminino, com incidência nos Estados Unidos de 1 em 700 mulheres entre 20 e 60 anos de idade (cerca de 1 em 250 entre as mulheres



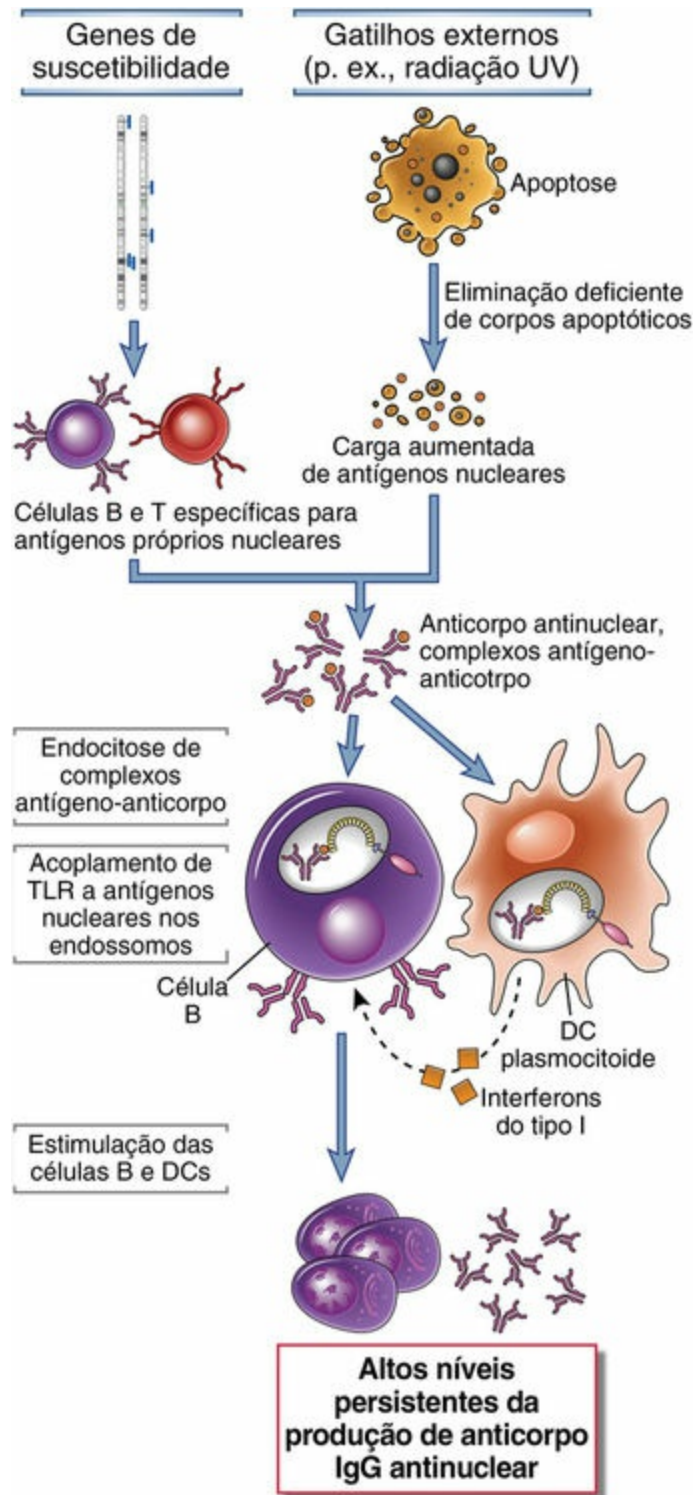
negras) e uma relação de 10:1 entre mulheres e homens. As principais manifestações clínicas incluem erupções cutâneas, artrite e glomerulonefrite, mas anemia hemolítica, trombocitopenia e envolvimento do SNC também são comuns. Muitos autoanticorpos diferentes são encontrados em pacientes com LES. Os mais frequentes são os anticorpos antinucleares, particularmente anti-DNA; outros incluem anticorpos contra ribonucleoproteínas, histonas e antígenos de nucléolo. Os imunocomplexos formados a partir desses autoanticorpos e seus antígenos específicos são responsáveis por glomerulonefrite, artrite e vasculite envolvendo artérias pequenas por todo o corpo. A anemia hemolítica e a trombocitopenia ocorrem devido a autoanticorpos contra eritrócitos e plaquetas, respectivamente. O teste de diagnóstico principal para a doença é a presença de anticorpos antinucleares; os anticorpos contra o DNA nativo de fita dupla são específicos para o LES.

### **Patogenia do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

O LES é uma doença complexa, na qual fatores genéticos e ambientais contribuem para a quebra de tolerância de linfócitos B e T autorreativos. Entre os fatores genéticos, a herança de determinados alelos HLA é um fator importante. A *odds ratio* (risco relativo) para indivíduos com HLA-DR2 ou HLA-DR3 é de 2 a 3 e, se ambos os haplótipos estiverem presentes, ela é de aproximadamente 5. As deficiências genéticas de proteínas da via clássica de ativação do complemento, especialmente C1q, C2 ou C4, são observadas em cerca de 5% dos pacientes com LES. As deficiências do complemento podem resultar na remoção defeituosa de imunocomplexos e de células apoptóticas e falha na tolerância de células B. Um polimorfismo no receptor de Fc inibidor, FcγRIIB, foi descrito em alguns pacientes; isso pode contribuir para o controle inadequado da ativação de células B ou para uma falha na atenuação das respostas inflamatórias em células do sistema imune inato. Muitos outros genes foram detectados por estudos de associação em todo o genoma e o papel de alguns destes, como o PTPN22, foi considerado no [Capítulo 15](#). Também foram identificadas mutações em TREX1, conforme discutido a seguir. Os fatores ambientais incluem a exposição à luz ultravioleta (UV). Postula-se que isso conduza à morte apoptótica de células e liberação de antígenos nucleares.

Duas observações levaram a novas hipóteses sobre a patogenia do LES. Em primeiro lugar, os estudos em pacientes revelaram que as células sanguíneas exibem uma assinatura molecular marcante (padrão de expressão de genes) que indica exposição ao IFN-α, um interferon de tipo I que é produzido principalmente por células dendríticas plasmocitoides. Alguns estudos mostraram que as células dendríticas plasmocitoides de pacientes com LES também produzem anormalmente grandes quantidades de IFN-α. Em segundo lugar, estudos em modelos animais demonstraram que os receptores do tipo *Toll* (TLRs) que reconhecem DNA e RNA, notadamente o TLR9, que reconhece DNA, e o TLR7, que reconhece RNA-TLR7, desempenham um papel na ativação de células B específicas para os autoantígenos

nucleares. Com base nesses estudos, foi proposto um modelo para a patogenia de LES (Fig. 19-10). De acordo com este modelo, a radiação UV e outros insultos ambientais induzem apoptose de células. A remoção inadequada dos núcleos dessas células, em parte por causa de defeitos nos mecanismos de eliminação, como proteínas do complemento e nucleases como TREX1, resulta em grande liberação de antígenos nucleares. Polimorfismos em diversos genes de suscetibilidade para o lúpus levam à habilidade defeituosa para manter a autotolerância em linfócitos B e T, motivo pelo qual os linfócitos autorreativos permanecem funcionais. A falha na tolerância de células B pode ocorrer em virtude de defeitos na edição do receptor ou na deleção de células B imaturas na medula óssea ou na tolerância periférica. As células B autorreativas que não se tornam tolerantes são estimuladas por antígenos próprios nucleares e ocorre produção de anticorpos contra esses antígenos. Os complexos de antígenos e anticorpos ligam-se a receptores de Fc em células dendríticas e ao receptor de antígeno de células B e podem ser internalizados em endossomos. Os componentes de ácidos nucleicos ligam-se a TLRs endossomais e estimulam as células B a produzirem autoanticorpos e as células dendríticas, particularmente as plasmocitoides, a produzirem IFN- $\alpha$ , que aumenta ainda mais a resposta imune e pode provocar mais apoptose. O resultado final é um ciclo de liberação de antígenos e ativação do sistema imune que leva à produção de autoanticorpos de alta afinidade.



**FIGURA 19-10** Um modelo para a patogênese do lúpus eritematoso sistêmico (LES).

Nesse modelo hipotético, diversos genes de suscetibilidade interferem na manutenção da autotolerância e gatilhos externos levam à persistência dos antígenos nucleares. O resultado é uma resposta de anticorpos contra antígenos nucleares próprios, que é amplificada pela ativação

dependente de TLR de células dendríticas e células B por ácidos nucleicos e pela produção de interferons do tipo I.

## Novas Terapias para o Lúpus Eritematoso Sistêmico

Os recentes avanços em nossa compreensão de LES têm feito surgir novas abordagens terapêuticas. Há ensaios clínicos em andamento com objetivo de testar a eficácia de anticorpos anti-IFN- $\alpha$  na doença e de tentar inibir os sinais de TLR. Tem havido grande interesse na depleção de células B por meio da utilização de um anticorpo contra a proteína de superfície de células B, CD20. Um anticorpo que bloqueia o fator de crescimento de células B (BAFF) foi recentemente aprovado para o tratamento de LES. Os ensaios clínicos de depleção de célula B utilizando anticorpos anti-CD20 ou anti-BAFF têm apresentado sucesso limitado. Ainda que a ideia de depleção de células B não tenha sido abandonada, são necessárias novas abordagens terapêuticas.

## Artrite Reumatoide

A artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória que envolve pequenas e grandes articulações das extremidades, incluindo dedos das mãos e pés, punhos, ombros, joelhos e tornozelos. A doença é caracterizada por inflamação da sinóvia associada à destruição da cartilagem articular e do osso, com uma imagem morfológica indicativa de uma resposta imune local. Ambas as respostas imunes, humoral e mediada por células, podem contribuir para o desenvolvimento de sinovite. Diversas células são encontrados na sinóvia inflamada, incluindo células  $T_H1$   $CD4^+$  e  $T_H17$ , linfócitos B ativados, plasmócitos e macrófagos, bem como outras células inflamatórias. Em casos graves, os folículos linfoides bem formados com centros germinativos (os chamados órgãos linfoides terciários) podem estar presentes. Inúmeras citocinas, incluindo IL-1, IL-8, TNF, IL-6, IL-17 e IFN- $\gamma$ , foram detectadas no líquido sinovial (articular). Acredita-se que as citocinas recrutem leucócitos, cujos produtos causam lesão dos tecidos, além de também estimular células sinoviais residentes a produzirem enzimas proteolíticas, tais como a colagenase, que medeiam a destruição das cartilagens, ligamentos e tendões das articulações. A atividade aumentada dos osteoclastos nas articulações contribui para a destruição óssea na AR, o que pode ser causado pela produção do ligante de uma citocina da família do TNF, RANK (receptor ativador do fator nuclear  $\kappa B$ ), por células T ativadas. O ligante de RANK liga-se a RANK, um membro da família do receptor de TNF, que é expresso em precursores de osteoclastos e induz a diferenciação e ativação dessas células. Complicações sistêmicas da AR incluem vasculite, presumivelmente causada por imunocomplexos, e lesão pulmonar.

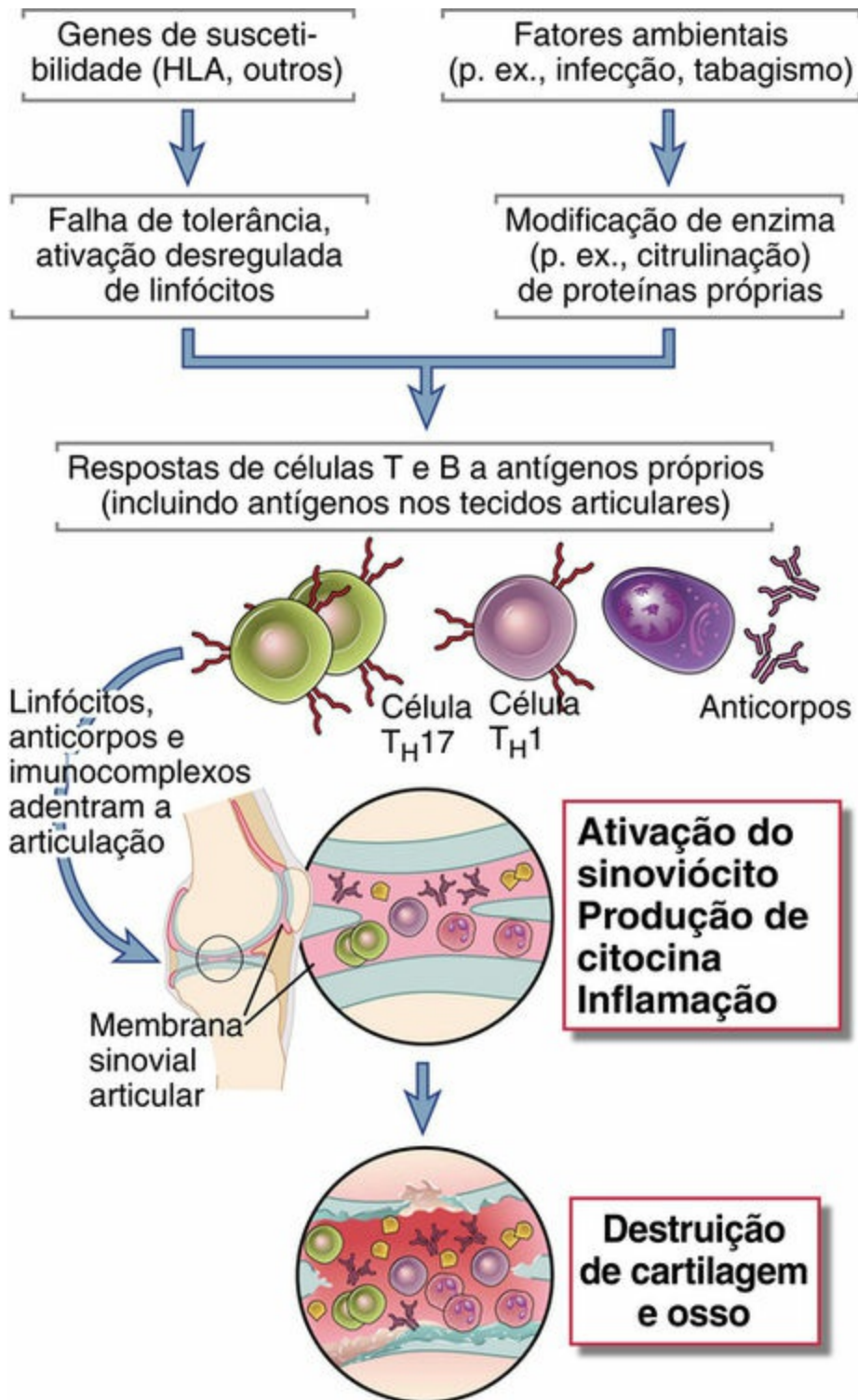
Embora grande parte da ênfase em estudos de AR tenha sido sobre o papel das

células T, os anticorpos também podem contribuir para a destruição da articulação. As células B ativadas e os plasmócitos estão frequentemente presentes na sinóvia das articulações afetadas. Os pacientes frequentemente apresentam anticorpos circulantes IgM ou IgG que reagem com as porções Fc (e raramente Fab) de suas próprias moléculas de IgG. Esses autoanticorpos são denominados fatores reumatóides, e sua presença é utilizada como um teste de diagnóstico para a AR. Os fatores reumatóides podem participar na formação de imunocomplexos prejudiciais, mas seu papel patogênico ainda não foi estabelecido. Outro tipo de anticorpo que foi detectado em pelo menos 70% dos pacientes é específico para peptídeos citrulinados cíclicos (CCP, do inglês *cyclic citrullinated peptides*), que são derivados de determinadas proteínas que são modificadas em um ambiente inflamatório pela conversão enzimática de resíduos de arginina em citrulina. Esses anticorpos anti-CCP constituem um marcador diagnóstico para a doença e podem estar envolvidos na lesão tecidual.

### **Patogenia da Artrite Reumatóide**

Como outras doenças autoimunes, a AR é uma doença complexa, na qual fatores genéticos e ambientais contribuem para a quebra de tolerância a antígenos próprios. A especificidade das células B e T patogênicas permanece desconhecida, embora já se tenha estabelecido a existência de ambas as células B e T capazes de reconhecer peptídeos citrulinados. A suscetibilidade à AR está ligada ao haplótipo HLA-DR4. Estudos recentes de correlação e de associação do genoma total revelaram um grande número de genes nos quais existem polimorfismos associados à AR. Existe uma associação com o gene que codifica uma fosfatase de tirosina, o PTPN22, discutido no [Capítulo 15](#).

A identificação de respostas imunes anti-CCP levou a novas ideias sobre a patogenia da AR ([Fig. 19-11](#)). De acordo com um modelo, agressões ambientais, como tabagismo e algumas infecções, induzem a citrulinização de proteínas próprias, levando à criação de novos epítomos antigênicos. Em indivíduos geneticamente suscetíveis, a tolerância a esses epítomos pode falhar, resultando em respostas de anticorpos e de células T contra as proteínas. Se essas proteínas próprias modificadas também estiverem presentes nas articulações, as células T e os anticorpos atacam as articulações. Células T<sub>H</sub>17, e talvez T<sub>H</sub>1, secretam citocinas que recrutam leucócitos para a articulação e ativam células sinoviais para produzir colagenases e outras enzimas. O resultado final é a destruição progressiva da cartilagem e do osso. As respostas imunes crônicas nas articulações podem levar à formação de tecidos linfoides terciários na sinóvia, e esses tecidos linfoides terciários podem manter e propagar a reação inflamatória local.



**FIGURA 19-11** Um modelo para a patogenia da artrite reumatóides.

De acordo com esse modelo, as proteínas citrulinadas induzidas por estímulos ambientais produzem respostas de células T e de anticorpos em indivíduos geneticamente suscetíveis. As células T e os anticorpos adentram articulações, respondem a proteínas próprias e causam lesão



tecidual principalmente por secreção de citocinas e, talvez, também por mecanismos efetores dependentes de anticorpos. Outras modificações de proteínas além da citulinização podem levar ao mesmo resultado.

## Novas Terapias para a Artrite Reumatoide

A percepção do papel central das células T e das citocinas na doença tem levado a avanços notáveis em termos de tratamento, com a definição de moléculas específicas como alvo, com base no conhecimento científico. A principal entre essas novas terapias são os antagonistas de TNF, que transformaram o curso da doença, em muitos pacientes, de uma destruição progressiva e inexorável das articulações para uma inflamação crônica latente, porém tratável. Uma variedade de outras terapias com alvos definidos foi desenvolvida nos últimos 5 a 10 anos; elas forneceram uma visão sobre a patogenia da doença. O bloqueio de outras citocinas além do TNF vem mostrando-se eficaz, incluindo um anticorpo que bloqueia o receptor de IL-6, um antagonista de IL-1 e uma pequena molécula que inibe a sinalização de JAK (um importante mediador de sinalização intracelular de uma variedade de receptores de citocinas). A inibição da ativação de células T tem sido realizada por meio do bloqueio da coestimulação de B7:CD28 com CTLA-4-Ig, uma proteína de fusão composta do domínio extracelular de CTLA-4 e da porção Fc da IgG que se liga a B7 ([Cap. 9](#)). A depleção de células B com anticorpo anti-CD20 também se provou eficaz, embora os mecanismos subjacentes a esse efeito não estejam bem compreendidos.

## Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune do SNC, na qual as células T CD4<sup>+</sup> das subpopulações T<sub>H</sub>1 e T<sub>H</sub>17 reagem contra os antígenos próprios de mielina, resultando em inflamação no SNC com ativação de macrófagos ao redor dos nervos do cérebro e da medula espinhal, destruição da mielina, anormalidades na condução nervosa e déficits neurológicos. É a doença neurológica mais comum de adultos jovens. No exame patológico, há inflamação na substância branca do SNC com desmielinização secundária. A EM é caracterizada clinicamente por fraqueza, paralisia e sintomas oculares com exacerbações e remissões; Os exames de imagem do SNC sugerem que, em pacientes com doença ativa, não há formação frequente de nova lesão.

A EM possui um modelo experimental que é a encefalomielite autoimune experimental (EAE) em camundongos, ratos, cobaias e primatas não humanos, e este é um dos modelos experimentais mais bem caracterizados de uma doença autoimune específica de um órgão mediada principalmente por linfócitos T. A EAE é induzida pela imunização de animais com os antígenos normalmente presentes na

mielina do SNC, tais como proteína básica de mielina, proteína proteolipídica e glicoproteína oligodendrocitária de mielina, com um adjuvante contendo micobactérias mortas pelo calor, o que é necessário para disparar uma resposta forte de células T. Cerca de 1 a 2 semanas após a imunização, os animais desenvolvem encefalomielite, caracterizada por infiltrados perivasculares compostos de linfócitos e macrófagos na substância branca do SNC, seguidos por desmielinização. As lesões neurológicas podem ser leves e autolimitadas ou crônicas e recorrentes. Essas lesões resultam em paralisia progressiva ou com remissão e recidiva. A doença também pode ser transferida para animais não imunizados pela transferência de células T dos animais doentes. Embora os anticorpos contra os antígenos de mielina sejam detectados em pacientes, bem como em modelos animais, o significado patogênico desses anticorpos não foi estabelecido.

### **Patogenia da Esclerose Múltipla**

Há várias evidências de que, em camundongos, a EAE é causada por células  $T_H1$   $CD4+$  e  $T_H17$  ativadas específicas para antígenos de proteínas em mielina. Por analogia com a doença experimental, acredita-se que a EM também seja causada por células  $T_H1$  e  $T_H17$  específicas da mielina; essas células foram detectadas em pacientes e isoladas a partir do sangue e do SNC. O mecanismo pelo qual essas células são ativadas em pacientes continua a ser um enigma. Foi sugerido que uma infecção, mais provavelmente uma infecção viral, possa ativar as células T reativas à mielina própria pelo fenômeno de mimetismo molecular (Cap. 15). A autotolerância pode falhar por causa da herança de genes de suscetibilidade. Gêmeos idênticos possuem uma taxa de concordância de 25% a 30% para o desenvolvimento de EM, ao passo que gêmeos não idênticos têm uma taxa de concordância de 6%. Essas observações implicam fatores genéticos no desenvolvimento da doença, mas também indicam que a genética só pode contribuir com parte do risco. Os polimorfismos genéticos associados à EM incluem o locus HLA, com os alelos HLA-DRB1\*1501 sendo a ligação mais forte. Estudos de associação de genoma completo e outras análises genômicas revelaram mais de 100 variantes genéticas que contribuem para o risco de doença; a maioria dessas variações localiza-se em genes envolvidos na função imune. Uma associação interessante ocorre com um polimorfismo na região não codificante do gene para a cadeia  $\alpha$  do receptor de IL-2, CD25. Esse polimorfismo pode alterar a geração e a manutenção de células T efetoras e/ou reguladoras. Outros estudos sugeriram que a manutenção periférica de células T reguladoras é defeituosa em pacientes com EM, mas não se sabe quanto isso contribui para uma falha da autotolerância. Uma vez que as células específicas de mielina T são ativadas, elas migram para o SNC, onde encontram as proteínas da mielina e liberam citocinas, que recrutam e ativam macrófagos e mais células T, levando à destruição da mielina. Estudos de EAE sugerem que a doença é propagada por meio de um processo conhecido como **espalhamento de epítomos**

(Cap. 15). A ruptura do tecido resulta na liberação de novos antígenos proteicos e expressão de novos epítomos, previamente sequestrados, que ativam mais células T autorreativas.

## **Novas Terapias em Esclerose Múltipla**

No passado, a imunoterapia para EM contou com abordagens cuja base científica não era bem compreendida. Essas incluem a administração de interferon- $\beta$ , que pode alterar as respostas de citocinas, e o tratamento com um polímero aleatório de quatro aminoácidos, o qual se postula que seja capaz de se ligar a moléculas de HLA e bloquear a apresentação de antígenos. Recentemente, no entanto, diversas novas terapias com modificadores imunológicos foram desenvolvidas. Uma delas é um anticorpo contra a integrina VLA-4 (Cap. 3), que bloqueia a migração de leucócitos para o SNC e se mostrou benéfica em pacientes. No entanto, em um pequeno número de pacientes, este tratamento resultou na reativação de uma infecção latente de vírus JC que provoca uma doença grave e, por vezes, fatal no SNC. Outro fármaco recentemente aprovado para tratar a EM também interfere na migração de leucócitos. O fármaco, chamada fingolimod (FTY720), bloqueia a via mediada pela esfingosina 1-fosfato da célula T egressa de tecidos linfoides (Cap. 3). Em um grande subgrupo de pacientes, a depleção de células B com anticorpo anti-CD20 é benéfica. Esses resultados sugerem um papel importante das células B, presumivelmente como APCs, na ativação de células T patogênicas. Como a proteína básica de mielina (MBP) é conhecida por ser um importante autoantígeno que é o alvo da resposta imune em EM, tem havido uma grande esperança de que a administração de peptídeos de MBP poderá induzir tolerância antígeno-específica ou gerar células T reguladoras específicas para o antígeno relevante. É também surpreendente que a maior parte das terapias seja eficaz na EM inicial, que é caracterizada pela inflamação; mas não na EM progressiva, que é caracterizada pela neurodegeneração e consiste na maior causa da invalidez permanente. Essa percepção está promovendo novas tentativas de se restaurar a mielinização e reparar os axônios e neurônios danificados.

## **Diabetes Melito Tipo 1**

O diabetes melito tipo 1, anteriormente chamado diabetes melito insulino-dependente, é uma doença metabólica multissistêmica resultante da produção prejudicada de insulina que afeta aproximadamente 0,2% da população dos Estados Unidos, com um pico no início da faixa etária de 11 a 12 anos de idade. A incidência da doença parece estar aumentando na América do Norte e na Europa. A doença é caracterizada por hiperglicemia e cetoacidose. As complicações crônicas do diabetes tipo 1 incluem aterosclerose progressiva das artérias, o que pode levar à necrose isquêmica dos membros e órgãos internos, e obstrução microvascular causando

danos na retina, nos glomérulos renais e nos nervos periféricos. Esses pacientes apresentam uma deficiência de insulina resultante da destruição imunomediada das células  $\beta$  produtoras de insulina das ilhotas de Langerhans no pâncreas e é necessário proceder a uma terapia de reposição hormonal contínua. Geralmente, existe um longo período de muitos anos entre o início da autoimunidade e o aparecimento da doença clínica, porque 90% ou mais das ilhotas precisam ser destruídas antes da observação das manifestações clínicas.

## Patogenia do Diabetes Tipo 1

Vários mecanismos podem contribuir para destruição das células  $\beta$ , incluindo inflamação mediada por células  $T_H1$   $CD4^+$  reativas com antígenos das ilhotas (incluindo insulina), lise de células das ilhotas mediada por CTL, produção local de citocinas (TNF e IL-1) que danificam células das ilhotas e autoanticorpos contra as células das ilhotas. Nos poucos casos em que as lesões pancreáticas foram examinadas nas fases ativas precoces da doença, as ilhotas exibem necrose celular e infiltração linfocitária consistindo em células  $T$   $CD4^+$  e  $CD8^+$ . Essa lesão é denominada insulite. Os autoanticorpos contra as células das ilhotas e a insulina também são detectados no sangue desses pacientes. Em crianças suscetíveis que não desenvolveram diabetes (tais como parentes de pacientes), a presença de anticorpos contra as células das ilhotas é preditiva do desenvolvimento de diabetes tipo 1. Um modelo animal informativo da doença é o camundongo diabético não obeso (NOD), que desenvolve diabetes espontâneo. Neste modelo, existe evidência de sobrevivência e função defeituosas das células  $T$  reguladoras, bem como resistência de células  $T$  efetoras para supressão.

Múltiplos genes estão associados ao diabetes tipo 1. Tem-se dedicado grande parte da atenção ao papel dos genes HLA. Entre 90% e 95% dos caucasianos com diabetes tipo 1 apresentam HLA-DR3, DR4 ou ambos, em contraste com aproximadamente 40% dos indivíduos normais; e 40% a 50% dos pacientes são heterozigotos DR3/DR4, em contraste com 5% dos indivíduos normais. Diversos genes não HLA também contribuem para a doença. O primeiro desses a ser identificado é o da insulina, com associação de repetições em tandem da região do promotor com a suscetibilidade à doença. O mecanismo desta associação é desconhecido e pode estar relacionado com o nível de expressão de insulina no timo, que determina se as células  $T$  insulino-específicas serão deletadas (selecionadas negativamente) durante a maturação. Vários outros polimorfismos foram identificados em pacientes e em camundongos NOD, incluindo os genes de *IL2* e *CD25*. As consequências funcionais desses polimorfismos não são conhecidas. Alguns estudos sugerem que as infecções virais (p. ex., com vírus Coxsackie B4) pode preceder o aparecimento de diabetes tipo 1, talvez por iniciarem a lesão celular, induzindo a inflamação e a expressão de coestimuladores e desencadeando uma

resposta autoimune. No entanto, dados epidemiológicos sugerem que as infecções repetidas protegem contra diabetes tipo 1 e isso ocorre de maneira semelhante ao modelo NOD. De fato, foi postulado que uma das razões para o aumento da incidência de diabetes tipo 1 em países desenvolvidos é o controle de doenças infecciosas.

## Novas Terapias para Diabetes Tipo 1

As novas estratégias terapêuticas mais interessantes para diabetes tipo 1 concentram-se na indução de tolerância com peptídeos diabetogênicos de antígenos das ilhotas (como a insulina) ou gerando ou administrando células T reguladoras para os pacientes. Esses ensaios clínicos estão em estágio inicial.

## Doença Inflamatória Intestinal

A doença intestinal inflamatória é constituída por dois distúrbios, a doença de Crohn e a colite ulcerosa, nas quais a inflamação mediada por células T provoca lesão intestinal. A doença de Crohn é caracterizada pela inflamação crônica e destruição da parede intestinal, com formação frequente de fistulas. Na colite ulcerosa, as lesões são essencialmente limitadas à mucosa e consistem em úlceras com focos subjacentes de inflamação. A patogenia da doença intestinal inflamatória foi descrita no [Capítulo 14](#). As novas terapias para essas doenças incluem anticorpos contra TNF e a cadeia p40 de IL-12 e IL-23.

## Resumo

Distúrbios causados por respostas imunes anormais são chamados de hipersensibilidade. As respostas imunes patológicas podem ser respostas autoimunes contra antígenos próprios ou respostas descontroladas e excessivas a antígenos estranhos (p. ex., microbianos).

As hipersensibilidades podem resultar de anticorpos que se ligam a células ou tecidos (tipo II), imunocomplexos circulantes que são depositados nos tecidos (tipo III) ou de linfócitos T reativos com antígenos em tecidos (tipo IV). As reações de hipersensibilidade imediata (tipo I) são a causa das doenças alérgicas e estão descritas no [Capítulo 20](#).

Os mecanismos efetores da lesão tecidual mediada por anticorpos são a ativação do complemento e a inflamação mediada pelo receptor de Fc. Alguns anticorpos causam doença por interferir nas funções celulares normais, sem produzir lesão tecidual.

Os mecanismos efetores da lesão tecidual mediada por células T são as reações inflamatórias induzidas por citocinas secretadas principalmente por células T<sub>H</sub>1

CD4<sup>+</sup> e T<sub>H</sub>17 e pela lise celular por CTLs. A reação clássica mediada pela célula T é a hipersensibilidade tardia, induzida pela ativação de células T previamente ativadas e pela produção de citocinas, que recrutam e ativam vários leucócitos, principalmente os macrófagos.

O tratamento atual das doenças autoimunes tem como objetivo reduzir a ativação imune e as consequências prejudiciais da reação autoimune. Os agentes incluem aqueles que bloqueiam a inflamação, tais como anticorpos contra citocinas e integrinas, e aqueles que bloqueiam a ativação de linfócitos ou os destroem. Um futuro objetivo da terapia é inibir as respostas de linfócitos específicos para antígenos próprios e induzir a tolerância dessas células.

As doenças autoimunes, tais como lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide, esclerose múltipla e diabetes tipo 1, ilustram muitos dos mecanismos efetores que provocam lesão dos tecidos em reações de hipersensibilidade e os papéis dos genes de suscetibilidade e fatores ambientais no desenvolvimento da autoimunidade.

## Leituras selecionadas

### Princípios Gerais

Goodnow, C. C. Multistep pathogenesis of autoimmune disease. *Cell*. 2007; 130:25–35.

Nagata, S., Hanayama, R., Kawane, K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell*. 2010; 140:619–630.

### Distúrbios Mediados por Anticorpos e Imunocomplexos

Banchereau, J., Pascual, V. Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Immunity*. 2006; 25:383–392.

Fairhurst, A. M., Wandstrat, A. E., Wakeland, E. K. Systemic lupus erythematosus: multiple immunological phenotypes in a complex genetic disease. *Advances in Immunology*. 2006; 92:1–69.

Jancar, S., Crespo, M. S. Immune complex-mediated tissue injury: a multistep paradigm. *Trends in Immunology*. 2005; 26:48–55.

Munoz, L. E., Lauber, K., Schiller, M., Manfredi, A. A., Herrmann, M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nature Reviews Rheumatology*. 2010; 6:280–289.

Plotz, P. H. The autoantibody repertoire: searching for order. *Nature Reviews Immunology*. 2003; 3:73–78.

Tsokos, G. C. Systemic lupus erythematosus. *New England Journal of Medicine*. 2011;



365:2110–2121.

### **Distúrbios Mediados pela Célula T**

Frohman, E. M., Racke, M. K., Raine, C. S. Multiple sclerosis—the plague and its pathogenesis. *New England Journal of Medicine*. 2006; 354:942–955.

Klareskog, L., Lundberg, K., Malmstrom, V. Autoimmunity in rheumatoid arthritis: citrulline immunity and beyond. *Advances in Immunology*. 2013; 118:129–158.

Maddur, M. S., Miossec, P., Kaveri, S. V., Bayry, J. Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. *American Journal of Pathology*. 2012; 181:8–18.

McInnes, I. B., Schett, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*. 2011; 365:2205–2219.

Palmer, M. T., Weaver, C. T. Autoimmunity: increasing suspects in the CD4+ T cell lineage. *Nature Immunology*. 2010; 11:36–40.

### **Terapias para Doenças Imunológicas**

Burmester, G. R., Feist, E., Dorner, T. Emerging cell and cytokine targets in rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014; 10:77–88.

Faurschou, M., Jayne, D. R.W. Anti-B cell antibody therapies for inflammatory rheumatic diseases. *Annual Review of Medicine*. 2014; 65:263–278.

Hauser, S. L., Chan, J. R., Oksenberg, J. R. Multiple sclerosis: prospects and promise. *Annals of Neurology*. 2013; 74:317–327.

Shwab, I., Nimmerjahn, F. Intravenous immunoglobulin therapy: how does IgG modulate the immune system? *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:176–189.

Thanou, A., Merrill, J. T. Treatment of systemic lupus erythematosus: new therapeutic avenues and blind alleys. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014; 10:23–34.

## CAPÍTULO 20

# Alergia

PANORAMA DAS REAÇÕES ALÉRGICAS DEPENDENTES DE IgE

PRODUÇÃO DE IgE

A Natureza dos Alérgenos

A Ativação das Células T Auxiliares Produtoras de IL-4

Ativação de Células B e a Troca para IgE

PAPÉL DE CÉLULAS T<sub>H</sub>2, MASTÓCITOS, BASÓFILOS E EOSINÓFILOS NAS REAÇÕES ALÉRGICAS

Papel das Células T<sub>H</sub>2 e Células Linfoides Inatas na Doença Alérgica

Propriedades dos Mastócitos e Basófilos

A Ligação de IgE aos Mastócitos e Basófilos: O Receptor Fcε

A Ativação dos Mastócitos

Mediadores Derivados dos Mastócitos

As Propriedades dos Eosinófilos

REAÇÕES DEPENDENTES DE IgE E MASTÓCITOS

A Reação Imediata

A Reação de Fase Tardia

A SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA PARA DOENÇAS ALÉRGICAS

Fatores Ambientais na Alergia

DOENÇAS ALÉRGICAS EM HUMANOS: PATOGÊNESE E TERAPIA

A Anafilaxia Sistêmica

A Asma Brônquica

Reações de Hipersensibilidade Imediata no Trato Respiratório Superior, Trato Gastrointestinal e Pele

A Imunoterapia para as Doenças Alérgicas

O PAPEL PROTETOR DAS REAÇÕES IMUNES MEDIADAS POR IgE E MASTÓCITOS

RESUMO

Uma variedade de doenças humanas é causada por respostas imunológicas a antígenos ambientais não microbianos que envolvem as células T auxiliares produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13, a imunoglobulina E (IgE), mastócitos e eosinófilos. Na fase efetora destas respostas, os mastócitos e eosinófilos são ativados para liberar rapidamente mediadores que levam ao aumento da permeabilidade vascular, a vasodilatação, e contração do músculo liso bronquial e visceral. Esta reação é chamada de **hipersensibilidade imediata**, porque ela começa rapidamente, poucos minutos após o desafio antigênico (imediate), e tem importantes consequências patológicas (hipersensibilidade). Após a resposta imediata, ocorre o desenvolvimento mais lento do componente inflamatório chamado de **reação de fase tardia**, caracterizado pela acumulação de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos. O termo hipersensibilidade imediata é comumente utilizado para descrever as reações imediatas e de fase tardia combinadas. Na medicina clínica, essas reações são chamadas de **alergia** ou **atopia**, e as doenças associadas são chamadas de doenças alérgicas, atópicas ou doenças de hipersensibilidade imediata. Ataques repetidos dessas reações podem conduzir a doenças alérgicas crônicas, com dano tecidual e remodelamento. Os antígenos que provocam hipersensibilidade imediata são chamados de alérgenos. A maioria deles são proteínas comuns do ambiente, produtos de origem animal e produtos químicos que podem modificar proteínas próprias.

Embora a atopia originalmente significasse incomum, agora sabe-se que a alergia é o distúrbio mais comum da imunidade, afetando quase 20% de todos os indivíduos nos Estados Unidos e Europa, e sua prevalência está aumentando em todo o mundo. Este capítulo concentra-se nas reações imunes por trás das doenças alérgicas. Vamos descrever a sequência de eventos que levam a ativação de mastócitos e os papéis de vários mediadores de hipersensibilidade imediata. Então descreveremos síndromes clínicas selecionadas relacionadas com reações dependentes de IgE e de mastócitos e os princípios da terapia para estas doenças. Concluiremos com uma discussão sobre o papel fisiológico das reações imunológicas na defesa do hospedeiro mediadas por IgE.

## Panorama das reações alérgicas dependentes de IgE

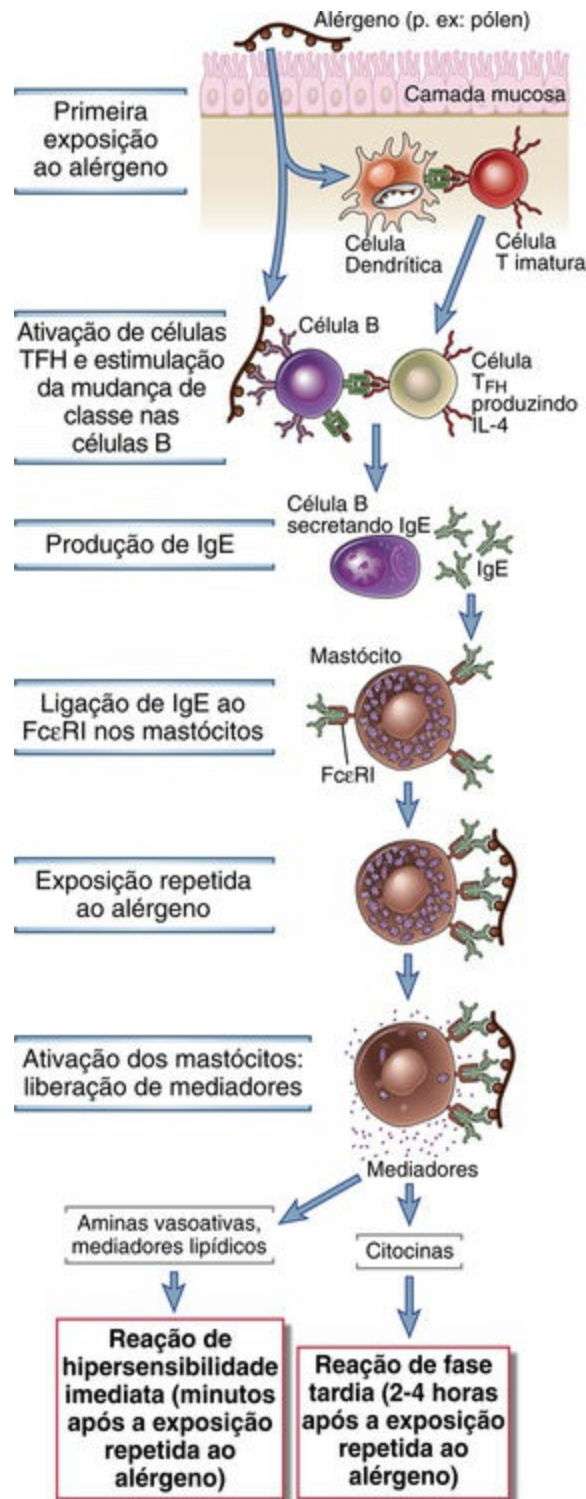
Todas as reações alérgicas compartilham características comuns, embora elas difiram muito nos tipos de antígenos que provocam essas reações e suas manifestações clínicas e patológicas.

- ***A marca de doenças alérgicas é a produção do anticorpo IgE, que é dependente da ativação das células T auxiliares produtoras de IL-4.***

Embora os indivíduos saudáveis não respondam ou tenham células T inofensivas e respostas de anticorpos contra antígenos ambientais comuns, os indivíduos atópicos desenvolvem forte resposta de células T auxiliares produtoras de IL-4 e

produzem IgE por exposição a essas substâncias alergênicas.

- ***A sequência típica de eventos na hipersensibilidade imediata consiste na exposição a um antígeno, ativação dos linfócitos (células TH2, células T foliculares auxiliares [TFH] produtoras de IL-4 e células B), específicos para o antígeno, produção do anticorpo IgE, ligação do anticorpo aos receptores Fc de mastócitos e ativação de mastócitos através da reexposição ao antígeno, resultando na liberação de mediadores a partir de mastócitos e a subsequente reação patológica (Fig. 20-1).*** A ligação de IgE a mastócitos é também chamada de **sensibilização**, porque os mastócitos revestidos por IgE estão prontos para ser ativados no encontro com o antígeno (ou seja, eles são sensíveis ao antígeno). Vamos descrever cada uma destas etapas nas seções seguintes.



**FIGURA 20-1** Sequência de eventos nas reações de hipersensibilidade imediata.

Doenças de hipersensibilidade imediata são iniciadas pela introdução de um alérgeno, que estimula de respostas de células T auxiliares produzindo IL-4 e a produção de IgE. A IgE sensibiliza os mastócitos através da ligação a FcεRI, e uma exposição subsequente ao alérgeno ativa os mastócitos

para secretarem os mediadores que são responsáveis pelas reações patológicas de hipersensibilidade imediata.

- **A alergia é a doença mediada pelo  $T_H2$  prototípico. Muitos dos primeiros acontecimentos e características patológicas da reação são desencadeados por citocinas  $TH2$ , que podem ser produzidas por células TFH nos órgãos linfoides e por células  $TH2$  clássicas nos tecidos.** Isso contrasta com a reação de hipersensibilidade tardia, que é em grande parte uma reação imunológica mediada por  $T_H1$ .
- **As manifestações clínicas e patológicas da alergia consistem na reação vascular e do músculo liso que desenvolvem-se rapidamente após a exposição repetida ao alérgeno (hipersensibilidade imediata) e uma fase tardia retardada de reação inflamatória.** Estas reações podem ser iniciadas pela ativação de mastócitos mediada por IgE, mas diferentes mediadores são responsáveis pelas reações imediatas *versus* as de fase tardia. Devido aos mastócitos estarem presentes em tecidos conjuntivos e sob epitélios, estes tecidos são os locais mais comuns de reações de hipersensibilidade imediata. Algumas reações de hipersensibilidade imediata podem ser desencadeadas por estímulos não imunológicos, como o exercício e a exposição ao frio. Tais estímulos induzem a degranulação dos mastócitos e a liberação de mediadores sem que haja exposição ao antígeno ou a produção de IgE. Tais reações são chamadas de não atópicas.
- **As reações alérgicas se manifestam de formas diferentes, dependendo dos tecidos afetados, incluindo erupções cutâneas na pele, congestão nasal, constrição brônquica, dor abdominal, diarreia e choque sistêmico.** Na forma sistêmica mais extrema, chamada de **anafilaxia**, os mediadores derivados de mastócitos podem restringir as vias aéreas para o ponto de asfixia e produzir colapso cardiovascular, levando à morte. (O termo *anafilaxia* foi cunhado para indicar que os anticorpos, especialmente os anticorpos IgE, podem conferir o oposto da proteção [profilaxia] em um indivíduo infeliz.) Voltaremos para a patogênese destas reações mais adiante neste capítulo.
- **O desenvolvimento de alergias é o resultado das complexas e mal compreendidas interações gene-ambiente.** Existe uma predisposição genética para o desenvolvimento das alergias e parentes de pessoas alérgicas são mais propensos a também possuírem alergias do que indivíduos não relacionados, mesmo quando eles não compartilham ambientes. Muitos genes de susceptibilidade foram identificados e serão discutidos mais tarde neste capítulo. Vários fatores ambientais, especialmente nas sociedades industrializadas, incluindo a presença de alérgenos e exposição a microrganismos, têm uma profunda influência sobre a propensão ao desenvolvimento de alergias. Com esta introdução, vamos prosseguir com a descrição das etapas do



desenvolvimento e reações de hipersensibilidade imediata.

## Produção de IgE

**Os indivíduos atópicos produzem altos níveis de IgE em resposta a alérgenos ambientais, enquanto os indivíduos normais geralmente produzem outros isotipos de Ig, como IgM e IgG, e apenas pequenas quantidades de IgE.** A quantidade de IgE sintetizada depende da propensão de um indivíduo a gerar células T auxiliares específicas de alérgenos que produzem IL-4 e IL-13, porque estas citocinas estimulam a mudança da classe dos anticorpos de células B para IgE. O desenvolvimento de IL-4 e IL-13 que expressam as respostas das células T contra antígenos específicos pode ser influenciado por uma série de fatores, incluindo os genes herdados, a natureza dos antígenos e o histórico de exposição ao antígeno.

**O anticorpo IgE é responsável pela sensibilização dos mastócitos e fornece o reconhecimento de antígenos para as reações de hipersensibilidade imediata.** A IgE é o isotipo de anticorpo que possui a cadeia pesada  $\epsilon$  (Cap. 5). Ele se liga aos receptores de Fc específicos em mastócitos e ativa estas células.

## A Natureza dos Alérgenos

**Os antígenos que provocam reações de hipersensibilidade imediata (alérgenos) são proteínas ou produtos químicos ligados às proteínas.** Os alérgenos típicos incluem proteínas no pólen, ácaros domésticos, pelos de animais, alimentos e produtos químicos como o antibiótico penicilina. Não se sabe por que alguns antígenos induzem a IL-4 a produzir respostas de células T auxiliares e de reações alérgicas ao passo que outros não. Duas características importantes dos alérgenos são que os indivíduos são expostos a eles repetidamente e, ao contrário do que acontece com microrganismos, eles não estimulam as respostas imunológicas inatas que estão associadas à secreção de  $T_H1$  e  $T_H17$  pelos macrófagos e células dendríticas indutoras de citocinas. A ativação celular crônica ou repetida, na ausência de uma forte imunidade inata pode dirigir as células T  $CD4^+$ , preferencialmente em direção à via  $T_H2$  (Cap. 10).

A capacidade de um antígeno ser alergênico também pode residir na sua natureza química. Apesar de nenhuma característica estrutural de proteínas poder definitivamente prever se elas serão alergênicas, algumas características são típicas de alérgenos muito comuns. Essas incluem o baixo a médio peso molecular (5-70 kDa), a estabilidade, a glicosilação e a alta solubilidade em fluidos corporais. As respostas anafiláticas aos alimentos são tipicamente induzidas por pequenas proteínas altamente glicosiladas. Estas características estruturais, provavelmente protegem os antígenos da desnaturação e degradação no trato gastrointestinal e permite que possam ser absorvidos intactos. Curiosamente, muitos alérgenos, tais

como a protease de cisteína do ácaro doméstico *Dermatophagoides pteronyssinus* e a fosfolipase A2 presente no veneno de abelhas, são enzimas, mas a importância da atividade enzimática no desencadeamento das reações de hipersensibilidade imediata não é conhecida.

Uma vez que as reações de hipersensibilidade imediata são dependentes das células T CD4<sup>+</sup>, os antígenos independentes de células T tais como os polissacarídeos não podem provocar estas reações a menos que se liguem às proteínas. Algumas substâncias não proteicas, como o antibiótico penicilina, podem induzir fortes respostas de IgE. Estes fármacos reagem quimicamente com os resíduos de aminoácidos em proteínas próprias para formar conjugados hapteno-carreador, que induzem as respostas de células T auxiliares produtoras de IL-4 e a produção de IgE.

A história natural da exposição aos antígenos é um importante determinante da quantidade de anticorpos IgE específicos que é produzido. A exposição repetida a um antígeno particular é necessária para o desenvolvimento de uma reação alérgica a esse antígeno porque a mudança para o isotipo IgE e a sensibilização de mastócitos com IgE deve acontecer antes que uma reação de hipersensibilidade imediata a um antígeno possa ocorrer. Os indivíduos com rinite alérgica ou asma geralmente se beneficiam de uma mudança geográfica da residência com uma mudança de pólenes de plantas indígenas, embora os antígenos ambientais na nova residência possam desencadear um eventual regresso dos sintomas. Um exemplo dramático da importância da exposição repetida ao antígeno na doença alérgica é visto em casos de picadas de abelha. As proteínas presentes nos venenos de insetos geralmente não são motivo de preocupação no primeiro encontro, porque um indivíduo atópico não tem anticorpos IgE específicos preexistentes. No entanto, uma resposta de IgE pode ocorrer após um único encontro com o antígeno, e uma segunda picada por um inseto da mesma espécie pode induzir anafilaxia fatal! Da mesma forma, exposições a pequenas quantidades de amendoim podem provocar reações fatais em indivíduos previamente sensibilizados.

## A Ativação das Células T Auxiliares Produtoras de IL-4

***Nas doenças alérgicas, as células T<sub>FF</sub> são necessárias para a diferenciação de células B produtoras de IgE e as células T<sub>H2</sub> desempenham um papel central na reação inflamatória em tecidos.*** É provável que as células dendríticas nos epitélios através dos quais os alérgenos penetram, capturem os antígenos, os transportem para os linfonodos de drenagem, os processe e apresente os peptídeos para as células T CD4<sup>+</sup> imaturas. As células T diferenciam-se em seguida em células T<sub>H2</sub> ou em células T foliculares auxiliares (T<sub>HF</sub>) que secretam citocinas T<sub>H2</sub>. Os principais fatores que estimulam o desenvolvimento do subconjunto T<sub>H2</sub> são as

citocinas, em particular a IL-4, que pode ser produzida por vários tipos de células (Cap. 10). Além disso, a timo linfopoietina estromal, uma citocina secretada por células epiteliais na pele, intestino e pulmões, aumenta a capacidade das células dendríticas dos tecidos linfoides e células inatas para promover a diferenciação de  $T_H2$ . Os sinais da diferenciação de células  $T_{FH}$  produtoras de IL-4 são menos bem compreendidos, mas é provável que seja semelhante aos sinais da diferenciação de  $T_H2$ .

As células  $T_H2$  diferenciadas migram para locais teciduais de exposição aos alérgenos, onde elas contribuem para a fase efetora inflamatória das reações alérgicas, descrita mais adiante. As células  $T_{FH}$ , é claro, permanecem nos órgãos linfoides, onde auxiliam as células B.

## Ativação de Células B e a troca para IgE

As células B específicas para os alérgenos são ativadas pelas células  $T_{FH}$  nos órgãos linfoides, como em outras respostas de células B dependentes de células T (Cap. 12). Em resposta ao ligante de CD40 e às citocinas, principalmente IL-4 e possivelmente IL-13, produzidos por estas células T auxiliares, as células B são submetidas a mudança da cadeia pesada do isotipo e produzem IgE. A IgE circula como um anticorpo bivalente e está normalmente presente no plasma em uma concentração de menos do que 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Em condições patológicas tais como infecções por helmintos e atopia grave, este nível pode aumentar para mais do que 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . A IgE alérgeno-específica produzida por plasmoblástos e plasmócitos entra na circulação e se liga a receptores Fc nos mastócitos do tecido, de modo que estas células são sensibilizadas e preparadas para reagir a um encontro subsequente com o alérgeno. Os basófilos circulantes também são capazes de se ligar à IgE.

## Papel de células $T_H2$ , mastócitos, basófilos e eosinófilos nas reações alérgicas

***As células  $T_H2$ , mastócitos, basófilos e eosinófilos, são as principais células efetoras das reações de hipersensibilidade imediata e das doenças alérgicas.***

Embora cada um desses tipos celulares tenha características únicas, todos os quatro secretam mediadores das reações alérgicas. Os mastócitos, basófilos e eosinófilos, em distinção de células  $T_H2$ , possuem grânulos citoplasmáticos que contêm as enzimas e aminas pré-formadas, e todos os três tipos de células produzem citocinas e mediadores lipídicos que induzem a inflamação (Tabela 20-1). As células  $T_H2$  contribuem para a inflamação através da secreção de citocinas. Nesta seção, vamos discutir o papel destes tipos de células nas reações alérgicas.

**Tabela 20-1****Propriedades dos Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos**

Características	Mastócitos	Basófilos	Eosinófilos
Principal local de maturação	Tecido conjuntivo	Medula óssea	Medula óssea
Células na circulação	Não	Sim (0,5% dos leucócitos sanguíneos)	Sim (~2% dos leucócitos sanguíneos)
Células maduras recrutadas da circulação para os tecidos	Não	Sim	Sim
Células maduras residindo no tecido conjuntivo	Sim	Não	Sim
Capacidade proliferativa das células maduras	Sim	Não	Não
Vida útil	Semanas a meses	Dias	Dias a semanas
Principal fator de desenvolvimento (citocina)	Fator de célula tronco, IL-3	IL-3	IL-5
Expressão de Fc $\epsilon$ RI	Níveis elevados	Níveis elevados	Níveis baixos (função não esclarecida)
Principais conteúdos dos grânulos	Histamina, heparina e/ou sulfato de condroitina, proteases	Histamina, sulfato de condroitina, proteases	Proteína básica principal, proteína catiônica de eosinófilos, peroxidases, hidrolases, lisofosfolipase

Fc $\epsilon$ RI, receptor Fc $\epsilon$  tipo I; IL, interleucina.

## Papel das Células T<sub>H</sub>2 e Células Linfoides Inatas na Doença Alérgica

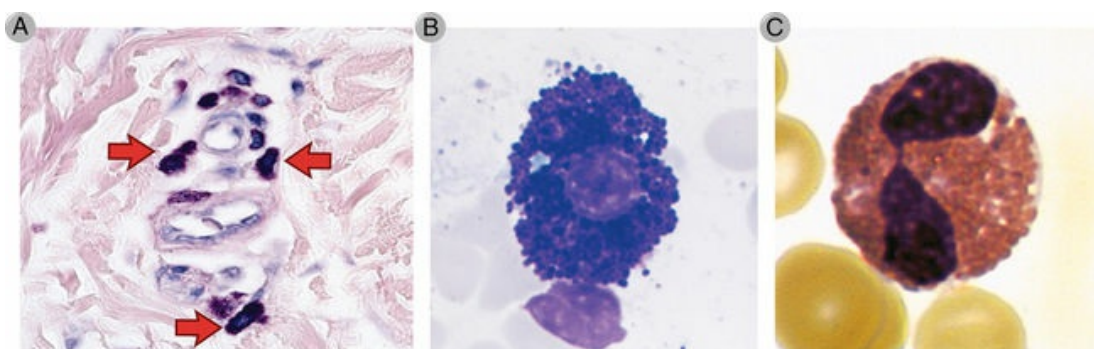
As células T<sub>H</sub>2 secretam citocinas, incluindo IL-4, IL-5, e IL-13, que trabalham em combinação com mastócitos e eosinófilos para promover respostas inflamatórias a alérgenos nos tecidos. As propriedades gerais das células T<sub>H</sub>2 e os sinais que impulsionam a sua diferenciação de células T imaturas foram discutidos no [Capítulo 10](#). A IL-4 secretada por células T<sub>H</sub>2 induz a expressão do VCAM-1 endotelial que promove o recrutamento de eosinófilos e de células T<sub>H</sub>2 adicionais em tecidos. A IL-5 secretada por células T<sub>H</sub>2 ativa os eosinófilos. A IL-13 estimula as células epiteliais (p. ex., nas vias respiratórias) para secretar quantidades crescentes de muco e uma produção excessiva de muco também é característica comum dessas reações. As células T<sub>H</sub>2 contribuem também para a inflamação da reação de fase tardia, descrita mais adiante.

Consistente com um papel central das células T<sub>H</sub>2 na hipersensibilidade imediata, são encontradas maiores quantidades das células T alérgeno específicas que secretam IL-4 no sangue de indivíduos atópicos do que em indivíduos não atópicos. Em pacientes atópicos, as células T alérgeno específicas também produzem mais IL-4 por célula do que em indivíduos normais. Em modelos animais, uma doença semelhante à asma humana pode ser induzida por geração de células T<sub>H</sub>2 específicas para um antígeno inalado ou por transferência adotiva destas células para camundongos imaturos. Acumulações de células T<sub>H</sub>2 são encontradas nos locais das reações de hipersensibilidade imediata na pele e na mucosa brônquica.

As células linfoides inatas do grupo 2 também secretam IL-5 e IL-13 (Cap. 4), e modelos animais demonstraram que as citocinas derivadas destas células contribuem para a inflamação alérgica das vias aéreas.

## Propriedades dos Mastócitos e Basófilos

Todos os mastócitos são derivados de células progenitoras na medula óssea. Normalmente, os mastócitos maduros não são encontrados na circulação. Os progenitores migram para os tecidos periféricos como células imaturas e sofrem diferenciação, em resposta aos sinais bioquímicos do microambiente local, incluindo o fator de células-tronco liberado por células do tecido, que se ligam ao receptor c-Kit nos progenitores dos mastócitos. Os mastócitos maduros são encontrados em todo o corpo, principalmente perto dos vasos sanguíneos (Fig. 20-2, A) e nervos e sob os epitélios. Eles também estão presentes nos órgãos linfoides. Os mastócitos humanos variam no formato e têm núcleos redondos, e o citoplasma contém grânulos ligados à membrana e corpos lipídicos. Os grânulos contêm proteoglicanos ácidos que se ligam a corantes básicos.



**FIGURA 20-2** Morfologia dos mastócitos, basófilos e eosinófilos.

Fotomicrografias de mastócitos perivascularres da derme marcados com Wright-Giemsa (A, setas), basófilos do sangue periférico (B), e eosinófilos do sangue periférico (C) são apresentados. Observe a característica da coloração azul dos grânulos citoplasmáticos dos basófilos e a coloração vermelha dos grânulos citoplasmáticos dos eosinófilos. (A, Cortesia de Dr. George Murphy. B e C Cortesia de Dr. Jonathan Hecht, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

**Os mastócitos ativados segregam uma variedade de mediadores que são responsáveis pelas manifestações das reações alérgicas (Tabela 20-2).** Estes incluem substâncias que são armazenadas em grânulos e rapidamente são

liberadas após a ativação, e outras que são sintetizadas sob ativação. A produção e as ações desses mediadores são descritas mais adiante.

**Tabela 20-2**

**Mediadores produzidos pelos Mastócitos, Basófilos e Eosinófilos**

Tipo celular	Categoria dos mediadores	Mediador	Função/Efeitos Patológicos
<b>Mastócitos e basófilos</b>			
	Armazenados em grânulos citoplasmáticos pré-formados	Histamina Enzimas: proteases neutras (triptase e/ou quimase), hidrolases ácidas, catepsina G, carboxipeptidase	Aumento da permeabilidade vascular; estímulo da contração das células musculares lisas Degradação das estruturas microbianas; danos teciduais/remodelamento
	Principais mediadores lipídicos produzidos na ativação	Prostaglandina D <sub>2</sub> Leucotrienos C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub> Fator de ativação plaquetária	Vasodilatação; broncoespasmo; quimiotaxia de leucócitos Broncoconstrição prolongada; secreção de muco; aumento da permeabilidade vascular Vasodilatação; aumento da permeabilidade vascular; Adesão de leucócitos, quimiotaxia, degranulação, <i>burst</i> oxidativo
	Citocinas produzidas na ativação	IL-3 TNF, MIP-1α IL-4, IL-13 IL-5	Proliferação de mastócitos Inflamação/reação de fase tardia Produção de IgE; secreção de muco Produção e ativação de eosinófilos
<b>Eosinófilos</b>			
	Armazenados nos grânulos citoplasmáticos	Proteína básica principal, proteína catiônica dos eosinófilos Peroxidase de eosinófilos, hidrolases, lisossomais lisofosfolipase	Tóxico para helmintos, bactérias, células hospedeiras Degradação de parede celular de helmintos e protozoários; dano tecidual/remodelamento
	Principais mediadores produzidos na ativação	Leucotrienos C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub>	Broncoconstrição prolongada; secreção de muco; aumento da permeabilidade vascular
	Citocinas produzidas na ativação	IL-3, IL-5, GM-CSF IL-8, IL-10, RANTES, MIP-1α, eotaxina	Produção e ativação de eosinófilos Quimiotaxia dos leucócitos

GM-CSF, fator estimulador de colônia de monócitos-granulócitos; IL, interleucina, MIP-1α, proteína inflamatória de monócitos 1α; RANTES, célula T normal expressa e secretada, regulada por ativação; TNF, fator de necrose tumoral

Os dois subconjuntos principais de mastócitos foram descritos, um foi encontrado na mucosa do trato gastrointestinal e o outro em tecidos conjuntivos. Os mastócitos da mucosa possuem sulfato de condroitina e triptase abundante e pouca histamina nos seus grânulos, e em seres humanos encontram-se na mucosa intestinal e espaços alveolares do pulmão. Os mastócitos teciduais têm heparina abundante e proteases neutras nos seus grânulos, produzem grandes quantidades de histamina, e encontram-se na pele e na submucosa intestinal. Os mastócitos das mucosas requerem células T para o seu desenvolvimento, enquanto os mastócitos do tecido conjuntivo não precisam. As localizações, o conteúdo dos grânulos e a dependência de células T em relação às diferentes populações de mastócitos sugere que cada um pode ser importante em um conjunto diferente de processos de doença. É provável que os mastócitos da mucosa estejam envolvidos em doenças de hipersensibilidade imediata dependente da célula-T e de IgE que envolvem as vias respiratórias, tais como asma brônquica e outros tecidos das mucosas. Por outro lado, os mastócitos



dos tecidos conjuntivos medeiam as reações de hipersensibilidade imediata na pele. Embora a ideia desses subconjuntos tenha fornecido um quadro valioso para os estudos de mastócitos, está claro que as populações não são fixas, tampouco podem ser claramente separáveis.

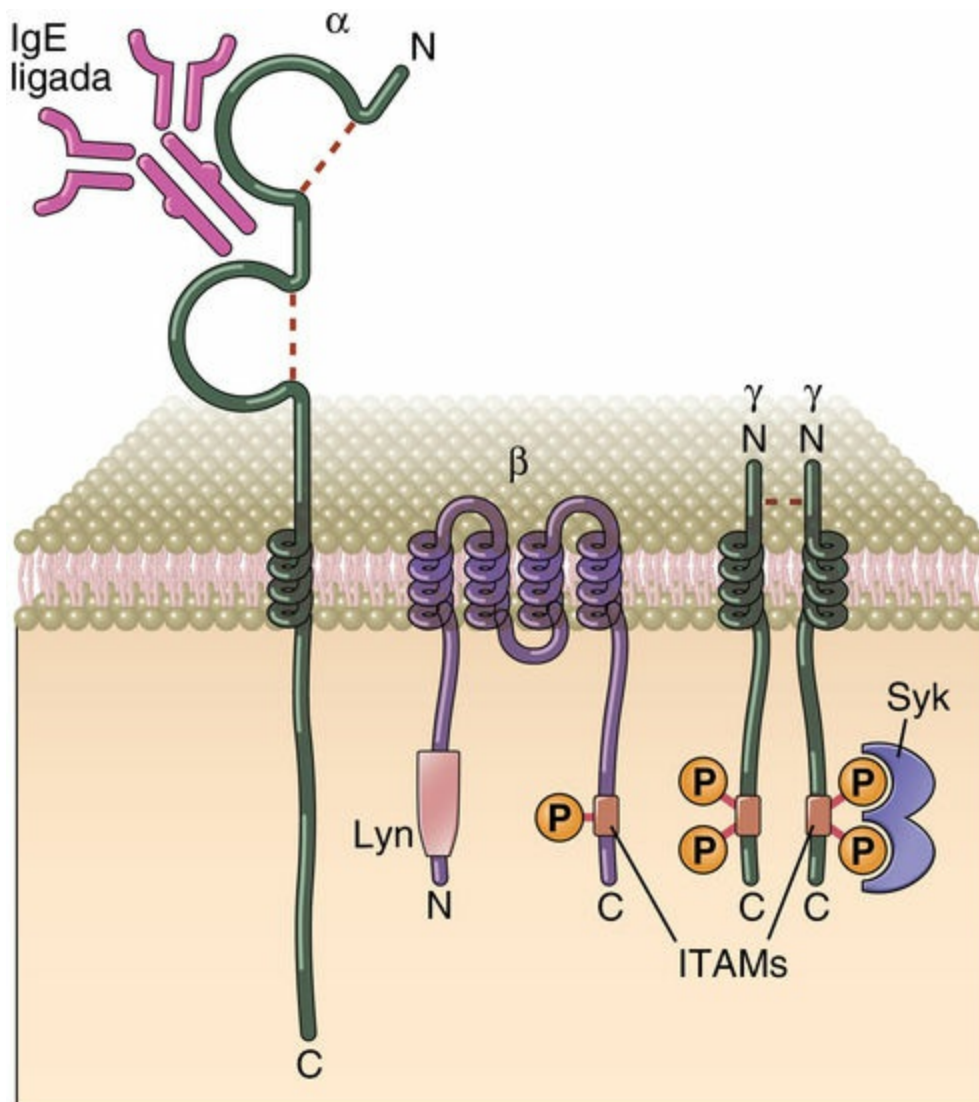
**Os basófilos são granulócitos sanguíneos com similaridades estruturais e funcionais aos mastócitos.** Como os outros granulócitos, os basófilos são derivados de progenitores de medula óssea (uma linhagem diferente da dos mastócitos), amadurecem na medula óssea e circulam no sangue (Fig. 20-2, B). Os basófilos constituem menos de 1% dos leucócitos do sangue. Ainda que não estejam normalmente presentes nos tecidos, os basófilos podem ser recrutados em alguns locais com inflamação. Os basófilos contêm grânulos que se ligam aos corantes básicos e eles são capazes de sintetizar muito dos mesmos mediadores como os mastócitos (Tabela 20-2). Como os mastócitos, os basófilos expressam  $Fc\epsilon RI$ , ligam-se à IgE e podem ser ativados através da ligação do antígeno à IgE. Portanto, os basófilos que são recrutados em locais do tecido onde o antígeno está presente podem contribuir para as reações de hipersensibilidade imediata.

## A Ligação de IgE aos Mastócitos e Basófilos: O Receptor $Fc\epsilon$

**Os mastócitos e basófilos expressam um receptor de Fc de alta afinidade específico para as cadeias pesadas  $\epsilon$ , denominado de  $Fc\epsilon RI$ , que se liga à IgE.** A IgE, como todos os outros anticorpos, é produzida exclusivamente por células B, enquanto a IgE funciona como um receptor de antígeno na superfície de mastócitos e basófilos. Esta função é conseguida através da ligação de IgE a  $Fc\epsilon RI$  nestas células. A afinidade de IgE para  $Fc\epsilon RI$  é muito alta (constante de dissociação [Kd] de cerca de  $1 \times 10^{-10}$  M), muito maior do que de qualquer outro receptor de Fc para o seu anticorpo ligante. Portanto, a concentração de soro normal de IgE, embora baixo em comparação com outros isotipos de Ig (menos a  $5 \times 10^{-10}$  M), é suficiente para permitir a ocupação dos receptores  $Fc\epsilon RI$ . Além de mastócitos e basófilos, o  $Fc\epsilon RI$  foi detectado em eosinófilos, células epidérmicas de Langerhans, alguns macrófagos da derme e monócitos ativados. A função do receptor em muitas dessas células não está estabelecida.

**Cada molécula de  $Fc\epsilon RI$  é composta por uma cadeia  $\alpha$  que liga-se a região Fc da IgE e uma cadeia  $\beta$  e duas cadeias  $\gamma$  que são responsáveis pela sinalização** (Fig. 20-3). A porção extracelular aminoterminal da cadeia  $\alpha$  inclui dois domínios semelhantes a Ig que formam o local de ligação para IgE. A cadeia  $\beta$  de  $Fc\epsilon RI$  contém um único imunorreceptor baseado em um motivo tirosina de ativação (ITAM) no domínio citoplasmático do terminal carboxila. Os dois polipeptídeos  $\gamma$  idênticos da cadeia estão ligados por uma ligação dissulfeto e são homólogos à

cadeia  $\zeta$  do complexo receptor de antígenos da célula T (Cap. 7). A porção citoplasmática de cada cadeia  $\gamma$  contém um ITAM. A mesma cadeia  $\gamma$  serve como a subunidade de sinalização para Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIA, e Fc $\alpha$ R e é chamado de cadeia  $\gamma$  FcR (Cap. 13). A fosforilação da tirosina dos ITAMs das cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  inicia a cascata de sinalização a partir do receptor que é necessária para a ativação dos mastócitos, descrito a seguir. O Fc $\epsilon$ RI nos eosinófilos e vários outros tipos de células não possui a cadeia  $\beta$ , então a sinalização é mediada apenas pela cadeia  $\gamma$  nessas células.



**FIGURA 20-3** Estrutura da cadeia polipeptídica do receptor de alta afinidade Fc de IgE (Fc $\epsilon$ RI).

A IgE (não estão em escala) liga-se aos domínios de tipo Ig da cadeia  $\alpha$ . A cadeia  $\beta$  e as cadeias  $\gamma$  medeiam a transdução do sinal. Os ITAMs na região citoplasmática das cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  são semelhantes aos encontrados no complexo receptor de células T (Fig. 7-5). Lyn e Syk são tirosinoquinases que se ligam às cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  e participam dos eventos de sinalização. Um modelo de estrutura de Fc $\epsilon$ RI é mostrado no [Capítulo 12](#).

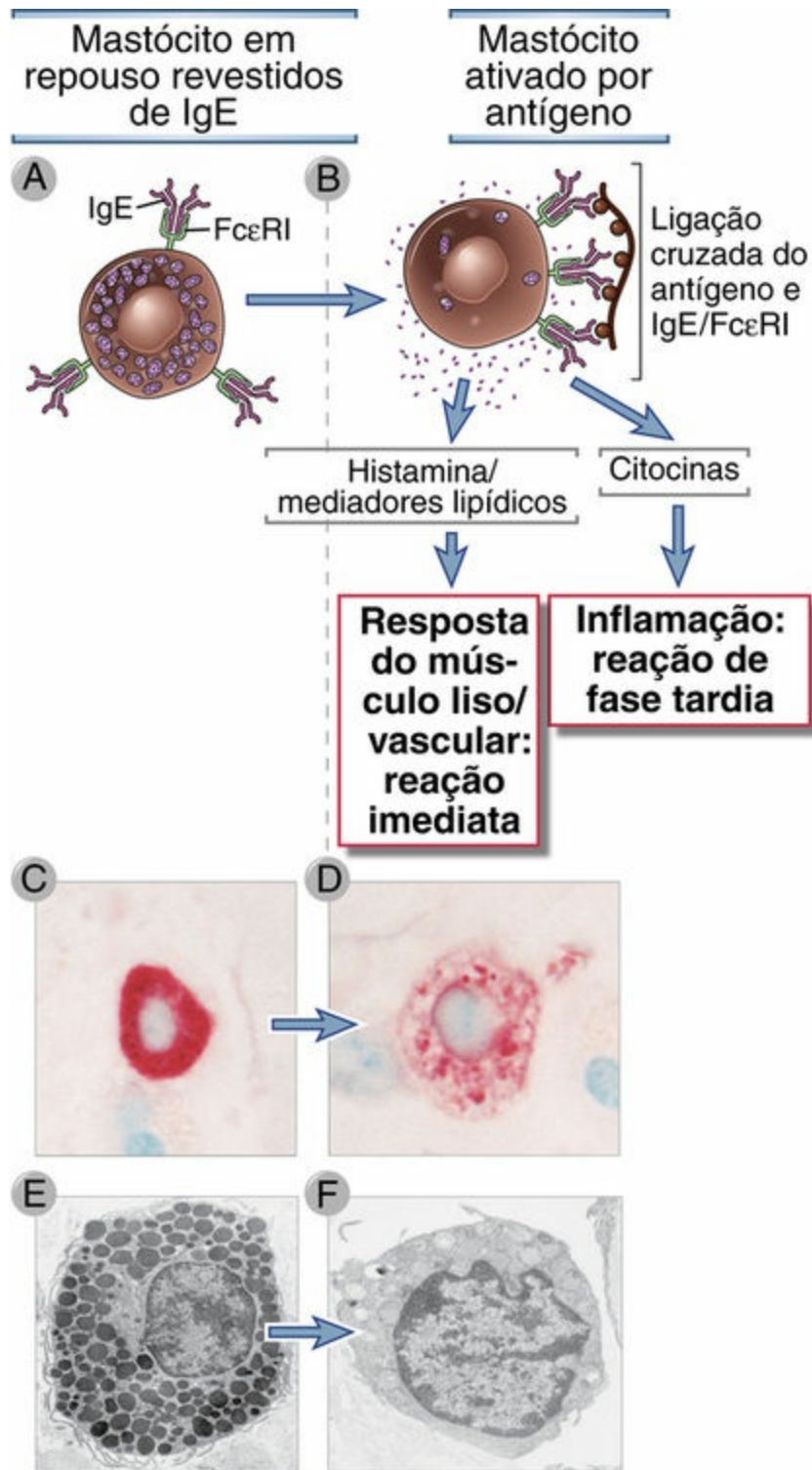
A importância de Fc $\epsilon$ RI nas reações de hipersensibilidade imediata mediada por IgE foi demonstrada em camundongos *knockout* para a cadeia  $\alpha$  Fc $\epsilon$ RI. Quando esses camundongos recebem injeções intravenosas de IgE específicas para um antígeno conhecido seguido por esse antígeno, a anafilaxia não se desenvolve ou é leve, enquanto há uma reação grave nos camundongos do tipo selvagem tratados da

mesma maneira. A expressão do  $Fc\epsilon RI$  na superfície de mastócitos e basófilos é aumentada por IgE, proporcionando assim um mecanismo para a amplificação das reações mediadas por IgE.

Outro receptor de IgE chamado de  $Fc\epsilon RI$ , também conhecido como CD23, é uma proteína relacionada com as lectinas de mamíferos do tipo C cuja afinidade para IgE é muito mais baixa do que a do  $Fc\epsilon RI$ . O papel biológico de  $Fc\epsilon RI$  não é conhecido.

## A Ativação dos Mastócitos

***Os mastócitos são ativados pela ligação cruzada de moléculas do  $Fc\epsilon RI$ , que ocorre por meio da ligação de antígenos multivalentes para as moléculas de IgE que estão ligadas aos receptores  $Fc$  (Fig. 20-4).*** Em um indivíduo alérgico a um antígeno particular, uma grande parte da IgE ligada ao  $Fc\epsilon RI$  na superfície dos mastócitos é específica para este antígeno. A exposição ao antígeno irá cruzar moléculas de IgE suficientes para desencadear a ativação dos mastócitos. Em contrapartida, nos indivíduos não atópicos, as moléculas de IgE ligadas a mastócitos são específicas para muitos antígenos diferentes, os quais podem ter induzido baixos níveis da produção de IgE. Portanto, nenhum antígeno sozinho vai levar à reação cruzada de um número suficiente de moléculas de IgE para causar a ativação dos mastócitos.



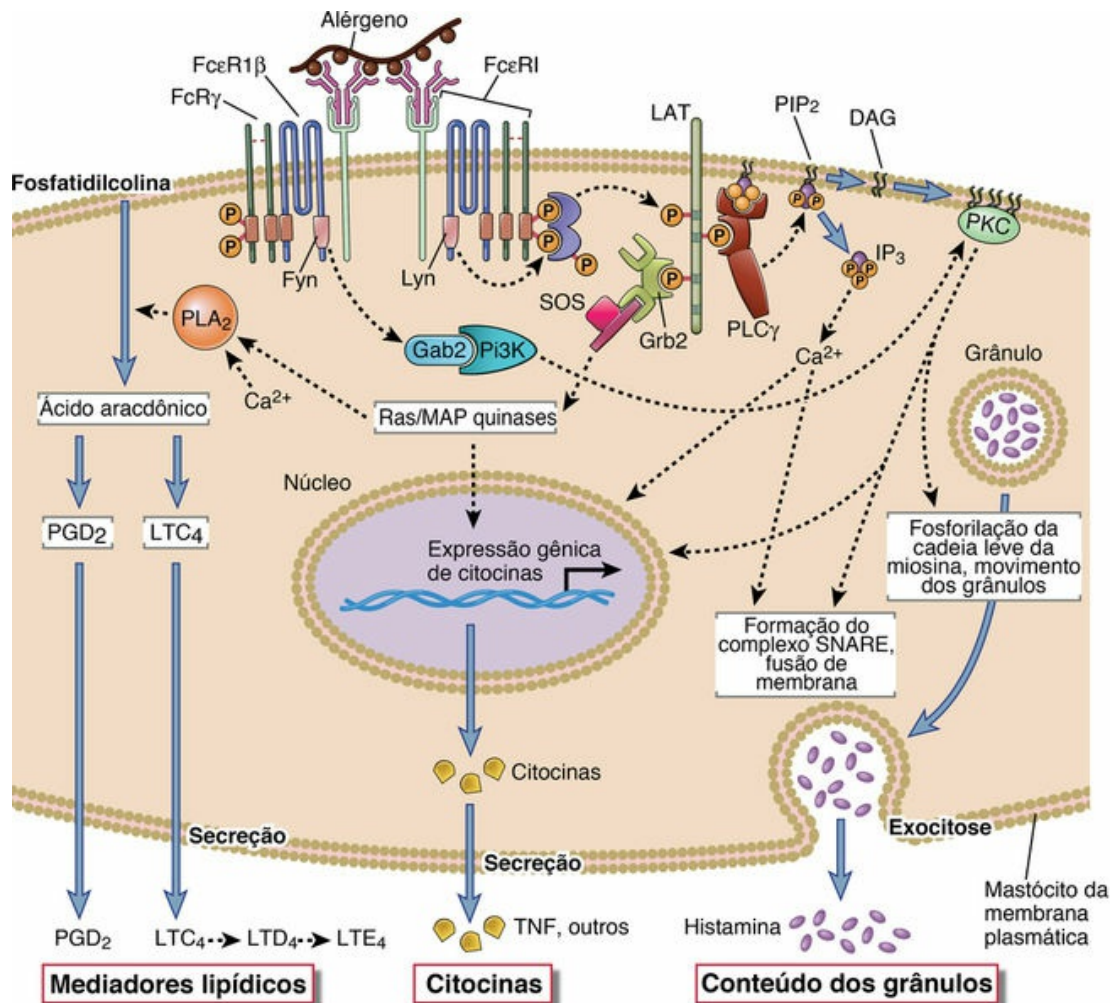
**FIGURA 20-4** A ativação dos mastócitos.

A ligação do antígeno à IgE gera ligações cruzadas das moléculas FcεRI em mastócitos, o que induz a liberação dos mediadores que causam a reação de hipersensibilidade (A, B). Outros estímulos, incluindo o fragmento de complemento C5a, também podem ativar mastócitos. A fotomicrografia clara de um mastócito em repouso com marcação roxa abundante

nos grânulos citoplasmáticos é mostrada em C. Estes grânulos são também vistos na eletromicrografia de um mastócito em repouso mostrado em E. Em contraste, os grânulos empobrecidos de um mastócito ativado estão apresentados na fotomicrografia clara (D) e na eletromicrografia (F). (Cortesia de Dr. Daniel Friend, Department of Pathology, Hospital Brigham and Woman's e Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.)

***A ativação dos mastócitos resulta em três tipos de resposta biológica: a secreção do conteúdo dos grânulos pré-formados por exocitose (degranulação), a síntese e secreção dos mediadores lipídicos, e a síntese e secreção de citocinas.*** As cascatas de sinalização iniciadas pela ligação cruzada dos Fc $\epsilon$ RI mediados por alérgenos são semelhantes aos eventos da sinalização proximal iniciados pela ligação ao antígeno de linfócitos (Fig. 20-5; Ver também Cap. 7). A tirosinoquinase Lyn está constitutivamente associada à cauda citoplasmática da cadeia  $\beta$  do Fc $\epsilon$ RI. Na ligação cruzada de moléculas Fc $\epsilon$ RI pelo antígeno, Lyn tirosinoquinase fosforila os ITAMs nos domínios citoplasmáticos das cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  de Fc $\epsilon$ RI. A Syk tirosinoquinase é então recrutada para os ITAMs da cadeia  $\gamma$ , torna-se ativada e fosforila e ativa outras proteínas da cascata de sinalização, incluindo várias moléculas adaptadoras e enzimas que participam da formação de complexos com componentes múltiplos de sinalização, como descrito nas células T. O ligante para a ativação das células T (LAT) é uma das proteínas adaptadoras necessárias para a ativação dos mastócitos, e uma das enzimas recrutadas para LAT é a fosfolipase C $\gamma$  (PLC $\gamma$ ). Uma vez ligada ao LAT, a PLC $\gamma$  é fosforilada e catalisa então a quebra do fosfatidilinositol bisfosfato para produzir inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG) (Cap. 7). O IP3 causa uma elevação dos níveis citoplasmáticos de cálcio e o DAG ativa a proteína quinase C (PKC). Outra via da ativação da PKC de mastócitos envolve a tirosinoquinase Fyn que fosforila a proteína adaptadora da proteína 2 semelhante ao ligante associado à Grb-2 (Gaab2), que por sua vez se liga à fosfoinositida 3-quinase, levando à ativação da PKC.





**FIGURA 20-5** Eventos bioquímicos na ativação de mastócitos.

A ligação cruzada de IgE ligada ao antígeno ativa as proteínas tirosina quinases (Lyn e Syk), que por sua vez causa a ativação de uma cascata de MAP quinase e da fosfolipase Cy (PLC $\gamma$ ). A PLC $\gamma$  catalisa a liberação de IP $_3$  e DAG do PIP $_2$  da membrana. O IP $_3$  provoca a liberação do cálcio intracelular do retículo endoplasmático. O cálcio e DAG ativam a PKC, que fosforila os substratos tais como a proteína da cadeia leve da miosina e, assim, leva à degradação e liberação de mediadores pré-formados. O cálcio e as MAP quinases combinam para ativar a enzima fosfolipase A $_2$  citossólica (PLA $_2$ ), que inicia a síntese dos mediadores lipídicos, incluindo a prostaglandina D $_2$  (PGD $_2$ ) e o leucotrieno C $_4$  (LTC $_4$ ).

Estes eventos de sinalização levam a três principais respostas:

- **Degranulação.** A PKC ativada fosforila o componente miosina de cadeia leve dos

complexos de actina-miosina localizados abaixo da membrana plasmática, que conduz para a desmontagem do complexo. Isto permite que os grânulos citoplasmáticos entrem em contato com a membrana plasmática. A membrana granular do mastócito, então se funde com a membrana plasmática, um processo que é mediado pelos membros da família das proteínas SNARE, que estão envolvidos em muitos outros eventos de fusão da membrana. Diferentes proteínas SNARE presentes nas membranas plasmáticas e granulares interagem para formar um complexo multimérico que catalisa a fusão. A formação dos complexos SNARE é regulada por várias moléculas acessórias, incluindo as Rab 3 guanosina trifosfatases e quinases associadas a e as Rab fosfatases. Nos mastócitos em repouso, essas moléculas regulatórias inibem a fusão da membrana dos grânulos dos mastócitos com a membrana plasmática. Na ligação cruzada do FcεRI o resultado do aumento na concentração citoplasmática de cálcio e a ativação de PKC bloqueiam as funções reguladoras das moléculas acessórias. Além disso, as proteínas do sensor de cálcio respondem às elevadas concentrações de cálcio pela promoção da formação do complexo SNARE e fusão da membrana. Após a fusão da membrana, o conteúdo dos grânulos dos mastócitos é liberado para o meio extracelular. Este processo pode ocorrer em poucos segundos de ligação cruzada do FcεRI, e pode ser visualizado morfológicamente pela perda dos grânulos densos dos mastócitos (Fig. 20-4).

As ações biológicas dos mediadores liberados na degranulação dos mastócitos são descritas mais adiante.

- **Produção de mediadores lipídicos.** A síntese de mediadores lipídicos é controlada pela enzima fosfolipase A<sub>2</sub> citossólica (PLA<sub>2</sub>) (Fig. 20-5). Esta enzima é ativada por dois sinais: elevação de cálcio citoplasmático e fosforilação catalisada por uma proteína ativada por mitógeno (MAP) quinase, tais como a quinase ativada por receptor extracelular (ERK). A ERK é ativada como consequência de uma cascata de quinases iniciada através das ITAMs do receptor, provavelmente usando as mesmas como intermediárias nas células T (Cap. 7). Uma vez ativada, a PLA<sub>2</sub> hidrolisa os fosfolípidos da membrana para liberar substratos que são convertidos mais tarde por cascatas de enzimas para os mediadores finais. O principal substrato é o ácido araquidônico, o qual é convertido pela ciclo-oxigenase ou lipoxigenase em diferentes mediadores (discutido mais tarde).
- **Produção de citocinas.** A secreção de citocinas por mastócitos ativados é uma consequência da transcrição de genes de citocinas recém-induzida. Os eventos bioquímicos que regulam a transcrição de genes de citocinas nos mastócitos parecem ser semelhantes aos eventos que ocorrem nas células T. O recrutamento e ativação de várias moléculas adaptadoras e quinases em resposta a ligação cruzada do FcεRI levam à translocação nuclear do fator nuclear de células T ativadas (NFAT) e do fator nuclear κB (NF-κB), bem como a ativação da proteína de ativação 1 (AP-1) por proteínas quinases, tais como c-Jun N-terminal quinase.

Estes fatores de transcrição estimulam a expressão de diversas citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, e o fator de necrose tumoral [TNF], entre outros), mas, em contraste com as células T, não da IL-2.

A ativação de mastócitos através da via do Fc $\epsilon$ RI é regulada por vários receptores inibitórios, que contêm um imunorreceptor inibitório baseado em um motivo tirosina (ITIM) dentro de suas caudas citoplasmáticas (Cap. 7). Tal receptor inibitório é Fc $\gamma$ RIIB, que se agrega com Fc $\epsilon$ RI durante a ativação de mastócitos. O ITIM de Fc $\gamma$ RIIB é fosforilado por Lyn, e isso leva ao recrutamento da fosfatase chamada SH2 inositol contendo o domínio 5-fosfatase (SHIP) e a inibição da sinalização de Fc $\epsilon$ RI. Experimentos em camundongos indicam que o Fc $\gamma$ RIIB regula a degranulação dos mastócitos *in vivo*. Vários outros receptores inibitórios também são expressos em mastócitos, mas sua importância *in vivo* ainda não é conhecida.

Os mastócitos podem ser ativados por uma variedade de substâncias biológicas independentemente da ligação cruzada mediada pelo alérgeno de Fc $\epsilon$ RI, incluindo compostos polibásicos, peptídios, quimiocinas e anafilatoxinas derivadas do complemento (C3a, C4a, C5a). Estes modos adicionais de ativação dos mastócitos podem ser importantes nas reações de hipersensibilidade sem mediação imunológica imediata, ou eles podem amplificar as reações mediadas por IgE. Certos tipos de mastócitos ou basófilos podem responder a quimiocinas derivadas de macrófagos, tais como a proteína inflamatória dos macrófagos 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), produzida como parte da imunidade inata, e quimiocinas derivadas de células T, produzidas como parte da imunidade adaptativa mediada pelas células. As anafilatoxinas derivadas do complemento, especialmente C5a, ligam-se a receptores específicos nos mastócitos e estimulam a degranulação. Essas quimiocinas e seus fragmentos do complemento que ativam os mastócitos são susceptíveis de serem produzidos em locais de inflamação. Portanto, a ativação dos mastócitos e a liberação dos mediadores inflamatórios podem amplificar as reações independentes de IgE. Os compostos polifuncionais, tais como o composto 48/40 e mastoparan, são usados experimentalmente como gatilhos farmacológicos para os mastócitos. Estes agentes possuem uma região catiônica adjacente a uma porção hidrofóbica e eles funcionam ativando as proteínas G.

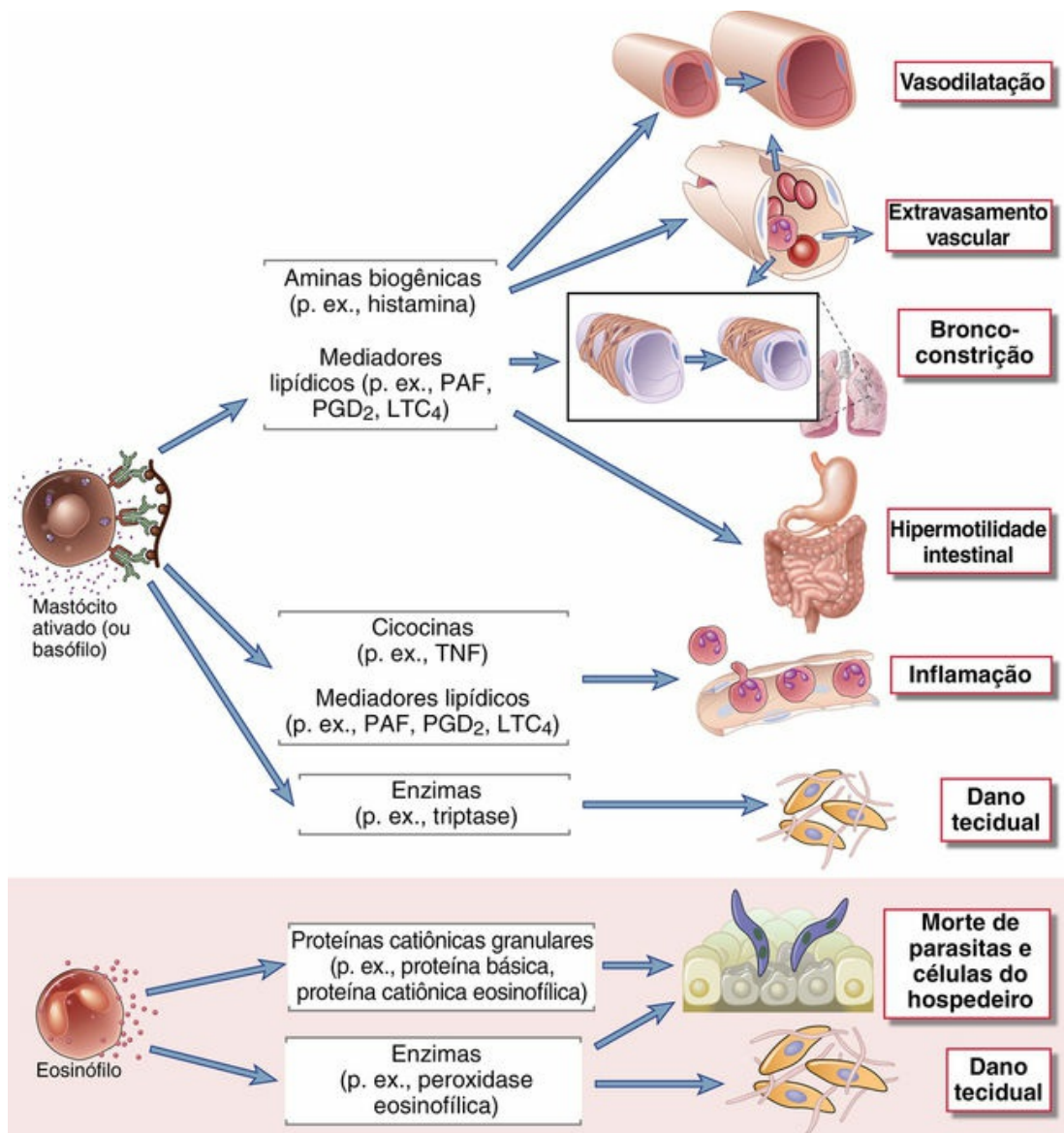
Muitos neuropeptídios, incluindo a substância P, a somatostatina e o peptídio intestinal vasoativo, induzem a liberação de histamina dos mastócitos e podem mediar a ativação de mastócitos ligada ao sistema neuroendócrino. O sistema nervoso é conhecido por modular as reações de hipersensibilidade imediata, e os neuropeptídios podem estar envolvidos neste efeito. O alargamento produzido na borda da pápula induzida nas reações de hipersensibilidade imediata é, em parte, mediado pelo sistema nervoso, tal como demonstrado pela observação de que é acentuadamente diminuído nos locais de pele sem inervação. As temperaturas baixas e o exercício intenso também podem desencadear a degranulação dos mastócitos, mas os mecanismos envolvidos não são conhecidos.

Os mastócitos também expressam receptores Fc para a IgG de cadeias pesadas, as células podem ser ativadas por ligação cruzada à IgG ligada. Esta reação mediada pela IgG é a explicação provável para a constatação de que os camundongos *knockout* para a cadeia  $\epsilon$  da Ig não são completamente resistentes à anafilaxia induzida por antígenos e mediada por mastócitos. No entanto, a IgE, é o maior isotipo do anticorpo envolvido na maioria das reações de hipersensibilidade imediata.

Ativação de mastócitos não é um fenômeno de tudo ou nada e diferentes tipos ou níveis de estímulos podem provocar respostas parciais, com a produção de alguns mediadores, mas não de outros. Essas variações na ativação e na liberação do mediador podem explicar as apresentações clínicas variáveis.

## Mediadores Derivados dos Mastócitos

**As funções efetoras dos mastócitos são mediadas por moléculas solúveis liberadas das células ativadas** (Fig. 20-6 e Tabela 20-2). Esses mediadores podem ser divididos em mediadores pré-formados, os quais incluem aminas biogênicas e macromoléculas de grânulos, e os mediadores recém-sintetizados que incluem citocinas e mediadores lipídicos.



**FIGURA 20-6** Efeitos biológicos dos mediadores de hipersensibilidade imediata.

Mediadores dos mastócitos e basófilos incluem as aminas biogênicas e enzimas armazenadas em grânulos pré-formados, bem como as citocinas e mediadores lipídicos, que são em grande parte recém-sintetizadas na ativação celular. As aminas biogênicas e os mediadores lipídicos induzem derrame vascular, broncoconstrição, e hipermotilidade intestinal, todos os componentes da resposta imediata. As citocinas e mediadores lipídicos contribuem para a inflamação, que faz parte da reação de fase tardia. Enzimas provavelmente contribuem para o dano tecidual. Eosinófilos ativados liberam proteínas catiônicas pré-formadas, assim como enzimas que são tóxicas para os parasitas e células hospedeiras. Algumas enzimas dos grânulos dos eosinófilos



provavelmente contribuem para danos nos tecidos em doenças alérgicas crônicas.

## **As Aminas Biogênicas**

**Muitos dos efeitos biológicos da ativação dos mastócitos são mediados por aminas biogênicas que são liberadas dos grânulos citoplasmáticos e agem sobre os vasos sanguíneos e o músculo liso.** As aminas biogênicas, também chamadas de aminas vasoativas, são compostos de baixo peso molecular, que contêm um grupamento amina. Nos mastócitos humanos, o principal mediador dessa classe é a **histamina**, mas em alguns roedores, a serotonina pode ser de igual ou maior importância. A histamina atua através da ligação a receptores de células-alvo e diferentes tipos de células expressam as classes distintas de receptores de histamina (p. ex., H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>) que podem ser distinguidos pela sua sensibilidade a inibidores farmacológicos diferentes. As ações da histamina são de curta duração, pois a histamina é rapidamente removida do meio extracelular através de sistemas de transporte específicos para aminas. Na ligação a receptores celulares, a histamina inicia os eventos intracelulares, tais como a quebra do fosfatidilinositol ao IP<sub>3</sub> e DAG, e estes produtos causam diferentes alterações em diferentes tipos de células. A ligação da histamina ao endotélio causa a contração das células endoteliais, levando ao aumento de espaços interendoteliais, ao aumento da permeabilidade vascular, e ao vazamento de plasma para os tecidos. A histamina também estimula as células endoteliais para sintetizarem relaxantes do músculo liso vascular, tais como a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e o óxido nítrico, que causam vasodilatação. Essas ações da histamina produzem a resposta de pápula e halo eritematoso da hipersensibilidade imediata (descrita mais tarde). Antagonistas do receptor H<sub>1</sub> (comumente chamados de anti-histamínicos) podem inibir a resposta de pápula e halo ao alérgeno intradérmico ou ao anticorpo anti-IgE. A histamina também causa a contração do músculo liso intestinal e bronquial. Deste modo, a histamina pode contribuir para o aumento da peristalse e do broncoespasmo associado a alérgenos ingeridos e inalados, respectivamente. No entanto, em algumas doenças alérgicas, especialmente, na asma, os anti-histamínicos não são eficazes na supressão da reação. Além disso, a broncoconstrição na asma é mais prolongada do que os efeitos da histamina, o que sugere que outros mediadores derivados dos mastócitos são importantes em algumas formas de hipersensibilidade imediata.

## **Enzimas e Proteoglicanos dos Grânulos**

**As proteases neutras de serina, incluindo a triptase e quimase, são os constituintes de proteína mais abundantes dos grânulos de secreção dos mastócitos e contribuem para o dano tecidual nas reações de hipersensibilidade imediata.** A triptase está presente em todos os mastócitos



humanos e não é conhecida sua presença em nenhum outro tipo de célula. Portanto, a presença de triptase em fluidos biológicos humanos é interpretada como um marcador da ativação de mastócitos. A quimase é encontrada em alguns mastócitos humanos, e a sua presença ou ausência é um critério para a caracterização de subpopulações de mastócitos humanos, conforme discutido anteriormente. As funções destas enzimas *in vivo* não são conhecidas; no entanto, várias atividades demonstradas *in vitro* sugerem efeitos biológicos importantes. Por exemplo, a triptase cliva o fibrinogênio e ativa a colagenase, provocando, assim, danos no tecido, enquanto a quimase pode converter a angiotensina I em angiotensina II, degradar as membranas basais epidérmicas e estimular a secreção de muco. Outras enzimas encontradas no interior de grânulos de mastócitos incluem a carboxipeptidase A e a catepsina G. Os grânulos dos basófilos também contêm várias enzimas, algumas das quais são as mesmas dos grânulos de mastócitos, tais como as proteases neutras. Outras enzimas, tais como a proteína básica principal e a lisofosfolipase, são encontradas nos grânulos dos eosinófilos.

Os proteoglicanos, incluindo a heparina e o sulfato de condroitina, também são importantes constituintes tanto dos grânulos dos mastócitos quanto dos basófilos. Estas moléculas são compostas de um núcleo polipeptídico e múltiplas cadeias laterais não ramificadas de glicosaminoglicanos que conferem uma forte carga negativa para as moléculas. Dentro dos grânulos, os proteoglicanos servem como matrizes para o armazenamento das aminas biogênicas, proteases e outros mediadores carregados positivamente e impedem a sua acessibilidade para o resto da célula. Os mediadores são liberados dos proteoglicanos em diferentes proporções após a exocitose dos grânulos, com aminas biogênicas se dissociando muito mais rapidamente do que a triptase ou a quimase. Desta forma, os proteoglicanos podem controlar a cinética das reações de hipersensibilidade imediata.

## Os Mediadores Lipídicos

***A ativação dos mastócitos resulta na rápida síntese de novo e libertação de mediadores de lipídios que possuem uma variedade de efeitos sobre os vasos sanguíneos, a musculatura lisa brônquica e leucócitos.*** O mais importante destes mediadores são os derivados do ácido araquidônico, o qual é gerado pela hidrólise dos fosfolipídios de membrana mediada pela PLA<sub>2</sub>, tal como discutido anteriormente. O ácido araquidônico é metabolizado pelas vias da ciclo-oxigenase ou lipoxigenase para a produção dos mediadores de reações alérgicas.

O principal mediador derivado do ácido araquidônico produzido pela via da ciclo-oxigenase nos mastócitos é a **prostaglandina D<sub>2</sub>** (PGD<sub>2</sub>). A PGD<sub>2</sub> liberada se liga aos receptores de células do músculo liso e atua como um vasodilatador e um broncoconstritor. A PGD<sub>2</sub> também promove a quimiotaxia dos neutrófilos e sua acumulação nos locais inflamatórios. A síntese da PGD<sub>2</sub> pode ser evitada através dos

inibidores da ciclo-oxigenase, tais como a aspirina e outros agentes anti-inflamatórios não esteroidais. Esses fármacos podem paradoxalmente exacerbar a broncoconstrição asmática, porque expõem o ácido araquidônico para a produção de leucotrienos, discutidos adiante.

Os principais mediadores derivados do ácido araquidônico produzidos pela via da lipoxigenase são os leucotrienos. Especialmente o LTC<sub>4</sub> e os seus produtos de degradação, o LTD<sub>4</sub> e o LTE<sub>4</sub>. O LTC<sub>4</sub> é produzido pelos mastócitos e basófilos das mucosas, mas não pelos mastócitos do tecido conjuntivo. Os leucotrienos derivados de mastócitos se ligam a receptores específicos nas diferentes células lisas musculares, a partir dos receptores para a PGD<sub>2</sub>, e levam a uma broncoconstrição prolongada. Coletivamente, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub> constituem o que já foi chamado de substância de anafilaxia de reação lenta (SRS-A) e são tidos como mediadores importantes da broncoconstrição asmática. Quando injetados na pele, esses leucotrienos produzem uma pápula característica de reação de longa duração. Os inibidores farmacológicos da 5-lipoxigenase também bloqueiam as reações anafiláticas em sistemas experimentais.

Um terceiro tipo de mediador lipídico produzido pelos mastócitos é o **fator de ativação plaquetária (PAF)**, nomeado pela sua descoberta como um indutor de agregação das plaquetas de coelho. Nos mastócitos e basófilos, o PAF é sintetizado por meio da acilação de lisogliceril éter fosforilcolina, um derivado da hidrólise dos fosfolípidios da membrana mediada pela PLA<sub>2</sub>. O PAF tem ações broncoconstritoras diretas. Ele também provoca a retração das células endoteliais e pode relaxar o músculo liso vascular. No entanto, o PAF é hidrofóbico e é rapidamente destruído por uma enzima plasmática chamada PAF hidrolase, o que limita suas ações biológicas. Os inibidores farmacológicos dos receptores de PAF melhoram certos aspectos da hipersensibilidade imediata no pulmão de coelhos. Uma evidência genética recente apontou o PAF como um mediador da asma. A asma se desenvolve na primeira infância em indivíduos com uma deficiência hereditária da PAF hidrolase. O PAF também pode ser importante nas reações de fase tardia, em que se pode ativar leucócitos inflamatórios. Nesta situação, a fonte de PAF pode ser os basófilos ou células endoteliais vasculares (estimuladas por histamina ou leucotrienos), em adição aos mastócitos.

## Citocinas

**Os mastócitos produzem muitas citocinas diferentes, que contribuem para a inflamação alérgica (a reação de fase tardia).** Essas citocinas incluem o TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, CCL3, CCL4, e vários fatores estimulantes de colônia, tais como a IL-3 e o fator estimulante de colônia de granulócitos- monócitos (GM-CSF). Como mencionado anteriormente, a ativação de mastócitos induz a transcrição e a síntese dessas citocinas, mas o TNF pré-formado pode também ser armazenado nos

grânulos e liberado rapidamente nas ligações cruzadas de FcεRI. As células T<sub>H</sub>2 que são recrutadas para os locais de reações alérgicas também produzem algumas dessas citocinas. As citocinas que são liberadas dos mastócitos ativados e células T<sub>H</sub>2 são as principais responsáveis pela inflamação associada à reação de fase tardia. O TNF ativa a expressão endotelial das moléculas de adesão e em conjunto com as quimiocinas contribui para a infiltração de neutrófilos e monócitos (Cap. 3). Além da inflamação alérgica, as citocinas dos mastócitos aparentemente também contribuem para as respostas imunológicas inatas a infecções. Por exemplo, como discutiremos mais tarde, modelos de camundongos indicam que os mastócitos são necessários para que ocorra a defesa eficaz contra algumas infecções bacterianas, e esta função efetora é mediada em grande parte pelo TNF.

## As Propriedades dos Eosinófilos

**Os eosinófilos são granulócitos derivados da medula óssea abundantes nos infiltrados inflamatórios das reações de fase tardia e estão envolvidos em muitos dos processos patológicos em doenças alérgicas.** Os eosinófilos desenvolvem-se na medula óssea e após a maturação circulam no sangue. O GM-CSF, IL-3 e IL-5 promovem a maturação dos eosinófilos de precursores mieloides. Os eosinófilos estão normalmente presentes nos tecidos periféricos, especialmente nos revestimentos das mucosas do trato respiratório, gastrointestinal e geniturinário, e seus números podem aumentar através do recrutamento no ambiente de inflamação. Os grânulos de eosinófilos contêm proteínas básicas que se ligam a corantes ácidos, tal como a eosina (Tabela 20-2 e Fig. 20-2, C).

**As citocinas produzidas por células T<sub>H</sub>2 promovem a ativação dos eosinófilos e seu recrutamento para os locais inflamatórios na reação de fase tardia.** Tanto as células T<sub>H</sub>2 quanto as células linfoides inatas do grupo 2 são fontes de IL-5. A IL-5 é uma potente citocina de ativação de eosinófilos que aumenta a capacidade dos eosinófilos para liberar o conteúdo do grânulo. A IL-5 também amplifica a maturação dos eosinófilos a partir de precursores da medula óssea e na ausência desta citocina (p. ex., em camundongos *knockout* para IL-5), há uma deficiência na quantidade e nas funções dos eosinófilos. Os eosinófilos são recrutados para os locais de reação de fase tardia, bem como para os locais de infecção por helmintos, e seu recrutamento é mediado por uma combinação de interações entre moléculas de adesão e quimiocinas. Os eosinófilos se ligam às células endoteliais que expressam E-selectina e VCAM-1, o ligante para a integrina VLA-4. A IL-4 produzida por células T<sub>H</sub>2 pode aumentar a expressão de moléculas de adesão para os eosinófilos. O recrutamento de eosinófilos e a infiltração nos tecidos também dependem da quimiocina eotaxina (CCL11), que é produzida pelas células epiteliais nos locais de reações alérgicas e liga-se ao receptor de quimiocina CCR3, que é expresso constitutivamente por eosinófilos. Além disso, o produto C5a

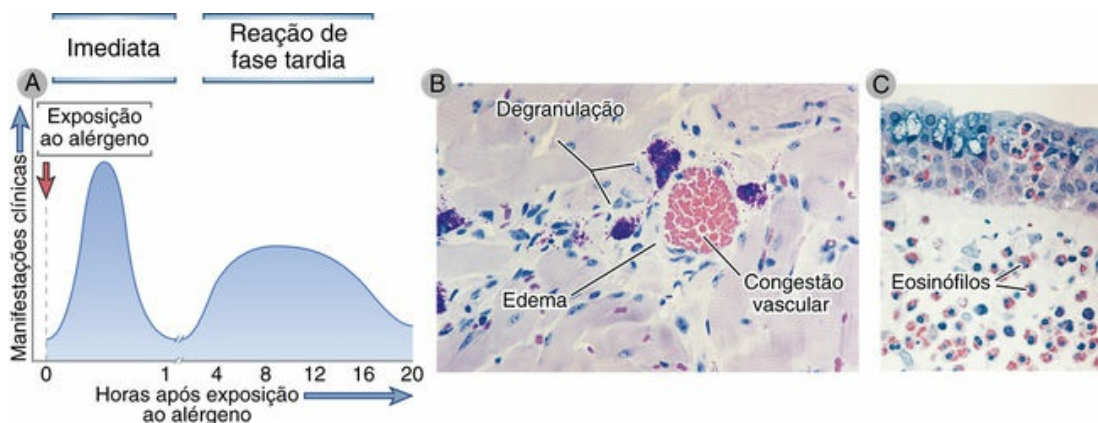
do complemento e os mediadores lipídicos PAF e LTB<sub>4</sub>, os quais são produzidos pelos mastócitos, também funcionam como quimioatratantes para os eosinófilos.

**Os eosinófilos liberam proteínas granulares que são tóxicas para helmintos parasitários e podem ferir o tecido normal.** Os eosinófilos expressam receptores Fc para os anticorpos IgG, IgA e IgE, e são presumivelmente capazes de responder à reação cruzada desses receptores através da ligação do antígeno aos anticorpos associados ao receptor. O Fc $\epsilon$ RI em eosinófilos humanos carece da cadeia  $\beta$ , um componente de sinalização do receptor, e não está claro o quanto eficientemente essas células desgranulam em resposta à ligação cruzada da IgE. O conteúdo dos grânulos dos eosinófilos inclui hidrolases lisossomais encontradas em outros granulócitos, bem como proteínas específicas dos eosinófilos que são particularmente tóxicas para os organismos helmintos, incluindo a proteína básica principal e proteína catiônica eosinofílica. Esses dois polipeptídeos catiônicos não possuem atividade enzimática conhecida, mas eles são tóxicos para as bactérias e helmintos, bem como ao tecido normal. Além disso, os grânulos eosinofílicos contêm a peroxidase de eosinófilos, que é distinta da mieloperoxidase encontrada nos neutrófilos e catalisa a produção de ácido hipocloroso ou hipobromoso. Estes produtos também são tóxicos para os helmintos, protozoários e células hospedeiras.

Os eosinófilos ativados, assim como os mastócitos e basófilos, produzem e liberam mediadores lipídicos, incluindo o PAF, as prostaglandinas, e os leucotrienos LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>. Esses mediadores lipídicos derivados de eosinófilos podem contribuir para os processos patológicos de doenças alérgicas. Os eosinófilos também produzem uma variedade de citocinas que podem promover respostas inflamatórias e reparação dos tecidos, mas o significado biológico da produção de citocinas pelos eosinófilos não é conhecido.

## Reações dependentes de IgE e mastócitos

As células e mediadores que foram discutidos são responsáveis pelas alterações vasculares imediatas e respostas inflamatórias tardias que ocorrem nas reações alérgicas. Nas seções a seguir, vamos descrever essas reações imediatas e de fase tardia (Fig. 20-7).



**FIGURA 20-7** As reações imediatas e de fase tardia na alergia.

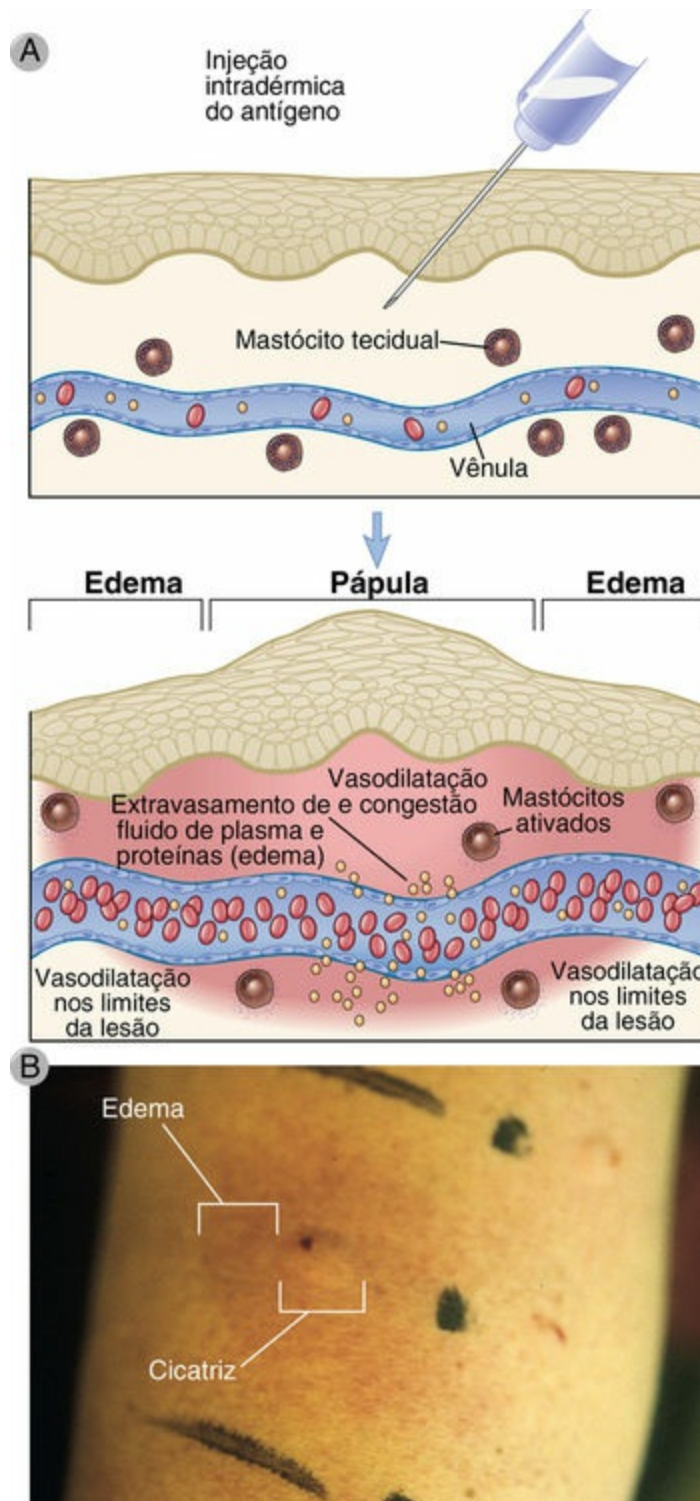
**A**, Cinética. A reação imediata e vascular do músculo liso ao alérgeno desenvolve-se dentro de minutos após o desafio (a exposição a alérgenos num indivíduo previamente sensibilizado), e a reação de fase tardia desenvolve-se 2 a 24 horas mais tarde. **B, C**, Morfologia. A reação imediata (**B**) é caracterizada pela vasodilatação, congestão e edema, e a reação de fase tardia (**C**) é caracterizada por um infiltrado inflamatório rico em eosinófilos, neutrófilos e células T.

(Cortesia de Dr. Daniel Friend, Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts.)

## A Reação Imediata

**As alterações vasculares precoces, que ocorrem durante as reações de hipersensibilidade imediata são demonstradas pela reação pápula e de halo eritematoso para a injeção intradérmica de um alérgeno (Fig. 20-8).** Quando um indivíduo que encontrou um alérgeno previamente e produziu o anticorpo IgE é desafiado por uma injeção intradérmica do mesmo antígeno, o local da injeção torna-se vermelho pela dilatação local dos vasos sanguíneos cheios de células vermelhas do sangue. O local em seguida rapidamente incha como resultado do vazamento do plasma das vênulas. Este inchaço suave é chamado de **pápula** e pode envolver uma área de vários centímetros de diâmetro de pele. Posteriormente, os vasos sanguíneos nas margens da pápula se dilatam e se tornam cheios de células vermelhas do sangue e produzem uma borda vermelha característica chamada de **halo eritematoso**. A reação completa da pápula e do halo eritematoso podem aparecer dentro de 5 a 10 minutos após a administração do antígeno e geralmente desaparece em menos de 1 hora.





**FIGURA 20-8** A reação de pápula e edema na pele. A, Em resposta à liberação estimulada pelo antígeno de mediadores de mastócitos, os vasos sanguíneos locais primeiro dilatam-se e, em seguida, tornam-se permeáveis ao fluido e a macromoléculas, que produz vermelhidão e inchaço local (pápula). A dilatação subsequente de vasos na borda do inchaço produz o aparecimento de uma marca



vermelha (halo). B, Fotografia de uma reação de pápula e halo típico da pele em resposta a injeção de um alérgeno. (Cortesia de Dr. James D. Faix, Department of Pathology, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California.)

**A reação da pápula e do halo eritematoso é dependente de IgE e de mastócitos.** O exame histológico mostra que os mastócitos na área da pápula e do halo eritematoso liberaram mediadores pré-formados; isto é, seus grânulos citoplasmáticos foram descarregados. A associação causal de IgE e de mastócitos com a hipersensibilidade imediata foi primeiramente deduzida a partir dos experimentos envolvendo a transferência passiva de anticorpos IgE de um indivíduo alérgico a um receptor normal. Por exemplo, as reações de hipersensibilidade imediata contra um alérgeno podem ser provocadas em indivíduos irresponsivos se o local da pele foi inicialmente injetado com a IgE de um indivíduo alérgico. Tais experimentos de transferência adotiva foram pela primeira vez realizados com o soro de indivíduos imunizados e o fator do soro responsável pela reação foi originalmente chamado de reagina. Por este motivo, as moléculas de IgE são ainda às vezes chamadas de anticorpos reagínicos. A reação cutânea iniciada pelo antígeno que acompanha a transferência adotiva de IgE é chamada de anafilaxia cutânea passiva.

A reação da pápula e do halo eritematoso resulta na sensibilização de mastócitos da derme pela IgE que se liga ao FcεRI, ligação cruzada de IgE pelo antígeno e ativação de mastócitos com liberação de mediadores, nomeadamente a histamina. A histamina liga-se a receptores de histamina nas células endoteliais venulares; as células endoteliais sintetizam e liberam PGI<sub>2</sub>, óxido nítrico e o PAF; e estes mediadores causam vasodilatação e vazamento vascular, conforme descrito anteriormente. Os mastócitos da pele parecem produzir apenas pequenas quantidades de mediadores de longa ação, tais como os leucotrienos, assim a resposta da pápula e do halo eritematoso desaparece rapidamente. Os alergistas muitas vezes testam os pacientes para alergias a diferentes antígenos, examinando a capacidade desses antígenos aplicados em manchas da pele ou administrados através de uma pequena picada de agulha para provocar as reações de pápula e eritema.

## A Reação de Fase Tardia

**A reação imediata de pápula e halo eritematoso é seguida 2 a 4 horas mais tarde por uma reação de fase tardia que consiste no acúmulo de leucócitos inflamatórios, incluindo neutrófilos, eosinófilos, basófilos e células T auxiliares (Fig. 20-7).** A inflamação é máxima em cerca de 24 horas e em seguida diminui gradualmente. Como a reação imediata de pápula e halo eritematoso, a capacidade de montar uma reação de fase tardia também pode ser transferida

adotivamente com a IgE, e a reação pode ser imitada pelos anticorpos anti-IgE que fazem ligação cruzada com os receptores FcεR1 em mastócitos com IgE ligada, ou com agentes de ativação de mastócitos. As citocinas produzidas por mastócitos, incluindo o TNF, suprarregula a expressão de moléculas de adesão endotelial de leucócitos, tais como a E-selectina e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), e as quimiocinas que recrutam leucócitos sanguíneos. Assim, a ativação dos mastócitos promove o recrutamento dos leucócitos para os tecidos. Os tipos de leucócitos que são típicos de reações de fase tardia são eosinófilos e as células T auxiliares. Embora as células TH2 sejam o subconjunto dominante nas reações de fase tardia sem complicações, as células T encontradas na dermatite atópica crônica e asma incluem células TH1 e TH17, bem como as células T que produzem IL-17 e IFN-γ. Os neutrófilos também estão frequentemente presentes nessas reações. Tanto os eosinófilos quanto as células TH2 expressam CCR4 e CCR3, e as quimiocinas que se ligam a esses receptores são produzidas por muitos tipos de células nos locais das reações de hipersensibilidade imediata, incluindo as células epiteliais.

***A reação de fase tardia pode ocorrer sem uma reação de hipersensibilidade imediata anterior detectável.*** A asma brônquica é uma doença na qual podem ocorrer repetidos episódios de inflamação com acúmulo de eosinófilos e das células TH2, sem as alterações vasculares que são características da resposta imediata. Nestes distúrbios, pode haver uma menor ativação dos mastócitos, e as citocinas que sustentam a reação de fase tardia podem ser produzidas principalmente pelas células T.

## **A susceptibilidade genética para doenças alérgicas**

***A propensão para o desenvolvimento de alergias é influenciada pela herança de vários genes.*** Níveis anormalmente elevados da síntese de IgE e a atopia associada frequentemente ocorrem nas famílias. Estudos familiares demonstraram clara transmissão autossômica de atopia, embora o padrão de herança completo seja multigênico. Dentro de uma mesma família, o órgão-alvo da doença atópica é variável. Assim, a febre do feno, a asma e o eczema podem estar presentes em vários graus em diferentes membros da mesma tribo. Todos estes indivíduos, no entanto, mostrarão níveis médios mais elevados de IgE no plasma.

Várias abordagens têm sido tomadas para identificar as variações de alelos dos genes que carregam um risco para as doenças alérgicas, incluindo a clonagem posicional, o estudo de genes candidatos e de associação ampla de genoma. Essas abordagens têm identificado vários genes diferentes associados ao aumento da susceptibilidade para a asma e outras doenças atópicas ([Tabela 20-3](#)). Com base nas funções conhecidas das proteínas codificadas por muitos destes genes, especulações racionais podem ser feitas sobre como a expressão ou atividade alterada dessas proteínas podem afetar o desenvolvimento ou a gravidade das

doenças alérgicas. No entanto, ainda sabemos muito pouco sobre se os polimorfismos genéticos que estão associados ao aumento do risco de alergia realmente alteram a expressão ou função das proteínas codificadas, e em muitos casos, não é claro o modo como a função das proteínas codificadas pode impactar o desenvolvimento da alergia.

## Tabela 20-3

### Exemplos de Genes Associados a Atopia e Asma

Genes Candidatos ou proteína Codificada	Localização no Cromossomo	Doença Associada	Provável Papel dos Produtos do Gene na Doença
Genes no grupo do gene da citocina (IL-4, IL-5, IL-13), CD14, Receptor $\beta$ 2-adrenérgico	5q	Asma	IL-4 e IL-13 promovem a mudança de IgE, IL-5 promove a ativação e crescimento dos eosinófilos; CD14 é um componente do receptor de LPS que, através da interação com TLR4, pode influenciar o equilíbrio entre respostas $T_H1$ e $T_H2$ a antígenos; o receptor $\beta$ 2-adrenérgico regula a contração da musculatura lisa brônquica
MHC de Classe II	6p	Asma	Alguns alelos podem regular a resposta das células T a alérgenos
Fc $\gamma$ RI cadeia $\beta$	11q	Asma	Medeia a ativação dos mastócitos
Fator de célula-tronco, interferon- $\gamma$ , STAT6	12q	Asma	Fator de célula-tronco regula o crescimento e diferenciação dos mastócitos; interferon- $\gamma$ possui ações opostas a IL-4; STAT6 medeia a transdução de sinal de IL-4
Cadeia $\alpha$ do receptor de IL-4	16	Asma	Subunidade dos receptores de IL-4 e IL-13
ADAM33	20p	Asma	Metaloproteinase envolvida no remodelamento das vias aéreas
DPP10	2q14	Asma	Peptidase que pode regular a atividade de quimiocinas e citocinas
PHF11	13q	Asma	Regulador transcricional envolvido na expansão clonal da célula B e expressão de Ig
ORMD3	17q	Asma	Resposta inflamatória ao estresse do RE
Receptor tipo IL-1 (receptor $\alpha$ IL-33)	2q	Asma	IL-33 induz as citocinas $T_H2$ nas células T, mastócitos, eosinófilos e células linfoides inatas
Fosfodiesterase 4D	5q	Asma	Degradação do AMPc e regulação da contratilidade dos músculos lisos das vias aéreas
Filagrina	1q	Dermatite atópica	Componente de queratinócitos diferenciados terminalmente importantes para a função de barreira epitelial

Uma das primeiras descobertas significativas de estudos genéticos de alergia foi a identificação de um locus de susceptibilidade para atopia no cromossoma 5q, perto do local do gene que codifica as citocinas IL-4, IL-5, IL-9, e IL-13 e o receptor de IL-4. Esta região é de grande interesse devido à conexão entre vários genes localizados nela e os mecanismos de regulação da IgE e do crescimento e diferenciação dos mastócitos e eosinófilos. Entre os genes neste cluster, os polimorfismos no gene *IL13* parecem ter uma associação mais forte com a asma. Os loci contendo o gene *IL33* e o seu receptor (*IL1R1*) foram identificados em um estudo de associação de genes de susceptibilidade à asma. A IL-33 induz a produção de citocinas  $T_H2$  em vários tipos de células, incluindo as células linfoides inatas. As mutações hipomórficas no gene que codifica a filagrina, uma conhecida proteína de barreira da pele e do esôfago aumenta o risco de sensibilização para alérgenos e consequentes respostas da IgE e doença atópica.

Alguns genes cujos produtos regulam a resposta imunológica inata a infecções têm sido associados a alergia e a asma. Isso inclui o CD14, um componente do receptor do lipopolissacarídeo e os receptores do tipo Toll TLR2 e TLR4. Uma vez que fortes respostas inatas contra infecções geralmente favorecem o desenvolvimento de respostas T<sub>H</sub>1 e inibem respostas T<sub>H</sub>2 (Cap. 10), é possível que os polimorfismos ou mutações em genes que resultam em respostas inatas amplificadas ou diminuídas contra organismos infecciosos comuns podem influenciar o risco de desenvolvimento de atopia. Outros estudos de associação do genoma encontraram associações significativas de variantes comuns de muitos outros genes com asma e outras doenças atópicas. Entretanto, ou os produtos destes genes possuem uma função desconhecida, ou a conexão existente entre as suas funções conhecidas e o desenvolvimento da doença atópica não é conhecida.

## Fatores Ambientais na Alergia

Está claro que as influências ambientais têm um impacto significativo sobre o desenvolvimento de alergias, e eles sinergizam com os fatores de risco genéticos. As influências ambientais incluem a exposição aos alérgenos em si, aos organismos infecciosos e, possivelmente, a outros fatores que afetam a função de barreira da mucosa, tais como a poluição do ar. Além disso, o tempo de vida quando ocorre exposição a esses fatores ambientais, especialmente a exposição no início da vida, parece ser importante.

***A exposição a microrganismos durante a infância pode reduzir o risco de desenvolvimento de alergias.*** Uma possível explicação para o aumento da prevalência de asma e de outras doenças atópicas em países industrializados é que a frequência de infecções nestes países é geralmente inferior. Uma variedade de dados epidemiológicos mostra que a exposição precoce das crianças aos microrganismos ambientais, tais como aqueles encontrados em fazendas, mas não em cidades, está associada à diminuição da prevalência de doenças alérgicas. Com base nesses dados foi proposta a **hipótese da higiene**, o que afirma que a exposição no início da vida às bactérias comensais do intestino e às infecções conduz a uma maturação regulada do sistema imunológico, e, talvez, ao desenvolvimento precoce de células T reguladoras. Como resultado, mais tarde na vida desses indivíduos existe uma menor probabilidade de se encontrar respostas T<sub>H</sub>2 para antígenos ambientais não infecciosos, e menos probabilidade de desenvolver doenças alérgicas.

***As infecções respiratórias virais e bacterianas são um fator para a predisposição ao desenvolvimento de asma ou exacerbação de uma asma preexistente.*** Por exemplo, estima-se que as infecções respiratórias virais precedem até 80% de ataques de asma em crianças. Como tais infecções estimulam as respostas T<sub>H</sub>2 e as respostas de mastócitos não é compreendido.

## Doenças alérgicas em humanos: patogênese e terapia

***A degranulação de mastócitos é um componente central de muitas doenças alérgicas, e as manifestações clínicas e patológicas das doenças dependem dos tecidos em que os mediadores de mastócitos têm efeitos bem como da cronicidade do processo inflamatório resultante.*** Os indivíduos atópicos podem ter uma ou mais manifestações da doença alérgica. As formas mais comuns dessas doenças são as rinites alérgicas (febre dos fenos), a asma brônquica, dermatite atópica (eczema) e as alergias alimentares. As características clínicas e patológicas das reações alérgicas variam de acordo com a localização anatômica da reação, por várias razões. O ponto de contato com o alérgeno pode determinar os órgãos ou tecidos envolvidos. Por exemplo, antígenos inalados causam rinite ou asma; antígenos ingeridos frequentemente causam vômitos e diarreia (mas também pode produzir sintomas de pele e respiratórios se são ingeridas doses maiores), e antígenos injetados causam efeitos sistêmicos sobre a circulação. A concentração dos mastócitos em vários órgãos-alvo tem influência na gravidade de respostas. Os mastócitos são particularmente abundantes na pele e na mucosa dos tratos respiratório e gastrointestinal e estes tecidos frequentemente sofrem mais lesões nas reações de hipersensibilidade imediata. O fenótipo dos mastócitos locais pode influenciar as características da reação de hipersensibilidade imediata. Por exemplo, os mastócitos do tecido conjuntivo produzem histamina abundante e são responsáveis pelas reações pápula e halo eritematoso na pele.

Na seção seguinte, discutiremos as principais características de doenças alérgicas que se manifestam em diferentes tecidos.

### A Anafilaxia Sistêmica

***A anafilaxia é uma reação de hipersensibilidade imediata sistêmica caracterizada por edema em muitos tecidos e uma diminuição da pressão sanguínea, secundária à vasodilatação.*** Esses efeitos geralmente resultam da presença sistêmica do antígeno introduzido por uma injeção, uma picada de inseto, ou absorção através de uma superfície epitelial, tais como a mucosa intestinal. O alérgeno ativa os mastócitos em vários tecidos, resultando na liberação de mediadores que ganham acesso aos leitos vasculares em todo o corpo. A diminuição do tônus vascular e extravasamento de plasma causado pelos mediadores dos mastócitos podem levar a uma diminuição significativa na pressão arterial ou ao choque, chamado choque anafilático, que é muitas vezes fatal. Os efeitos cardiovasculares são acompanhados pela constrição das vias aéreas superiores e inferiores, edema na laringe, hipermotilidade do intestino, extravasamento de muco do intestino e trato respiratório e lesões de urticária na pele. Não se sabe quais são os mediadores dos mastócitos mais importantes no choque anafilático. A base do tratamento é a epinefrina sistêmica, que pode salvar vidas invertendo os efeitos

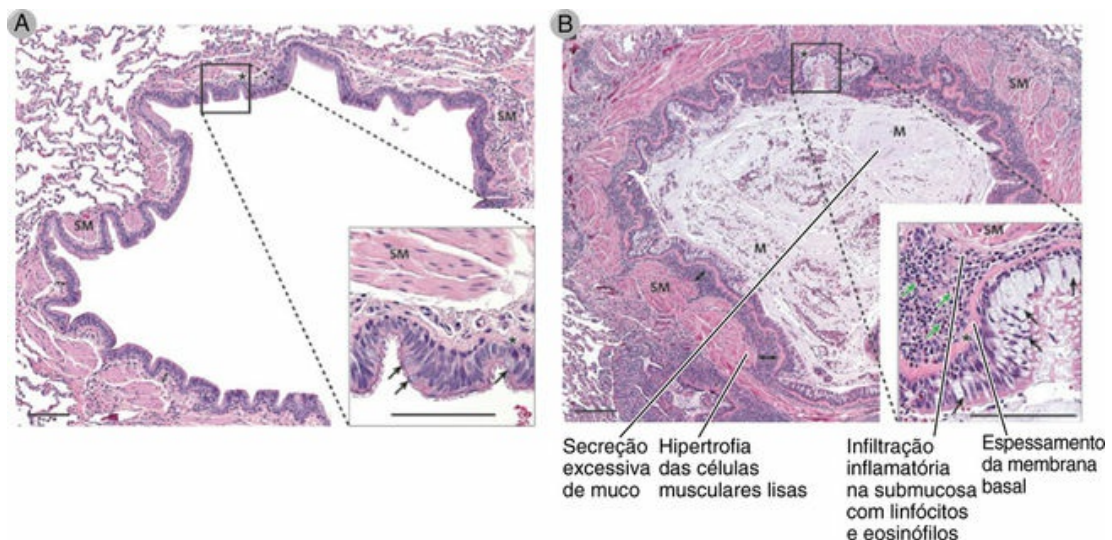
broncoconstritores e vasodilatadores dos mediadores de mastócitos. A epinefrina também melhora o débito cardíaco, ajudando ainda mais a sobrevivência de uma ameaça de colapso circulatório. Os anti-histamínicos podem também ser benéficos na anafilaxia, sugerindo um papel para a histamina nesta reação.

## A Asma Brônquica

***A asma é uma doença inflamatória causada por repetidas reações alérgicas de hipersensibilidade de fase imediata e de fase tardia no pulmão que conduzem à tríade clinicopatológica de obstrução intermitente e reversível das vias aéreas, inflamação crônica dos brônquios com eosinófilos, e a hipertrofia das células do músculo liso brônquico e a hiperreatividade aos broncoconstritores (Fig. 20-9).*** Os pacientes sofrem paroxismos de

broncoespasmo e aumento da produção de muco espesso, o que leva à obstrução brônquica e agrava as dificuldades respiratórias. A asma frequentemente coexiste com a doença pulmonar obstrutiva crônica, e a combinação dessas doenças pode causar severa obstrução do fluxo aéreo de maneira irreversível. Os indivíduos afetados podem sofrer considerável morbidade, e a asma pode ser fatal. A asma afeta cerca de 20 milhões de pessoas nos Estados Unidos, e a frequência da doença tem aumentado significativamente nos últimos anos. A taxa de prevalência é semelhante à de outros países industrializados, mas pode ser menor em áreas menos desenvolvidas do mundo.





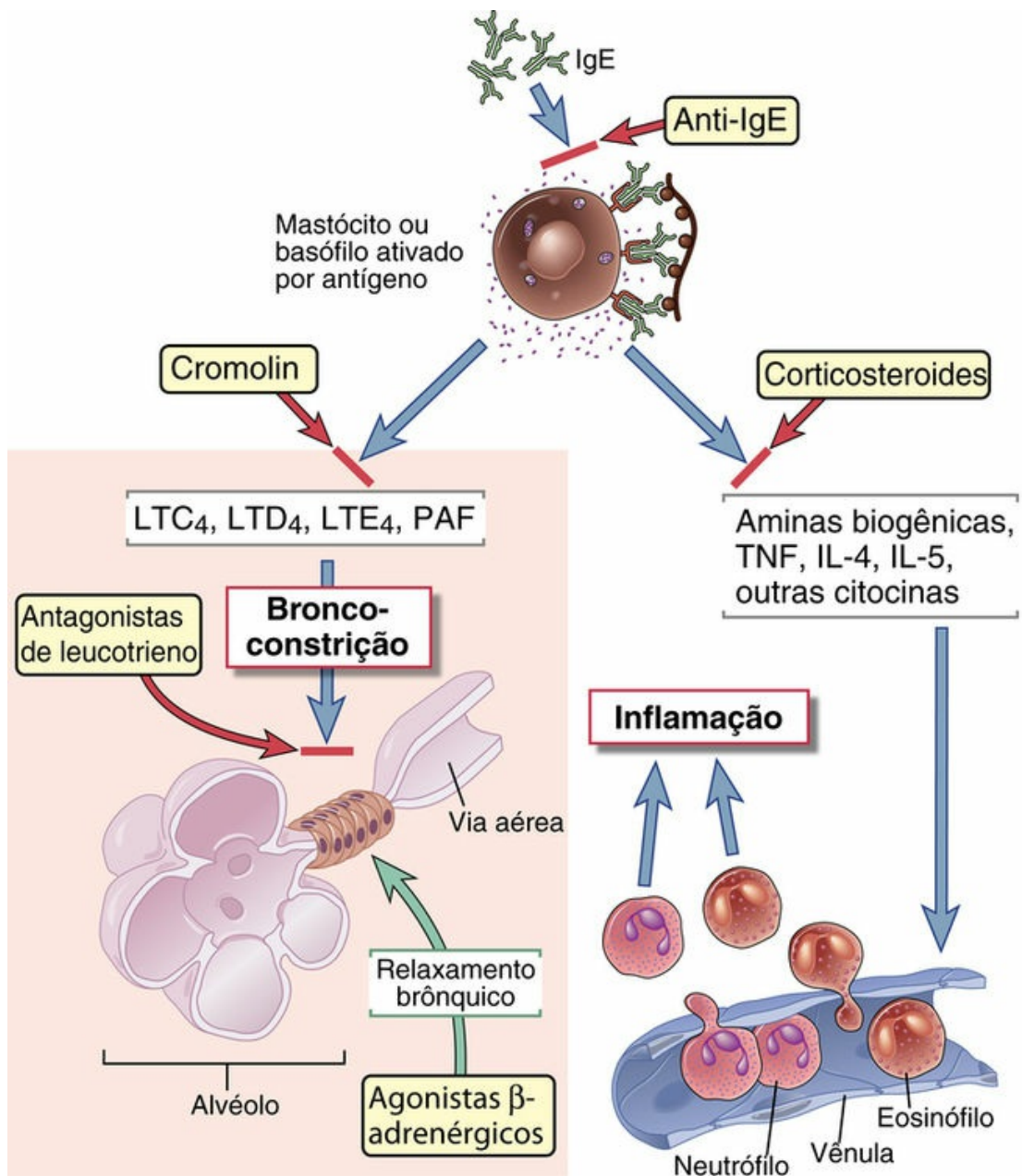
**FIGURA 20-9** Características histopatológicas da asma brônquica.

A asma brônquica atópica resulta das reações de hipersensibilidade imediata nos pulmões com reações crônicas de fase tardia. Uma secção transversal de um brônquio normal (A) e uma secção transversal de um brônquio de um paciente com asma (B) são mostrados. O brônquio doente possui uma produção excessiva de muco (M), muitas células inflamatórias na submucosa (incluindo eosinófilos), e hipertrofia do músculo liso (SM) e mais células caliciformes do que no brônquio normal (setas pretas em inserções). (De Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM: The development of allergic inflammation, *Nature* 454:445-454, 2008. Cortesia de GJ Berry, Stanford University, California.)

Cerca de 70% dos casos de asma estão associados às reações mediadas por IgE que refletem atopia. Nos 30% restantes dos pacientes, asma não pode ser relacionada a atopia e pode ser desencadeada por estímulos não imunes, tais como fármacos, o frio, e os exercícios físicos. Mesmo entre os asmáticos não atópicos, o processo fisiopatológico da constrição das vias aéreas é semelhante, o que sugere que os mecanismos alternativos de degranulação de mastócitos (p. ex., por neurotransmissores produzidos localmente) podem ser a base da doença.

A sequência fisiopatológica da asma atópica é provavelmente iniciada pela ativação de mastócitos em resposta à ligação do alérgeno a IgE, bem como por células  $T_H2$  que reagem aos alérgenos (Fig. 20-10). Os mediadores lipídicos e citocinas produzidos pelos mastócitos e células T conduzem ao recrutamento de eosinófilos, basófilos, e mais células  $T_H2$ . A inflamação crônica nesta doença pode continuar sem a ativação dos mastócitos. Há provas experimentais que outros subconjuntos de células T, incluindo células  $T_H1$  e  $T_H17$ , bem como as células T

secretoras de IL-9, contribuem para a patologia da doença estabelecida. A hipertrofia das células musculares lisas e a hiperreatividade são vistas como um resultado dos mediadores derivados de leucócitos e citocinas. Os mastócitos, basófilos e eosinófilos produzem mediadores que contraem o músculo liso das vias aéreas. O mais importante dos mediadores broncoconstritores são o LTC<sub>4</sub>, o LTD<sub>4</sub> e o LTE<sub>4</sub>. Em alguns estudos clínicos, os antagonistas da síntese de LTC<sub>4</sub> ou os antagonistas do receptor de leucotrienos reduzem a constrição das vias aéreas induzida pelo alérgeno. O aumento de muco resulta da secreção da ação de citocinas, principalmente a IL-13, sobre as células epiteliais dos brônquios.



**FIGURA 20-10** Mediadores e o tratamento da asma.

Leucotrienos e PF derivados de mastócitos são pensados como os principais mediadores da broncoconstrição aguda. A terapia tem como alvo tanto a redução da ativação dos mastócitos com inibidores tais como o Cromolin e ações neutralizantes dos mediadores nas células musculares lisas brônquicas por broncodilatadores, tais como  $\beta$ -adrenérgicos inalados e agonistas do receptor. Esses fármacos também inibem a ativação dos mastócitos. As citocinas derivadas dos mastócitos são pensadas como as principais mediadoras da inflamação prolongada das vias aéreas, que é um exemplo de uma reação de fase tardia, e o tratamento com corticosteroides é usado para inibir a síntese de citocinas. As citocinas são igualmente produzidas por células T auxiliares (não mostrado).

A terapia atual para a asma tem duas metas principais: a prevenção e reversão da inflamação das vias respiratórias e o relaxamento do músculo liso (Fig. 20-10). Nos últimos anos, o equilíbrio da terapia mudou para o uso dos agentes anti-inflamatórios como o principal modo de tratamento. Várias classes de medicamentos estão atualmente em uso para o tratamento da asma. Os corticosteroides inalados bloqueiam a produção das citocinas inflamatórias. Os corticosteroides também podem ser dados sistemicamente, especialmente uma vez que um ataque está em curso, para reduzir a inflamação. O relaxamento das células do músculo liso brônquico é conseguido principalmente através de fármacos que elevam os níveis intracelulares do monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) nas células do músculo liso, o que inibe a contração. Os principais medicamentos utilizados são os ativadores da adenilato ciclase, que funcionam através da ligação a receptores  $\beta$ 2-adrenérgicos. A teofilina oral, que inibe as enzimas fosfodiesterases que degradam o AMPC, já foi amplamente usada, mas é menos utilizada agora porque ela é menos eficaz e mais tóxica do que os agonistas  $\beta$ 2 inalados. Os inibidores de leucotrienos bloqueiam a ligação de leucotrienos broncoconstritores para as células musculares lisas nas vias respiratórias. O anticorpo monoclonal humanizado anti-IgE é uma terapia aprovada que reduz eficazmente os níveis da IgE sérica em pacientes. Como a histamina tem um papel pequeno na constrição das vias aéreas, os anti-histamínicos (antagonistas do receptor  $H_1$ ) não são úteis no tratamento da asma. Na verdade, pelo fato de muitos anti-histamínicos serem também anticolinérgicos, esses fármacos podem piorar a obstrução das vias aéreas, provocando um espessamento das secreções de muco.

## Reações de Hipersensibilidade Imediata no Trato Respiratório Superior, Trato Gastrointestinal e Pele

A **rinite alérgica**, também chamada de febre do feno, é talvez a doença alérgica mais comum e é uma consequência das reações de hipersensibilidade imediata aos alérgenos comuns, tais como pólen de plantas ou de ácaros da poeira doméstica localizados no trato respiratório superior por inalação. As manifestações patológicas e clínicas incluem edema da mucosa, infiltração de leucócitos com eosinófilos, secreção de muco, tosse, espirros e dificuldade para respirar. A conjuntivite alérgica com coceira nos olhos é comumente associada à rinite. As saliências focais da mucosa nasal, chamados de pólipos nasais, cheias de líquido de edema e eosinófilos podem se desenvolver em pacientes que sofrem frequentes ataques repetitivos de rinite alérgica. Os anti-histamínicos são os medicamentos mais comuns utilizados para o tratamento da rinite alérgica.

As **alergias alimentares** são reações de hipersensibilidade imediata aos alimentos ingeridos que levam à liberação dos mediadores a partir da mucosa e submucosa intestinal dos mastócitos do trato gastrointestinal, incluindo a orofaringe. As manifestações clínicas resultantes incluem prurido, edema do tecido, peristaltismo reforçado, aumento da secreção de fluido epitelial, e sintomas associados ao inchaço da orofaringe, vômitos e diarreia. A rinite, a urticária e o broncoespasmo leve também são frequentemente associados a reações alérgicas a alimentos, sugerindo a circulação sistêmica do antígeno e uma anafilaxia sistêmica pode ocorrer ocasionalmente. As reações alérgicas a muitos tipos diferentes de alimentos têm sido descritas, mas alguns dos mais comuns são amendoins, crustáceos e moluscos. Os indivíduos podem ser suficientemente sensíveis a esses alérgenos de maneira que as reações sistêmicas graves podem ocorrer em resposta a até mesmo pequenas ingestões acidentais.

As reações alérgicas comuns na pele incluem a **urticária** e a **dermatite atópica**. A erupção cutânea ou urticária é uma reação aguda de pápula e halo induzida pelos mediadores de mastócitos e ocorre em resposta ao contato direto local com um alérgeno ou após a entrada do alérgeno na circulação. Uma vez que a reação que se segue é, em grande parte mediada pela histamina, os anti-histamínicos (antagonistas do receptor  $H_1$ ) podem atenuar esta resposta e são o pilar da terapia. A urticária pode persistir por várias horas ou dias. A dermatite atópica (também comumente chamada de eczema) faz parte da tríade atópica (dermatite atópica, rinite alérgica e asma), mas também pode ocorrer em isolamento. É um distúrbio comum da pele que pode ser causada por uma reação de fase tardia de um alérgeno na pele. Na reação de fase tardia cutânea, o TNF, a IL-4 e outras citocinas, provavelmente derivadas de células  $T_H2$  e mastócitos, agem sobre as células endoteliais para promover a inflamação. Tal como pode ser esperado para uma resposta mediada por citocinas, o atraso da reação de fase inflamatória não é inibido pelos anti-histamínicos. Ela pode ser bloqueada pelo tratamento com os corticosteroides, que inibem a síntese de citocinas. As crianças com alteração genética no funcionamento da barreira da pele, devido a mutações no gene que

codifica a filagrina, são altamente suscetíveis à dermatite atópica e essas crianças muitas vezes podem vir a desenvolver asma.

## A Imunoterapia para as Doenças Alérgicas

Além da terapia que tem como objetivo as consequências da hipersensibilidade imediata mencionada anteriormente, os imunologistas clínicos muitas vezes tentam limitar o aparecimento de reações alérgicas através de tratamentos que visam alterar a resposta imunológica específica para o alérgeno do paciente. Uma série de protocolos de imunoterapias empíricas foram desenvolvidos para induzir alterações múltiplas associadas à eficácia. Em uma abordagem chamada de **dessensibilização**, pequenas quantidades de antígeno são administradas repetidamente por via subcutânea. Como um resultado deste tratamento, os níveis de IgE específicas diminuem e os títulos de IgG geralmente aumentam, talvez inibindo a produção de IgE através da neutralização do antígeno e pelo *feedback* de anticorpos (Cap. 12). É possível que a dessensibilização possa funcionar induzindo a tolerância de células T específicas ou alterando predominante o fenótipo de células T específicas de antígenos a partir de T<sub>H</sub>2 para T<sub>H</sub>1; no entanto, não há nenhuma evidência clara para apoiar nenhuma dessas hipóteses. Os efeitos benéficos da dessensibilização podem ocorrer numa questão de horas, muito mais cedo do que a alterações dos níveis de IgE. O mecanismo exato não é conhecido, mas esta abordagem tem sido eficaz na prevenção de respostas anafiláticas agudas aos antígenos de proteínas (p. ex., venenos de inseto) ou fármacos vitais (p. ex., penicilina). Embora muitas pessoas com condições atópicas crônicas mais comuns, como a febre do feno e a asma se beneficiem da terapia de dessensibilização, a eficácia global para as doenças alérgicas é mais variável.

Outras abordagens a serem utilizadas para alterar a resposta do sistema imunológico ao alérgeno incluem a administração sistêmica dos anticorpos monoclonais humanizados anti-IgE, mencionados anteriormente, e um anticorpo para a subunidade compartilhada dos receptores de IL-4 e IL-13, que tem demonstrado eficácia em ensaios clínicos em um subgrupo de pacientes com asma e dermatite atópica. Os anticorpos contra IL-4 e IL-5 também estão em ensaios clínicos.

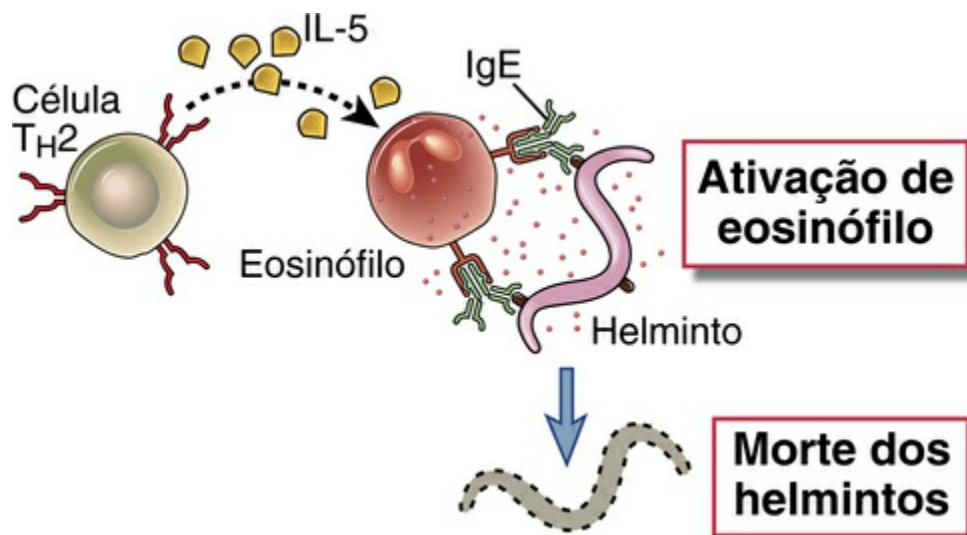
## O papel protetor das reações imunes mediadas por IgE e mastócitos

Embora a maior parte da nossa compreensão das reações mediadas por IgE e por mastócitos venham de análises da hipersensibilidade imediata, é lógico supor que essas respostas evoluíram porque eles fornecem funções protetoras. Esta hipótese é apoiada pela correlação entre certos tipos de infecções com níveis elevados de IgE e eosinofilia. Estudos em camundongos deficientes em IgE, citocinas T<sub>H</sub>2, ou

mastócitos mostrou evidências de que as respostas mediadas por IgE e mastócitos são importantes para a defesa contra certos tipos de infecção.

**Uma função importante de proteção das reações imunológicas iniciadas por IgE é a erradicação de parasitas helmintos.** A morte de helmintos mediada pelos eosinófilos é uma defesa eficaz contra esses organismos (Fig. 20-11 e Cap. 10). As atividades de IL-4 e IL-13 na produção de IgE e de IL-5 a ativação dos eosinófilos contribuem para uma defesa coordenada contra helmintos. Além disso, a ativação de mastócitos dependente de IgE no trato gastrointestinal promove a expulsão de parasitas, aumentando o peristaltismo e o derramamento de muco. Estudos em camundongos revelaram as funções benéficas das IgE e dos mastócitos. Por exemplo, os camundongos tratados com o anticorpo anti-IL-4 e os camundongos *knockout* para a IL-4 não produzem IgE e parecem ser mais suscetíveis do que os animais normais para algumas infecções por helmintos. Os camundongos *knockouts* para a IL-5, que são incapazes de ativar os eosinófilos, também demonstram aumento da susceptibilidade a alguns helmintos. Além disso, os camundongos geneticamente deficientes em mastócitos demonstram aumento da susceptibilidade às infecções por larvas de carrapato, e a imunidade pode ser providenciada a esses camundongos através da transferência adotiva de IgE e mastócitos específicos (mas não por nenhum dos componentes sozinhos). As larvas são erradicadas pela reação de fase tardia.





**FIGURA 20-11** A ativação dos eosinófilos para matar helmintos.

A IL-5 secretada pelas células  $T_H2$  aumenta a capacidade dos eosinófilos para matar os helmintos. A ligação cruzada do  $Fc\epsilon R1$  em eosinófilos por IgE ligadas a antígenos de helmintos pode também induzir a degranulação de eosinófilos, libertando enzimas tóxicas para os parasitas.

***Os mastócitos desempenham um papel protetor importante como parte da resposta imune inata a infecções bacterianas e venenos.*** Os estudos em camundongos indicaram que os mastócitos podem ser ativados por mecanismos independentes de IgE no decurso de uma infecção bacteriana aguda e que os mediadores que eles liberam são fundamentais para remover a infecção. Os mastócitos camundongos deficientes são menos capazes de fazer a remoção e são mais propensos a morrer de infecção bacteriana aguda do peritônio do que os camundongos normais. O papel protetor dos mastócitos neste cenário é mediado por TNF e depende do influxo de neutrófilos estimulado por TNF para o peritônio, especificamente, a reação de fase tardia. Os mecanismos pelos quais os mastócitos são ativados durante a resposta imune inata contra infecções bacterianas não são conhecidos, mas podem envolver a ativação do complemento pela via alternativa, levando à liberação de C5a, que dispara diretamente a degranulação dos mastócitos. Também é possível que a via clássica do complemento possa ser ativada por anticorpos naturais que são produzidos por células B-1 e que reconhecem os patógenos microbianos comuns. Os produtos bacterianos também podem ativar os mastócitos através da ligação aos receptores do tipo Toll expressos pelos mastócitos.

As proteases derivadas dos mastócitos têm demonstrado a destruição de alguns venenos de serpentes e insetos em camundongos e as IgE específicas para o veneno conferem proteção contra envenenamento. Esta é uma forma incomum de imunidade inata contra um encontro potencialmente letal com organismos não

microbianos.

## Resumo

A hipersensibilidade imediata é uma reação imunológica desencadeada pela ligação do antígeno a IgE dos mastócitos pré-ligados, o que leva à liberação de mediadores inflamatórios.

Os passos no desenvolvimento da hipersensibilidade imediata são a exposição a um antígeno (alérgeno) que estimula as respostas  $T_H2$  e a produção de IgE, a ligação das IgE aos receptores  $Fc\epsilon$  nos mastócitos, a ligação cruzada da IgE aos receptores  $Fc\epsilon$  pelo alérgeno, ativação de mastócitos e liberação de mediadores.

Os indivíduos suscetíveis às reações de hipersensibilidade imediata são chamados atópicos e frequentemente possuem mais IgE no sangue e mais receptores  $Fc\epsilon$  específicos para IgE por mastócitos do que indivíduos não atópicos. A síntese de IgE é induzida pela exposição ao antígeno e pela IL-4 secretada pelas células  $T_H2$ .

Os mastócitos são derivados de precursores da medula óssea que amadurecem nos tecidos. Eles expressam receptores de alta afinidade para IgE ( $Fc\epsilon RI$ ) e possuem grânulos citoplasmáticos em que vários mediadores inflamatórios são armazenados. Os subconjuntos de mastócitos, incluindo os mastócitos de mucosa do tecido conjuntivo, podem produzir diferentes mediadores. Os basófilos são um tipo de granulócitos circulantes que expressam receptores  $Fc\epsilon$  de alta afinidade e contêm grânulos com conteúdo semelhante ao dos mastócitos.

Os eosinófilos são uma classe especial de granulócitos; eles são recrutados para as reações inflamatórias pelas quimiocinas e pela IL-4 e são ativadas pela IL-5. Os eosinófilos são células efetoras que são envolvidos em matar os parasitas. Nas reações alérgicas, os eosinófilos contribuem para a lesão do tecido.

Na ligação do antígeno à IgE na superfície dos mastócitos ou basófilos, os receptores  $Fc\epsilon$  efetuam ligações cruzadas e ativam segundos mensageiros intracelulares que levam à liberação de grânulos e à nova síntese de mediadores. Os mastócitos e basófilos ativados produzem três importantes classes de mediadores: aminas biogênicas, como a histamina; os mediadores lipídicos, tais como prostaglandinas, os leucotrienos e PAF; e as citocinas, tais como TNF, IL-4, IL-13 e IL-5.

As aminas biogênicas e os mediadores lipídicos provocam as reações vasculares rápidas e as reações de músculo liso de hipersensibilidade imediata, tais como a vasodilatação, o derrame vascular e edema, broncoconstrição, e hipermotilidade intestinal. As citocinas liberadas pelos mastócitos e as células  $T_H2$  medeiam a reação de fase tardia, que é uma reação inflamatória envolvendo os neutrófilos e a infiltração de eosinófilos.

A susceptibilidade de doenças alérgicas é herdada, e as variações alélicas de vários genes foram associados à asma alérgica. A susceptibilidade genética interage com

os fatores ambientais que resultam em atopia.

Vários órgãos mostram formas distintas de hipersensibilidade imediata envolvendo diferentes mediadores e tipos de células-alvo. A forma mais grave é a reação sistêmica chamada de choque anafilático. A asma é uma manifestação de hipersensibilidade imediata e de reações de fase tardia no pulmão. A rinite alérgica (febre do feno) é a doença alérgica mais comum do trato respiratório superior. Os alérgenos alimentares podem causar diarreia e vômitos. Na pele, a hipersensibilidade imediata manifesta-se na forma de pápula e halo eritematoso e reações de fase tardia e podem levar ao eczema crônico.

A terapia medicamentosa tem como objetivo inibir a produção de mediadores pelos mastócitos e bloquear ou neutralizar os efeitos de mediadores liberados nos órgãos-alvo. O objetivo da imunoterapia é prevenir ou reduzir as respostas das células T<sub>H</sub>2 para os alérgenos e específicos à produção de IgE.

As reações de hipersensibilidade imediata fornecem proteção contra as infecções por helmintos, promovendo a citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos mediada por IgE e eosinófilos e o peristaltismo intestinal. Os mastócitos também podem desempenhar um papel nas respostas imunológicas inatas contra infecções bacterianas.

## Leituras selecionadas

### Células IgE e T<sub>H</sub>2

Wu, L. C., Zarrin, A. A. The production and regulation of IgE by the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2014.

### Mastócitos e Eosinófilos

Abraham, S. N., St John, A. L. Mast cell–orchestrated immunity to pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:440–452.

Galli, S. J., Tsai, M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nature Medicine*. 2012; 18:693–704.

Gilfillan, A. M., Tkaczyk, C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nature Reviews Immunology*. 2006; 6:218–230.

Gurish, M. F., Austen, K. F. Developmental origin and functional specialization of mast cell subsets. *Immunity*. 2012; 37:25–33.

Kalesnikoff, J., Galli, S. J. New developments in mast cell biology. *Nature Immunology*. 2008; 9:1215–1223.

Rivera, J., Fierro, N. A., Olivera, A., Suzuki, R. New insights on mast cell activation via the high affinity receptor for IgE. *Advances in Immunology*. 2008; 98:85–120.

Rothenberg, M. E., Hogan, S. P. The eosinophil. *Annual Review of Immunology*. 2006;

24:147–174.

Stone, K. D., Prussin, C., Metcalfe, D. D. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; 125:S73–S80.

### **Doenças Alérgicas**

Bossé, Y. Genome-wide expression quantitative trait loci analysis in asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 3:443–452.

Bufford, J. D., Gern, J. E. The hygiene hypothesis revisited. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2005; 25:247–262. [v-vi].

Galli, S. J., Tsai, M., Piliponsky, A. M. The development of allergic inflammation. *Nature*. 2008; 454:445–454.

Gould, H. J., Sutton, B. J. IgE in allergy and asthma today. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:205–217.

Holgate, S. T. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nature Medicine*. 2012; 18:673–683.

Holloway, J. W., Yang, I. A., Holgate, S. T. Genetics of allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; 125:S81–S94.

Kauffmann, F., Demenais, F. Gene-environment interactions in asthma and allergic diseases: challenges and perspectives. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012; 130:1229–1240.

Kim, H. Y., DeKruyff, R. H., Umetsu, D. T. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nature Immunology*. 2010; 11:577–584.

Lambrecht, B. N., Hammad, H. Biology of lung dendritic cells at the origin of asthma. *Immunity*. 2009; 31:412–424.

Licona-Limon, P., Kim, L. K., Flavell, R. A. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nature Immunology*. 2013; 14:536–542.

## CAPÍTULO 21

# Imunodeficiências Congênitas e Adquiridas

### VISÃO GERAL DAS DOENÇAS POR IMUNODEFICIÊNCIAS

#### IMUNODEFICIÊNCIAS CONGÊNITAS (PRIMÁRIAS)

Defeitos na Imunidade Inata

Imunodeficiências Combinadas Graves

Deficiências de Anticorpos: Defeitos no Desenvolvimento e Ativação das Células B

Defeitos na Ativação e Função do Linfócito T

Desordens Multissistêmicas com Imunodeficiência

Abordagens Terapêuticas para Imunodeficiências Congênitas

#### IMUNODEFICIÊNCIAS ADQUIRIDAS (SECUNDÁRIAS)

#### VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E A SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Características Moleculares e Biológicas do HIV

Patogênese da Infecção pelo HIV e AIDS

Características Clínicas da Doença Causada pelo HIV

Resposta Imune ao HIV

Mecanismos de Evasão Imune do HIV

Controladores de Elite e Não Progressores de Longo Prazo: Uma Possível Função para os Genes do Hospedeiro

Tratamento e Prevenção da AIDS e Desenvolvimento da Vacina

#### RESUMO

A integridade do sistema imune é essencial para a defesa contra organismos infecciosos e seus produtos tóxicos e, portanto, para a sobrevivência de todos os indivíduos. Defeitos em um ou mais componentes do sistema imune podem desencadear distúrbios graves e muitas vezes fatais, que são chamados conjuntamente de **imunodeficiências**. Estas doenças são amplamente classificadas em dois grupos. As **imunodeficiências congênitas** ou **primárias** são defeitos

genéticos que resultam no aumento da susceptibilidade à infecção, que frequentemente se manifesta na infância e início da adolescência, mas às vezes é clinicamente detectada mais tarde na vida. Estima-se que nos Estados Unidos, cerca de 1 em cada 500 indivíduos nasce com um defeito em algum componente do sistema imune, embora apenas uma pequena proporção seja afetada de forma grave o suficiente para desenvolver complicações com risco de vida. As **imunodeficiências adquiridas**, ou **secundárias**, não são doenças hereditárias, mas ocorrem como consequência de desnutrição, câncer disseminado, tratamento com fármacos imunossupressores ou infecção das células do sistema imune, especialmente pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Este capítulo descreve os principais tipos de imunodeficiências congênitas e adquiridas, com ênfase na sua patogênese e nos componentes do sistema imune envolvidos nestes distúrbios.

## Visão geral das doenças por imunodeficiências

Antes de iniciar a discussão sobre as doenças individualmente, é importante resumir algumas características gerais das imunodeficiências.

- **A principal consequência da imunodeficiência é o aumento da susceptibilidade à infecção.** A natureza da infecção em um determinado paciente depende em grande parte do componente do sistema imune que está defeituoso ([Tabela 21-1](#)). A imunidade humoral defeituosa normalmente desencadeia o aumento da susceptibilidade à infecção por bactérias encapsuladas, formadoras de pus e alguns vírus, enquanto os defeitos na imunidade mediada por célula levam à infecção por vírus e outros microrganismos intracelulares. As deficiências combinadas, tanto da imunidade humoral como da mediada por células, tornam os pacientes susceptíveis à infecção por todas as classes de microrganismos. Pacientes imunodeficientes, especialmente aqueles com defeitos na imunidade celular, geralmente apresentam infecções por microrganismos comumente encontradas, mas que são eficientemente eliminadas nas pessoas saudáveis; tais infecções são chamadas de oportunistas. Defeitos na imunidade inata podem resultar em diferentes categorias de infecções microbianas, dependendo da via ou do tipo de células afetadas. Por exemplo, as deficiências do complemento e as deficiências de anticorpos assemelham-se na sua apresentação clínica, enquanto as deficiências das células *natural killer* (NK) resultam principalmente em infecções virais recorrentes. Há evidências crescentes de que adultos com infecções recorrentes ou graves, muitas vezes, apresentam mutações em genes que regulam a função imunológica. A disponibilidade de novas abordagens de sequenciamento de DNA rápido e eficiente tem melhorado exponencialmente a capacidade de identificar o locus genético específico que, quando mutado, confere susceptibilidade aos patógenos.



## Tabela 21-1

### Características das Imunodeficiências que Afetam os Linfócitos T e B

Característica	Deficiência de Célula B	Deficiência de Célula T
Suscetibilidade a infecções	Bactérias piogênicas (otite, pneumonia, meningite, osteomielite), bactérias e vírus entéricos, alguns parasitas	<i>Pneumocystis jiroveci</i> , muitos vírus, micobactérias atípicas e fungos
Diagnóstico		
Níveis séricos de Ig	Reduzido	Normal ou reduzido
Reações DTH a antígenos comuns	Normal	Reduzido
Morfologia de tecidos linfóides	Foliculos e centros germinativos (zonas de células B) ausentes ou reduzidos	Normalmente os foliculos estão normais, pode haver redução em regiões corticais parafooliculares (zonas de células T)

DTH, Hipersensibilidade retardada.

- **Pacientes com imunodeficiências também são suscetíveis a certos tipos de câncer.** Muitos destes cânceres parecem ser causados por vírus oncogênicos, como o vírus Epstein-Barr e o papilomavírus humano. Um aumento da incidência de câncer é, mais frequentemente observado nas imunodeficiências de células T, porque, como discutido no [Capítulo 18](#), as células T desempenham uma função importante na vigilância contra tumores malignos.
- **Paradoxalmente, algumas imunodeficiências estão associadas a maior incidência de autoimunidade.** Os mecanismos subjacentes desta associação ainda não são totalmente compreendidos.
- **A imunodeficiência pode ser resultado de defeitos do desenvolvimento ou da ativação dos linfócitos ou de defeitos nos mecanismos efetores da imunidade inata e adaptativa.** As imunodeficiências são clínica e patologicamente heterogêneas, em parte porque diferentes doenças envolvem diferentes componentes do sistema imune.

Neste capítulo, descreveremos, em primeiro lugar, as imunodeficiências congênitas, incluindo defeitos em componentes do sistema imune inato e defeitos humorais e mediados por células do sistema imune adaptativo. Concluiremos com uma discussão sobre imunodeficiências adquiridas, com ênfase na AIDS.

## Imunodeficiências congênitas (primárias)

**Em diferentes imunodeficiências congênitas, a anormalidade etiológica pode estar em componentes do sistema inato, em diferentes estágios de desenvolvimento dos linfócitos ou nas respostas dos linfócitos maduros aos estímulos antigênicos.** As anormalidades herdadas relacionadas à imunidade inata mais comumente envolvem a via do complemento ou os fagócitos. Anormalidades no desenvolvimento dos linfócitos podem ser causadas por mutações em genes que codificam enzimas, proteínas de transporte, adaptadores e fatores de transcrição. Estes defeitos hereditários e as anomalias correspondentes específicas em camundongos foram úteis na elucidação de mecanismos de desenvolvimento dos

linfócitos e sua função (Cap. 8). Anormalidades no desenvolvimento e na função dos linfócitos B resultam na produção de anticorpos deficiente e são diagnosticadas pelos níveis reduzidos de imunoglobulina (Ig) sérica, respostas defeituosas dos anticorpos à vacinação e, em alguns casos, números reduzidos de células B circulantes ou tecidos linfoides ou ausência de plasmócitos nos tecidos (Tabela 21-1).

Anormalidades na maturação e na função dos linfócitos T levam à imunidade mediada por células deficiente e também podem resultar na redução da produção de anticorpos dependentes de células T. Imunodeficiências das células T primárias são diagnosticadas através da redução do número de células T no sangue periférico, baixa resposta proliferativa de linfócitos sanguíneos a ativadores de células T policlonais, como fito-hemaglutinina, e reações de hipersensibilidade cutânea retardada (DTH) deficientes a antígenos microbianos ubíquos, como antígenos de *Candida*. Defeitos tanto na imunidade humoral como na imunidade mediada por células são classificadas como imunodeficiências combinadas graves. Nas seções seguintes descreveremos as imunodeficiências causadas por mutações hereditárias nos genes que codificam componentes do sistema imune inato ou em genes necessários para o desenvolvimento e ativação de linfócitos. Concluiremos com uma breve discussão sobre estratégias terapêuticas para estas doenças.

## Defeitos na Imunidade Inata

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa contra organismos infecciosos. Dois importantes componentes da imunidade inata são os fagócitos e o complemento, os quais também participam nas fases efetoras da imunidade adaptativa. Portanto, distúrbios congênitos dos fagócitos e do sistema complemento resultam em infecções recorrentes. As deficiências do complemento foram descritas no Capítulo 13. As deficiências descritas estão relacionadas à via clássica e alternativa do complemento, bem como da via da lectina.

Nesta seção do capítulo, discutiremos alguns exemplos de distúrbios congênitos dos fagócitos (Tabela 21-2) e defeitos hereditários nas vias do receptor do tipo Toll (TLR, do inglês *Toll like receptor*) e na via IL-12/IFN- $\gamma$ . Os defeitos dos fagócitos geralmente resultam em infecções da pele e das vias respiratórias por bactérias ou fungos, que envolvem predominantemente espécies de *Aspergillus* e *Candida*. Abscessos profundos e estomatite oral também são comuns. Os defeitos de sinalização de TLR e na sinalização de interferon tipo I podem contribuir para infecções piogênicas recorrentes, bem como para infecções virais graves; defeitos na via de IL-12 e do IFN- $\gamma$  aumentam a susceptibilidade a patógenos intracelulares, particularmente infecções por micobactérias.

## Tabela 21-2

### Distúrbios Congênitos da Imunidade Inata

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos do Defeito
Doença granulomatosa crônica	Produção defeituosa de espécies reativas de oxigênio pelos fagócitos; infecções intracelulares bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutação nos genes do complexo oxidase dos fagócitos; <i>phox-91</i> (citocromo <i>b558</i> subunidade $\alpha$ ) está mutado na forma ligada ao X
Deficiência da adesão leucocitária tipo 1	Adesão leucocitária defeituosa para células endoteliais e migração tecidual ligada à expressão diminuída ou ausente de integrinas $\beta_2$ ; infecções bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutações no gene que codifica a cadeia $\beta$ (CD18) da integrina $\beta_2$
Deficiência da adesão leucocitária tipo 2	Defeito de rolamento e migração de leucócitos nos tecidos ligados a expressão diminuída ou ausente de ligantes de leucócitos para selectinas P e E endotelial, causando falha na migração dos leucócitos para os tecidos; infecções bacterianas e fúngicas recorrentes	Mutações no gene que codifica o transportador 1 GDP-fucose, necessário para o transporte de fucose no Golgi e sua incorporação à sialil Lewis X
Deficiência da adesão leucocitária tipo 3	Adesão e migração leucocitária defeituosas nos tecidos ligados à sinalização externa estimulada por quimiocinas e ativação defeituosa de integrinas	Mutações no gene que codifica KINDLIN-3, uma proteína citoesquelética ligada à sinalização exterior
Síndrome Chédiak-Higashi	Defeitos na fusão das vesículas e da função lisossômica em neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células NK, células T citotóxicas, e muitos outros tipos celulares; infecções recorrentes por bactérias piogênicas	Mutações em <i>LYST</i> que levam a defeitos na exocitose dos grânulos de secreção e função lisossômica
Deficiências de células NK	Células NK reduzidas ou ausentes	Mutações no gene que codifica o fator de transcrição de GATA-2 e no gene que codifica a DNA helicase MCM-4
Defeitos na sinalização do receptor do tipo Toll	Infecções recorrentes causadas por defeitos na sinalização de TLR e CD40 e produção defeituosa de interferon tipo 1	Mutações em <i>TLR3</i> , <i>TRIF</i> , <i>TBK1</i> , <i>NEMO</i> , <i>UNC93B</i> , <i>MyD88</i> , <i>I<math>\kappa</math>B<math>\alpha</math></i> e em <i>IRAK-4</i> comprometem a ativação de $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dos receptores Toll- <i>I<math>\kappa</math>e</i>
Susceptibilidade Mendeliana às Doenças Micobacterianas	Doença grave causada por micobactéria não tuberculosa e BCG	Mutações em <i>IL-12p40</i> , <i>IL-12RB</i> , <i>IFNGR1</i> , <i>IFNGR2</i> , <i>STAT1</i> , <i>NEMO</i> e <i>ISG15</i>

BCG, bacilo Calmette-Guérin; *IRAK-4*, quinase 4 associada ao receptor IL-1; *LYST*, proteína de tráfico lisossômico; *NEMO*, modulador essencial  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ .

### Atividades Microbicidas Defeituosas dos Fagócitos: Doença Granulomatosa Crônica

**A doença granulomatosa crônica (DGC) é causada por mutações em componentes do complexo enzimático da oxidase dos fagócitos (*phox*).** É uma doença rara e estima-se que afete cerca de 1 em um milhão de pessoas nos Estados Unidos. Cerca de dois terços dos casos exibem um padrão de herança recessivo ligado ao X e o restante exibe um padrão autossômico recessivo. Na forma

mais comum da doença, ligada ao X, há uma mutação no gene que codifica a subunidade  $\alpha$  91-kD do citocromo *b558*, uma proteína integral de membrana, também conhecida como phox-91. Esta mutação resulta na produção defeituosa do ânion superóxido, uma das várias espécies reativas do oxigênio que constituem um importante mecanismo microbicida dos fagócitos, principalmente nos neutrófilos (Cap. 4). As mutações em outros componentes do complexo phox contribuem para as variantes autossômicas recessivas da DGC. A produção defeituosa de espécies reativas do oxigênio resulta em falha na destruição dos microrganismos fagocitados.

A DGC é caracterizada por infecções recorrentes por fungos e bactérias intracelulares, como *Staphylococcus*, geralmente a partir da primeira infância. A infecção invasiva pelo fungo *Aspergillus* é a principal causa de morte. Muitos dos organismos que são particularmente problemáticos para os pacientes com DGC são produtores de catalase, que destrói o peróxido de hidrogênio microbicida que pode ser produzido pelas células hospedeiras a partir do superóxido de radicais reativos do oxigênio residuais. Como as infecções não são controladas pelos fagócitos, há estímulo da resposta imune mediada por células crônicas, o que resulta na ativação de macrófagos mediados por células T e a formação de granulomas compostos por macrófagos ativados. Assim, estes macrófagos ativados tentam eliminar os microrganismos, apesar da produção deficiente de espécies reativas de oxigênio. Esta é a base do aspecto histológico que dá nome à desordem. A doença é frequentemente fatal, mesmo com tratamento antibiótico agressivo.

A citocina interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) aumenta a transcrição do gene que codifica phox-91 e também estimula outros componentes do complexo enzimático da oxidase dos fagócitos. Assim, o IFN- $\gamma$  estimula a produção de superóxido por neutrófilos na DGC, especialmente nos casos em que a porção codificadora do gene phox-91 está intacta, mas a sua transcrição está reduzida. Uma vez que a produção de superóxido dos neutrófilos é restabelecida para cerca de 10% dos níveis normais, a resistência à infecção torna-se melhor. Atualmente, o tratamento com IFN- $\gamma$  é utilizado para o tratamento da DGC ligada ao X.

## **Deficiências de Adesão dos Leucócitos**

***As deficiências de adesão de leucócitos compõem um grupo de distúrbios autossômicos recessivos causados por defeitos nas moléculas de adesão dos leucócitos e endotélio.*** Estas doenças são caracterizadas por uma falha no recrutamento dos leucócitos, principalmente nos neutrófilos, para os locais de infecção, resultando em periodontite grave e outras infecções recorrentes cedo na vida, bem como incapacidade de formar pus. Diferentes tipos de deficiências de adesão dos leucócitos são causados por mutações em genes diferentes.

- ***Deficiência de adesão de leucócitos tipo 1 (LAD-1)*** é uma doença autossômica recessiva rara, caracterizada por infecções bacterianas e fúngicas recorrentes e comprometimento na cicatrização de feridas. Nestes pacientes, a maioria das

funções dependentes da adesão dos leucócitos está defeituosa, incluindo a adesão ao endotélio, a agregação de neutrófilos e quimiotaxia, fagocitose e citotoxicidade mediada por neutrófilos, células NK e linfócitos T. A base molecular do defeito é a expressão reduzida ou ausente das integrinas  $\beta_2$  (heterodímeros de CD18 e da família CD11 de glicoproteínas), devido a várias mutações no gene CD18. As integrinas  $\beta_2$  incluem o antígeno 1 associado à função dos leucócitos (LFA-1 ou CD11aCD18), Mac-1 (CD11bCD18) e p150,95 (CD11cCD18). Estas proteínas participam na adesão dos leucócitos a outras células, particularmente as células endoteliais, e a ligação dos linfócitos T às células apresentadoras de antígenos (APCs) (Cap. 3).

- **Deficiência de adesão de leucócitos tipo 2 (LAD-2)** é outra desordem rara clinicamente semelhante à LAD-1, mas não é causada por defeitos das integrinas. A LAD-2 é resultante da ausência de sialil Lewis X, o ligante de carboidratos tetrossacarídicos em neutrófilos e outros leucócitos, necessário para ligar a E-selectina e a P-selectina no endotélio ativado por citocinas (Cap. 3). Este defeito é causado pela mutação de um transportador de GDP- fucose responsável pelo transporte de fucose no Golgi, resultando na incapacidade de sintetizar sialil Lewis X. A ausência de sialil Lewis X resulta em uma ligação defeituosa dos leucócitos ao endotélio, a ausência de rolamento dos leucócitos, e, então, o defeituoso recrutamento de leucócitos para os locais de infecção. Esta anormalidade na fucosilação observada em LAD-2 também contribui para um fenótipo de grupo sanguíneo Bombay, que é a falta de antígenos do grupo sanguíneo A ou B, devido à ausência do núcleo H precursor fucosilado de glicano. A LAD-2 também está associada a retardo mental e outros defeitos do desenvolvimento.
- **A deficiência de adesão de leucócitos tipo 3 (LAD-3)** envolve um defeito na via de sinalização de dentro para fora, que medeia a ativação da integrina induzida por quimiocina, necessária para a ligação firme dos leucócitos ao endotélio (Cap. 3). Em um subgrupo de pacientes, ela é causada por mutações no gene que codifica KINDLIN-3, uma proteína que se liga à cauda citoplasmática de algumas integrinas e está envolvida na sinalização. O aumento do sangramento também é observado em indivíduos com KINDLIN-3 mutações por causa da disfunção da integrina nas plaquetas.

## Defeitos nas Células NK e Fagócitos

Raros pacientes carecem de células NK devido a mutações dominantes autossômicas no gene que codifica o fator de transcrição GATA-2. A perda da atividade de GATA-2 resulta em diminuição nas populações precursoras na medula óssea e consequente perda de células NK, bem como diminuição de monócitos, células dendríticas e células B. Mutações autossômicas recessivas em MCM4 (componente 4 do complexo de manutenção do minicromossoma), uma DNA helicase, também resulta na perda de células NK acompanhada por insuficiência

suprarrenal e retardo do crescimento. Mutações autossômicas recessivas em CD16 (Fcγ RIIIA), um receptor Fc que medeia ADCC, resulta em perda da função das células NK que vai além da perda da atividade de ADCC. Como CD16 é necessária para a função da célula NK ainda não está claro. Os pacientes apresentam infecções graves causadas por vírus, principalmente das famílias Herpesvírus e Papilomavírus.

A **síndrome de Chédiak-Higashi** é uma doença autossômica recessiva rara, caracterizada por infecções recorrentes por bactérias piogênicas, albinismo oculocutâneo parcial e infiltração de diversos órgãos por linfócitos não neoplásicos. Os neutrófilos, monócitos e linfócitos dos pacientes contêm lisossomos gigantes. Esta doença é causada por mutações no gene que codifica a proteína LYST, que regula o tráfico intracelular dos lisossomas. As mutações resultam em fusão defeituosa do fagossoma-lisossoma em neutrófilos e macrófagos (causando diminuição da resistência às infecções), formação defeituosa do melanossoma nos melanócitos (causando albinismo) e anormalidades lisossômicas em células do sistema nervoso (causando defeitos em nervos) e plaquetas (o que leva a distúrbios hemorrágicos). Há formação de lisossomos gigantes nos neutrófilos durante a maturação destas células a partir de precursores mielóides. Alguns destes precursores dos neutrófilos morrem prematuramente, resultando em leucopenia moderada. Os neutrófilos que sobrevivem podem conter níveis reduzidos de enzimas lisossômicas, que normalmente agem na morte microbiana. Estas células também são defeituosas para exercer quimiotaxia e fagocitose, contribuindo ainda mais para a sua atividade microbicida deficiente. A função da célula NK nestes pacientes é prejudicada, provavelmente por causa de anormalidades nos grânulos citoplasmáticos que armazenam as proteínas que medeiam a citotoxicidade. A gravidade do defeito da função de linfócitos T citotóxicos (CTL) varia entre os pacientes. Uma cepa de camundongo mutante chamada de “camundongo bege” é um modelo animal para a síndrome de Chédiak-Higashi. Esta linhagem é caracterizada por defeitos na função das células NK e lisossomos gigantes em leucócitos. A mutação bege foi mapeada para o locus *Lyst* do camundongo.

## **Defeitos Hereditários nas Vias TLR, Sinalização de Fator Nuclear $\kappa$ B e Interferons Tipo I**

Os defeitos hereditários nas respostas TLR-dependentes são raros e foram reconhecidos somente recentemente. Os defeitos na sinalização via TLR tendem a causar fenótipos clínicos bastante circunscritos. A principal via de sinalização da maioria dos TLRs, bem como do receptor de interleucina-1 (IL-1R) envolve o adaptador MyD88 e o IRAK-4 e quinases IRAK-1 (Cap. 4), e esta via resulta na indução dependente do fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) das citocinas pró-inflamatórias. Indivíduos com mutações em MyD88 e IRAK4 sofrem de infecções bacterianas invasivas graves no início da vida, especialmente pneumonia pneumocócica. Mais tarde, as infecções tendem a ser menos graves. A sinalização via TLR3 utiliza a



proteína adaptadora TRIF, em vez de MyD88, e TBK1, uma serina-treonina-quinase com função abaixo da TRIF para ativar IRF3 bem como NF- $\kappa$ B de forma não canônica. Mutações autossômicas recessivas em TRIF e mutações autossômicas dominantes na ligase TRAF3 E3 resulta em suscetibilidade à encefalite herpética. Um fenótipo semelhante é observado quando há mutações autossômicas dominantes no gene que codifica TBK1. TLR 3, 7, 8 e 9 e reconhecem ácidos nucleicos, estão localizados em endossomas e necessitam de uma proteína chamada UNC93B (descoordenada 93B) para exercer a sua função. A UNC93B é uma proteína da membrana do retículo endoplasmático que interage com os TLRs endossomais quando são sintetizados no retículo endoplasmático e ajuda a fornecer estes TLRs para os endossomas. A proteína UNC93B também é crítica para a sinalização de TLR específicos de ácido nucleico. Mutações heterozigóticas em TLR3, bem como mutações homozigóticas em UNC93B resultam na redução da geração de interferon tipo I e também no aumento da susceptibilidade à encefalite por herpes simples.

A sinalização cascata abaixo dos TLRs endossomais resulta na síntese e secreção de interferons tipo 1, que se ligam a receptores de interferon tipo 1 e ativam o fator de transcrição STAT1. Em alguns pacientes, mutações em *STAT1* estão ligadas a infecções virais graves e encefalite por Herpes simples.

Algumas deficiências imunes são causadas por defeitos que afetam especificamente a ativação do NF- $\kappa$ B. As mutações pontuais no inibidor de quinase  $\gamma$   $\kappa$ B (IKK $\gamma$ ), também conhecido como modulador essencial do fator nuclear  $\kappa$ B (NEMO), um componente do complexo da quinase  $\kappa$ B necessário para a ativação do NF- $\kappa$ B, contribuem para a condição recessiva ligada ao X conhecida como displasia ectodérmica anidrótica com imunodeficiência (EDA-ID). Nesta desordem, a diferenciação de estruturas derivadas do ectoderma é anormal e a função imunológica é prejudicada em inúmeras vias. As respostas a sinais de TLR, bem como sinais de CD40 ficam comprometidas. Estes pacientes sofrem de infecções por bactérias piogênicas encapsuladas, bem como por patógenos intracelulares incluindo micobactérias, vírus e fungos, como *Pneumocystis jiroveci* (ver também a discussão adiante na seção sobre síndromes de Hiper-IgM). Já foi descrita uma forma autossômica recessiva de EDA-ID, na qual uma mutação no ponto hipermórfico em  $\kappa$ B $\alpha$  evita a fosforilação, a ubiquitinação e a degradação de  $\kappa$ B $\alpha$ , desencadeando assim alterações na ativação de NF- $\kappa$ B.

### **Defeitos na Via IL-12/IFN- $\gamma$**

A IL-12 é secretada por células dendríticas e macrófagos, e a sinalização de IL-12R estimula a síntese de IFN- $\gamma$  pelas células T auxiliares, as células T citotóxicas e células NK (Cap. 4). Mutações nos genes que codificam a IL-12p40, a cadeia IL-12R  $\beta$ 1, e ambas as cadeias do receptor de IFN- $\gamma$ , bem como algumas mutações em STAT1 e IKK $\gamma$ /NEMO, resultam em suscetibilidade às espécies de *Mycobacterium* ambientais (muitas vezes chamadas de micobactérias atípicas), como *Mycobacterium*

*avium*, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium fortuitum*. O termo Susceptibilidade Mendeliana à Doença Micobacteriana (MSMD) é usado para estes transtornos nos quais os indivíduos estão predispostos a doenças graves causadas por micobactérias fracamente virulentas como micobactérias não tuberculosas ambientais e BCG (Bacilo Calmette-Guérin). Mutações autossômicas recessivas em ISG15 (Interferon estimulado pelo gene 15) também causam MSMD. O ISG15 é um fator induzido pelo interferon liberado por células fagocíticas, incluindo neutrófilos, que induz a secreção de IFN- $\gamma$  por outras células, principalmente as células NK. O ISG15 também tem mostrado uma função intracelular, modificando proteínas de forma do tipo ubiquitina, mas é a forma secretada desta proteína que parece ser necessária para a proteção contra infecções por micobactérias.

### Defeitos no Desenvolvimento Esplênico

O desenvolvimento esplênico pode ser prejudicado devido a uma condição autossômica dominante (e às vezes esporádica) chamada de Asplenia Congênita Isolada. Nestes pacientes, mutações de sentido errado (*missense*) heterozigotas têm sido encontradas em *NBX2.5*, que codifica uma proteína envolvida na regulação transcricional do desenvolvimento do baço. A asplenia também pode ser causada por mutações em genes que controlam lateralidade esquerda-direita, que também afetam outros órgãos. Pacientes asplênicos congenitamente apresentam infecções graves por bactérias encapsuladas, especialmente *Streptococcus pneumoniae*.

## Imunodeficiências Combinadas Graves

**As imunodeficiências que afetam tanto a imunidade humoral como a celular são chamadas de imunodeficiências combinadas graves (SCID) (Tabela 21-3).** A SCID é o resultado de problemas no desenvolvimento dos linfócitos T com ou sem defeitos na maturação de células B (Fig. 21-1). Quando não há bloqueio no desenvolvimento das células B, o defeito de imunidade humoral deve-se à ausência de células T auxiliares.

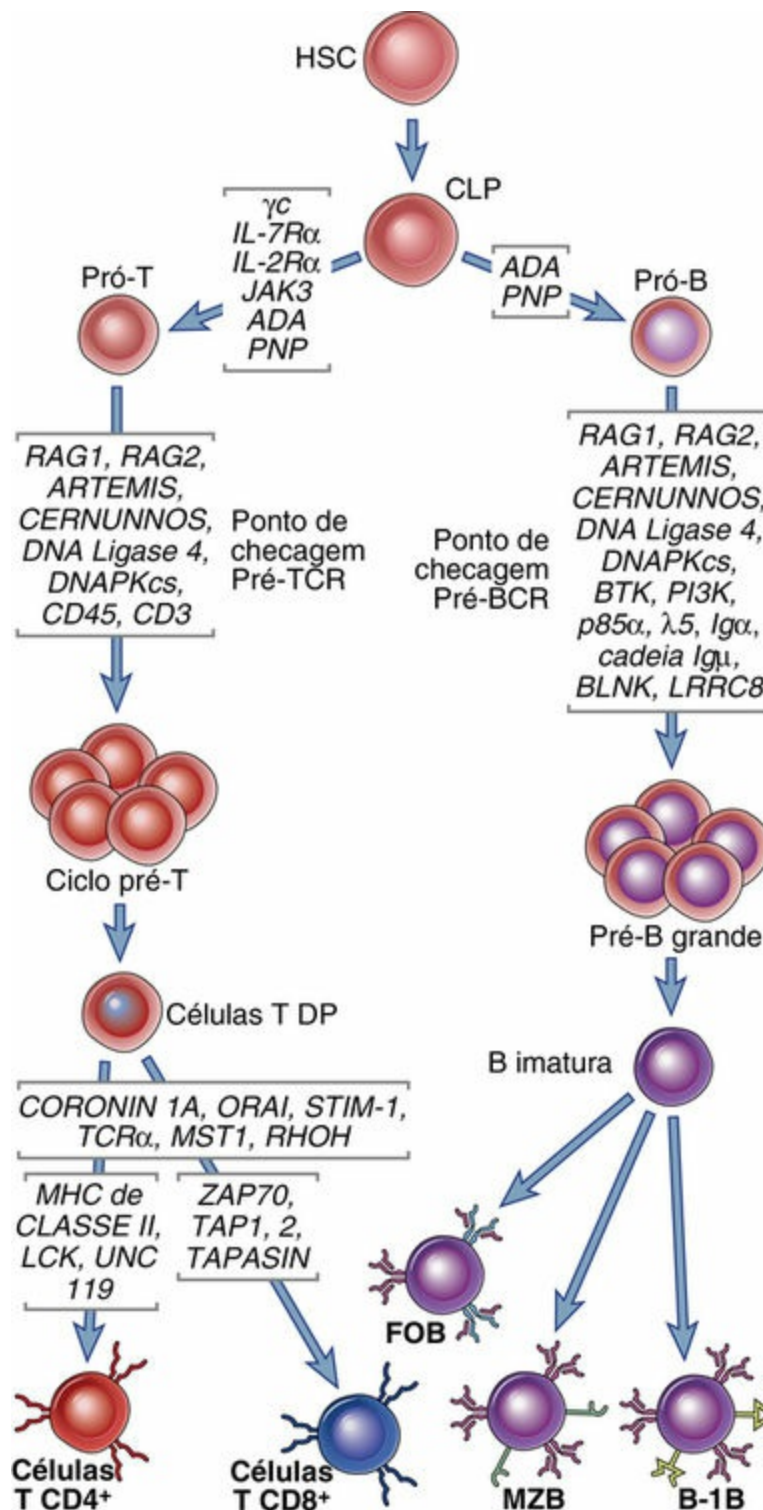
## Tabela 21-3

### Imunodeficiências Combinadas Graves

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismos dos Defeitos
Defeitos na Sinalização de Citocinas		
SCID ligada ao X	Grande diminuição de células T; células B normais ou diminuídas; redução de Ig sérica	Mutações da cadeia $\gamma$ comum do receptor de citocina; desenvolvimento de células T defeituosas na ausência de sinais derivados de IL-7
Formas autossômicas recessivas	Grande diminuição de células T; células B normais ou diminuídas; diminuição de Ig sérica	Mutações em <i>IL2RA</i> , <i>IL7RA</i> , <i>JAK3</i>
Defeitos em Vias de Salvamento de Nucleotídeos		
Deficiência de ADA	Diminuição progressiva das células T, células B e células NK; Ig sérica diminuída	Mutações no gene <i>ADA</i> , levando ao acúmulo de metabólitos tóxicos nos linfócitos
Deficiência de PNP	Diminuição progressiva das células T, células B e células NK; Ig sérica diminuída	Mutações no gene <i>PNP</i> , levando ao acúmulo de metabólitos tóxicos nos linfócitos
Defeitos de recombinação em V(D)J		
Deficiência de recombinação de RAG1 ou RAG2	Diminuição de células T e células B, Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e células B	Defeito de clivagem durante a recombinação V(D)J; mutações em <i>RAG1</i> e <i>RAG2</i>
Reparo na quebra de fita-dupla e ponto de checagem	Diminuição de células T e células B, Ig sérica reduzida; ausência ou deficiência de células T e células B	Falha em resolver grampos durante a recombinação V(D)J; mutação em <i>ARTEMIS</i> , <i>DNA-PKcs</i> , <i>CERNUNNOS</i> , <i>LIG4</i> , <i>NBS1</i> , <i>MRE11</i> , <i>ATM</i>
Desenvolvimento Tímico Defeituoso		
Checkpoint pré-TCR defeituoso	Diminuição de células T; células B normais ou diminuídas; Ig sérica reduzida	Mutação em <i>CD45</i> , <i>CD3D</i> , <i>CD3E</i> , <i>ORAI1</i> (componentes do canal CRAC), <i>STIM1</i>
Síndrome de DiGeorge	Diminuição de células T; células B normais ou diminuídas; Ig sérica reduzida	Deleção em 22q11; mutações no fator de transcrição T-box1 ( <i>TBX1</i> )
Deficiência de FoxN1	Aplasia tímica com desenvolvimento de células T defeituosas	Mutação recessiva em <i>FOXN1</i>
Deficiência da cadeia TCR $\alpha$	Nenhuma célula T $\alpha\beta$ ; célula T $\gamma\delta$ normal; infecções recorrentes e autoimunidade	Deleção autossômica recessiva na região C da cadeia $\alpha$ TCR
Egresso tímico de células T defeituoso e sinalização defeituosa de células T	Grande diminuição de todas as células T periféricas	Mutações em <i>RHOH</i> e <i>MST1</i>
Perda seletiva de células T CD4 <sup>+</sup> e sinalização defeituosa de células T	Diminuição de células T CD4 <sup>+</sup>	Mutações em <i>LCK</i> e <i>UNC119</i>
Outros Defeitos		
Disgenesia reticular	Diminuição de células T, células B e células mielóides	Mutação em <i>AK2</i>

ADA, adenosina desaminase; AK2, adenilato quinase 2; ATM, ataxia-telangiectasia mutada; CRAC, canal de liberação de cálcio ativado; DNA-PKcs, subunidade catalítica de quinase de proteína dependente de DNA; LIG4, DNA ligase 4; MRE11, Homólogo 11 da recombinação meiótica; NBS1, síndrome do *breakpoint* 1 de Nijmegen; PNP, purina nucleosídeo fosforilase.

\* Mutações hipomórficas nos genes RAG e ARTEMIS podem contribuir para a Síndrome de Omenn.



**FIGURA 21-1** Imunodeficiência causada por defeitos na maturação de células T e B.

As imunodeficiências primárias causadas por defeitos genéticos na maturação de linfócitos são mostradas. Estes defeitos podem afetar somente a maturação das células T, somente a maturação das células B, ou de ambas. *CLP*, progenitor linfoide comum; *DP*, duplo positivo; *FoB*, células B

foliculares; HSC, células-tronco hematopoéticas; MZB, células B da zona marginal.

A principal manifestação clínica da SCID são as graves infecções que podem ser fatais. Estas infecções incluem pneumonia, meningite e bacteremia disseminada. Entre os organismos mais perigosos está um fungo denominado *Pneumocystis jirovecii*, que pode causar pneumonia grave. Muitos vírus causam doenças graves em pacientes com SCID. A catapora (varicela) normalmente permanece limitada à pele e membranas mucosas em crianças saudáveis e normalmente se resolve em dias, mas em pacientes com SCID ela pode progredir com envolvimento dos pulmões, fígado e cérebro. O Citomegalovírus (CMV), que está presente como uma infecção latente na maioria das pessoas, pode ser reativado e provocar pneumonia fatal em pacientes com SCID. Crianças com SCID normalmente desenvolvem infecções gastrointestinais, em geral, causadas por rotavírus, espécies de *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia* e citomegalovírus, causando diarreia persistente e má absorção.

Crianças com SCID também podem desenvolver infecções causadas por vacinas vivas atenuadas, que não são prejudiciais em crianças que apresentam a imunidade normal. Vacinas para varicela, sarampo, caxumba, rubéola e rotavírus são vacinas de vírus vivos e as crianças com SCID podem contrair as infecções a partir destas vacinas.

Pacientes com SCID também podem desenvolver uma erupção cutânea crônica da pele que frequentemente é confundida com uma infecção. O prurido é causado por uma reação enxerto-*versus*-hospedeiro na qual as células T maternas entram no feto, mas não são rejeitadas (porque o feto não apresenta um sistema imune competente) e reagem contra os tecidos do bebê.

**Mutações em genes envolvidos em diferentes etapas do desenvolvimento de linfócitos podem causar SCID.** O processo de maturação de linfócitos T e B a partir de células-tronco hematopoéticas em linfócitos maduros funcionalmente competentes envolve a proliferação de células progenitoras de linfócitos inicialmente, rearranjo do locus que codifica uma cadeia do receptor de antígeno seguido pela seleção de células que se formaram nos rearranjos produtivos *in-frame* (estruturais) em um ponto de checagem do receptor pré-antígeno, a expressão de ambas as cadeias do receptor de antígeno e a seleção de células com especificidades úteis (Cap. 8). Já foram descritos defeitos em muitas destas etapas nas várias formas de SCID. Cerca de 50% das SCID são autossômicas recessivas; o restante é ligado ao X. A causa mais comum de SCID autossômica recessiva é a deficiência da enzima adenosina desaminase, necessária para o metabolismo da purina. A SCID ligada ao X é causada por mutações no gene que codifica um componente do receptor de citocina chamado de cadeia  $\gamma$  comum.

**A Síndrome de DiGeorge e Outras Formas de SCID devido ao**



## Desenvolvimento Epitelial Defeituoso do Timo

A falha completa ou parcial do desenvolvimento do primórdio do timo pode causar a falha na maturação das células T. O defeito mais comum no desenvolvimento do timo ligado ao SCID é observado em crianças com a **síndrome de DiGeorge**. Esta deficiência das células T seletivas deve-se a uma malformação congênita que resulta em desenvolvimento defeituoso do timo e das glândulas paratireoides, bem como de outras estruturas que se desenvolvem a partir da terceira e quarta bolsas faríngeas durante a vida fetal. O defeito congênito manifesta-se por hipoplasia ou agenesia do timo causando problemas na maturação das células T, ausência das glândulas paratireoides causando a homeostase anormal do cálcio e espasmos musculares (tetania), desenvolvimento anormal dos vasos e deformidades faciais. Diferentes pacientes podem apresentar diferentes graus dessas anormalidades. A doença é causada mais frequentemente por uma deleção na região cromossômica 22q11. Uma linhagem de camundongos que apresenta um defeito semelhante no desenvolvimento do timo é portadora de uma mutação em um gene que codifica o fator de transcrição denominado T-box 1 (TBX1), que se situa dentro da região deletada na síndrome de DiGeorge. É provável que a imunodeficiência associada à síndrome de DiGeorge possa ser explicada, pelo menos em parte, pela deleção do gene TBX1. Nesta síndrome, os linfócitos T do sangue periférico estão em número muito reduzidos ou ausentes, e as células não respondem aos ativadores de células T policlonais ou em reações de leucócitos mistos. Os níveis de anticorpos geralmente estão normais, mas podem estar reduzidos nos pacientes gravemente afetados. Como em outras deficiências graves de células T, os pacientes são susceptíveis a infecções micobacterianas, virais e fúngicas.

A imunodeficiência associada à síndrome de DiGeorge pode ser corrigida por transplante fetal tímico ou transplante de medula óssea. No entanto, este tratamento geralmente não é necessário porque a função das células T tende a melhorar com a idade e uma grande parte dos pacientes com esta síndrome muitas vezes fica normal por volta dos 5 anos. A melhora com a idade provavelmente ocorre devido à presença de algum tecido tímico ou porque alguns locais extratímicos ainda não definidos assumem a função de maturação das células T. É também possível que, à medida que estes pacientes envelhecem, o tecido do timo desenvolva-se em locais ectópicos (ou seja, fora do local típico).

Um modelo animal de imunodeficiência de células T resultante do desenvolvimento anormal do timo é o *camundongo nude (atímico)*. Estes camundongos apresentam um defeito hereditário de certos tipos de células epiteliais na pele, levando à ausência de pelos e no revestimento da terceira e quarta bolsas faríngeas, causando hipoplasia do timo. A desordem é causada por uma mutação no gene *FoxN1*, que codifica um fator de transcrição da família Forkhead, necessário para o desenvolvimento normal de certos tipos de células derivadas do ectoderma. Os camundongos afetados apresentam um timo rudimentar no qual a maturação das



células T não ocorre normalmente. Como resultado, pouca ou nenhuma célula T madura está presente nos tecidos linfóides periféricos e as reações imunológicas mediadas por células não podem ocorrer. Mutações autossômicas recessivas em *FOXP1* foram descritas em um pequeno número de pacientes que apresentam SCID, alopecia (perda de cabelo) e distrofia ungueal.

Um defeito ainda mais raro no timo foi descrito envolvendo uma mutação em *CORONIN-1A*, que codifica uma proteína que regula a actina do citoesqueleto. A ausência de *CORONIN-1A* funcional resulta em defeitos no egresso das células T maduras do timo. Mutações homozigotas no gene *MST1*, que codifica uma proteína quinase serina/treonina, resulta na perda de células T inativas (*naïve*) em circulação e falha das células T para emigrar do timo. Os pacientes apresentam infecções bacterianas e virais recorrentes, e alguns desenvolvem linfomas associados ao vírus de Epstein-Barr (EBV). Alguns pacientes apresentam a epidermodisplasia verruciforme, apresentando verrugas infectadas pelo HPV e carcinomas de pele. O *MST1* desempenha diversos papéis na proliferação, sobrevivência e migração celular. Embora o principal defeito seja na emigração de células T do timo, também existem defeitos imunes humorais em alguns pacientes que apresentam diminuição no número de células B e hipogamaglobulinemia.

## **Deficiência de ADA e outras Formas de SCID Causada por Defeitos no Metabolismo Nucleotídico**

***A causa mais comum de SCID autossômica recessiva é a deficiência de uma enzima chamada adenosina desaminase (ADA), devido a mutações no gene ADA.*** ADA apresenta funções na via de salvamento da síntese da purina e catalisa a desaminação irreversível de adenosina e da 2'-desoxiadenosina em inosina e 2'-desoxi-inosina, respectivamente. A deficiência da enzima leva ao acúmulo de desoxiadenosina e seus precursores, S-adenosil-homocisteína e trifosfato de desoxiadenosina (dATP). Estes subprodutos apresentam vários efeitos tóxicos, incluindo a inibição da síntese de DNA. Embora ADA esteja presente na maioria das células, os linfócitos em desenvolvimento são menos eficientes do que a maioria dos outros tipos celulares para degradar dATP em 2'-desoxiadenosina, e, portanto, a maturação dos linfócitos é particularmente sensível para a deficiência de ADA. Outras características da doença podem incluir surdez, anormalidades costoadriais, lesões hepáticas e problemas comportamentais. A deficiência de ADA leva à redução do número de células B e T; os números de linfócitos geralmente estão normais no nascimento, mas diminuem drasticamente durante o primeiro ano de vida. Alguns pacientes podem apresentar um número quase normal de células T, mas estas células não proliferam em resposta à estimulação antigênica.

Uma forma autossômica recessiva mais rara de SCID deve-se à deficiência de purina nucleosídeo fosforilase (PNP), uma enzima que também está envolvida no catabolismo da purina. A PNP catalisa a conversão de inosina em hipoxantina e

guanosina para guanina, e a deficiência de PNP leva ao acúmulo de desoxiguanosina e desoxiguanosina-trifosfato, com efeitos tóxicos sobre os linfócitos imaturos, principalmente as células T. Anemia hemolítica autoimune e deterioração neurológica progressiva também são características desta desordem.

Uma forma particularmente grave de SCID é observada em uma doença chamada *disgenesia reticular*. Esta doença rara é caracterizada pela ausência de linfócitos T e B e células mieloides, incluindo granulócitos, e deve-se a um defeito no desenvolvimento de progenitores linfoides e mieloides. Esta doença autossômica recessiva é causada por uma mutação no gene *adenilatocinase 2 (AK2)*. A proteína AK2 regula o nível de difosfato de adenosina, e na ausência de AK2 há aumento da apoptose de precursores mieloides e linfoides.

### **SCID Ligada ao X**

**A SCID ligada ao X é causada por mutações no gene que codifica a cadeia  $\gamma_C$  comum ( $\gamma_C$ ) compartilhada pelos receptores das interleucinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15 (Caps. 4, 9 e 10).** A SCID ligada ao X caracteriza-se pela maturação deficiente de células T e células NK e números muito reduzidos de células T maduras e células NK, mas o número de células B, geralmente, está normal ou aumentado. A imunodeficiência humoral nesta doença deve-se à falta de ajuda das células T na produção de anticorpos. Esta doença é um resultado da incapacidade da citocina linfopoiética IL-7, cujo receptor utiliza a cadeia  $\gamma_C$  para sinalização, de estimular o crescimento de tímócitos imaturos. Além disso, o receptor para IL-15, que é necessária para o desenvolvimento das células NK, também utiliza a cadeia de sinalização  $\gamma_C$ , e a falha de função de IL-15 contribui para a deficiência de células NK.

Mulheres heterozigotas geralmente são portadoras fenotipicamente normais, enquanto os homens que herdam o cromossomo X anormal manifestam a doença. Como as células em desenvolvimento nas mulheres aleatoriamente inativam um dos dois cromossomos X, o alelo normal, que codifica uma proteína  $\gamma_C$  funcional não será expresso na metade dos precursores de linfócitos em uma mulher portadora. Estas células não conseguirão amadurecer e, conseqüentemente, todos os linfócitos maduros em uma mulher portadora terá desativado o mesmo cromossomo X (portador do alelo mutante). Em contraste, a metade de todas as células não linfoides terá um cromossomo X inativado, e metade do outro. Uma comparação da inativação do cromossomo X nas células linfoides *versus* células não linfoides podem ser usadas para identificar portadores do alelo mutante. O uso não aleatório do cromossomo X em linfócitos maduros também é uma característica de mulheres portadoras de outros genes ligados ao X mutados que afetam o desenvolvimento dos linfócitos, como discutido mais adiante.

### **Mutações Autossômicas Recessivas em Componentes de Sinalização**

## de Citocinas

Alguns pacientes com doença clinicamente idêntica à SCID ligada ao X- exibem uma herança autossômica recessiva. Estes pacientes apresentam mutações na cadeia  $\alpha$  do receptor de IL-7 ou na quinase JAK3, que se associa à cadeia  $\gamma_C$  e é necessário para a sinalização por este receptor (Cap. 7). Os pacientes com mutações no gene que codifica a cadeia IL-7R $\alpha$  exibem um defeito no desenvolvimento das células T, mas apresentam desenvolvimento normal das células NK, porque a sinalização via IL-15 não é afetada, e apresentam números normais de células B.

## Imunodeficiência Combinada Grave Causada por Defeitos na Recombinação V(D)J e Sinalização do Pré-TCR

***A ausência de recombinação V(D)J desencadeia uma falha na expressão do receptor de célula pré-T (TCR) e do receptor de célula pré-B (BCR), e um bloqueio no desenvolvimento das células T e B.*** Mutações nos genes RAG1 ou RAG2, cujos produtos proteicos são mediadores da etapa de clivagem durante a recombinação V(D)J, ou no gene ARTEMIS, que codifica uma endonuclease que elimina alças em formato de grampo de códigos terminais durante a recombinação V(D)J, resultam em defeitos na recombinação V(D)J. Estas doenças são raras, mas são responsáveis por uma grande porcentagem de formas autossômicas recessivas de SCID. As funções destes genes são discutidas no Capítulo 8. Em crianças com estas mutações, os linfócitos B e T estão ausentes e a imunidade gravemente comprometida. As mutações em genes que codificam proteínas envolvidas no reparo da quebra da cadeia dupla/junção terminal não homóloga do DNA também desencadeiam SCID causa de em função de defeitos na recombinação V(D)J. Mutações homozigotas no gene que codifica a subunidade catalítica da proteína quinase dependente de DNA (DNA-PK) e a DNA LIGASE 4 levam à SCID. Defeitos genéticos neste processo de junção final também resultam no aumento da sensibilidade celular à radiação e podem resultar em outras manifestações, como microcefalia, dismorfias faciais e o desenvolvimento dos dentes defeituosos.

Mutações hipomórficas (que reduzem apenas parcialmente a função) nos genes RAG, ARTEMIS, ou no gene IL7RA são a causa de uma doença chamada *síndrome de Omenn*, caracterizada pela redução na geração de células T e B, imunodeficiência e manifestações autoimunes e alérgicas. A síndrome de Omenn é fenotipicamente diferente das doenças descritas anteriormente porque a imunodeficiência existe com ativação imune exagerada e autoimunidade. Isto pode ser causado pela proporção anormalmente baixa de células T reguladoras em relação à de células T efetoras, ou nos casos de diminuição da recombinação V(D)J, edição de receptor deficiente nas células B imaturas.

Embora a maioria das formas autossômicas recessivas de SCID estejam ligadas a mutações em ADA, RAG1, RAG2 e ARTEMIS, outras formas desta síndrome são

causadas por mutações nos genes que codificam para a fosfatase CD45 (que é um regulador positivo da família quinases Src, como Fyn, Lck, e Lyn) e mutações na cadeia  $\delta$  ou  $\epsilon$  do CD3 ou cadeia  $\zeta$  associada ao CD3. Estas mutações contribuem para um defeito de sinalização pré-TCR e resultam em bloqueio no desenvolvimento de células T $\alpha\beta$ .

Outro distúrbio do desenvolvimento de células T é causado por mutações homozigotas em RHOH (gene homólogo de Ras membro da família H), uma GTPase atípica da família Rho necessária para sinalização pré-TCR e TCR. A falha no ponto de checagem do pré-TCR resulta em bloqueio no desenvolvimento de células T  $\alpha\beta$ . A apresentação clínica inclui epidermodisplasia verruciforme, que é uma infecção cutânea difusa pelo HPV, que provoca o crescimento de máculas e pápulas.

Um defeito específico no desenvolvimento de células T  $\alpha\beta$  e um quadro clínico que envolve infecções virais recorrentes é causado por mutações homozigotas no gene que codifica a região constante da cadeia  $\alpha$  do receptor de células T (TCR $\alpha$ ). Os indivíduos afetados apresentam maior susceptibilidade a infecções, incluindo infecções pelo vírus Varicela-zóster e o EBV, bem como autoimunidade e características de atopia. A desregulação imune pode retratar a ausência de células T reguladoras; as únicas células T presentes em crianças com esta doença são as células T  $\gamma\delta$ . As características clínicas incluem eosinofilia, vitiligo, eczema, alopecia areata, anemia hemolítica autoimune, e a presença de outros autoanticorpos.

Mutações autossômicas recessivas em LCK, uma tirosina quinase crítica envolvida na sinalização pré-TCR e TCR, também contribuem para a SCID com deficiência de células T, a falta de células T reguladoras, infecções recorrentes, e características desregulação imune.

## **Síndrome do Linfócito Nu e outros Defeitos na Seleção Positiva das Células T**

A geração de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> apenas positivas a partir de timócitos duplo-positivos depende de eventos de seleção positiva e comprometimento da linhagem. Mutações hereditárias específicas em genes que regulam o processo de seleção positiva anulam o desenvolvimento de células T CD4<sup>+</sup> ou de células T CD8<sup>+</sup>.

A deficiência do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, também chamada de **síndrome do linfócito nu**, é um grupo heterogêneo raro de doenças autossômicas recessivas, nas quais os pacientes expressam pouco ou nenhum HLA-DP, HLA-DQ, ou HLA-DR nos linfócitos B, macrófagos, e células dendríticas e não conseguem expressar moléculas do MHC de classe II em resposta ao IFN- $\gamma$ . Apresentam níveis normais ou levemente reduzidos de moléculas do MHC de classe I e microglobulina  $\beta$ 2. A maioria dos casos de síndrome do linfócito nu é causada por mutações nos genes que codificam proteínas que regulam a transcrição de genes do MHC de classe II. Por exemplo, mutações que afetam a expressão do

fator de transcrição RFX5 ou do ativador de transcrição CIITA induzido por IFN- $\gamma$  causam redução na expressão do MHC de classe II e incapacidade das APCs em ativar os linfócitos T CD4<sup>+</sup>. A falha na apresentação de antígenos pode resultar na seleção positiva defeituosa das células T no timo, com uma redução no número de células T CD4<sup>+</sup> maduras ou ativação defeituosa das células na periferia. Indivíduos afetados apresentam deficiência nas respostas de DTH e nas respostas de anticorpos a antígenos proteicos dependentes de células T. O aparecimento da doença acontece durante o primeiro ano de vida e normalmente é fatal a menos que seja tratada com transplante de medula óssea.

Deficiências autossômicas recessivas do MHC de classe I também têm sido descritas e são caracterizadas pela diminuição do número e da função das células T CD8<sup>+</sup>. Em alguns casos, a ausência da expressão de moléculas de MHC de classe I deve-se a mutações nos genes *TAP-1* ou *TAP-2*, que codificam as subunidades do complexo TAP (transportador associado a processamento de antígeno), que normalmente transporta peptídeos do citosol para o retículo endoplasmático, onde são montados em moléculas do MHC de classe I (Cap. 6). Como as moléculas do MHC estão vazias e são degradadas no meio intracelular, o nível de moléculas do MHC de classe I da superfície celular está reduzido nestes pacientes com deficiência de TAP; um fenótipo semelhante ao de camundongos *knockouts* para o gene TAP. Estes pacientes sofrem principalmente de lesões granulomatosas necrosantes da pele e infecções bacterianas do trato respiratório, mas não de infecções virais, o que é surpreendente, considerando que a principal função das células T CD8<sup>+</sup> é a defesa contra os vírus. Uma deficiência semelhante na expressão de MHC classe I tem sido observada em pacientes com mutações no gene que codifica a proteína tapasina (Cap. 6).

Os pacientes com deficiência de ZAP-70 apresentam um defeito que compromete a linhagem resultando na redução das células T CD8<sup>+</sup>, mas números normais de células T CD4<sup>+</sup>; a razão para a perda seletiva ainda não foi esclarecida. Embora o desenvolvimento das células T CD4<sup>+</sup> ou a migração para a periferia não esteja comprometida, as células não conseguem proliferar normalmente quando desafiadas por antígenos.

Mutações negativas dominantes heterozigóticas no gene que codifica a UNC119 (*Uncoordinated 119*), uma proteína que libera proteínas miristiladas, incluindo a LCK, para a membrana plasmática, resultam em linfopenia de células T CD4<sup>+</sup>. A LCK liga-se mais fortemente às células CD4 do que às células CD8, e na doença, a deficiência de LCK na superfície celular, presumivelmente produz um defeito de seleção positiva das células T CD4<sup>+</sup>. O quadro clínico inclui infecções virais e fúngicas recorrentes.

## SCID Causada por Ativação Deficiente da Célula T

Outra forma rara de SCID é causada por uma mutação no gene que codifica Orai1, um componente do canal CRAC (Cap. 7). A sinalização do receptor de antígeno desencadeia a ativação da isoforma  $\gamma$  da fosfolipase C (PLC $\gamma$ ) e a liberação de íons cálcio dependente de trifosfato de inositol (IP3) do retículo endoplasmático e mitocôndrias (Cap. 7). O cálcio liberado é reabastecido por canais CRAC controlados por estoque que facilitam o influxo de cálcio extracelular. Este processo é fundamental para a ativação dos linfócitos, e é deficiente nas células que apresentam *Orai1* mutante. Um fenótipo semelhante é observado em pacientes com mutações em *STIM1*, que codifica uma proteína do retículo endoplasmático que detecta o esgotamento das reservas de cálcio e contribui para a abertura do canal CRAC. Os pacientes com mutações em *Orai1* e *STIM1* não apresentam um defeito no desenvolvimento de células T, mas as suas células T não são ativadas adequadamente.

## Deficiências de Anticorpos: Defeitos no Desenvolvimento e Ativação das Células B

Enquanto os defeitos no desenvolvimento das células T, ou no desenvolvimento de ambas células T e B contribuem para o fenótipo de SCID, defeitos mais restritos às células B resultam em desordens nas quais a anormalidade primária acontece na produção de anticorpos (Tabela 21-4). Algumas destas doenças são causadas por defeitos no desenvolvimento das células B (Fig. 21-1.), e outras são causadas pela ativação da célula B e a síntese de anticorpos anormais (Fig. 21-2). No entanto, em um subconjunto de síndromes hiper-IgM, discutidas adiante, as deficiências de anticorpos também são acompanhadas por defeitos na ativação de macrófagos e APCs, o que, por sua vez, resulta em uma atenuação da imunidade mediada por células.

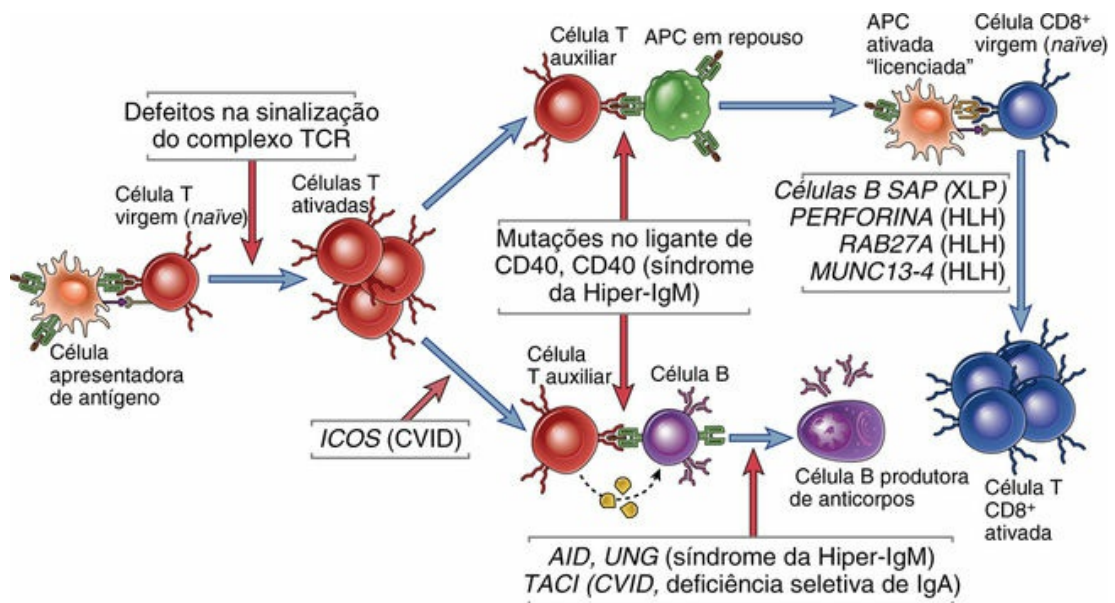


## Tabela 21-4

### Deficiências de Anticorpos

Doenças	Deficiências Funcionais	Mecanismo do Defeito
Agamaglobulinemias		
Ligada ao X	Diminuição de todos os isotipos de Ig sérica; redução do número de células B	Defeito no checkpoint do receptor pré-B; mutação Btk
Formas Autossômicas Recessivas	Diminuição de todos os isotipos de Ig sérica; redução do número de células B	Defeito no checkpoint do receptor pré-B; mutação Btk; mutações na cadeia pesada ( $\mu$ ) da IgM, cadeias leves substitutas ( $\lambda 5$ ), Ig $\alpha$ , BLNK, PI3K p85 $\alpha$
Hipogamaglobulinemias/Defeitos de Isotipo		
Deficiência seletiva de IgA	Diminuição de IgA; pode estar associada ao aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas e protozoários como <i>Giardia Lamblia</i>	Mutações em <i>TAC1</i> em alguns pacientes
Deficiência seletiva de IgG2	Aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas	Um pequeno subconjunto apresenta deleção no locus IgH $\gamma 2$
Imunodeficiência variável comum	Hipogamaglobulinemia; número de células B diminuído ou normal	Mutações em <i>ICOS</i> e <i>TAC1</i> em alguns pacientes
Síndrome ICF	Hipogamaglobulinemia; ocasionalmente defeitos leves nas células T	Mutações em <i>DNMT3B</i>
Síndromes Hiper-IgM		
Ligada ao X	Defeitos na ativação de células B, macrófagos e células dendríticas mediada por células T auxiliares; defeitos em mutação somática, troca de classe e formação de centro germinativo; imunidade mediada por células defeituosa	Mutações em <i>CD40L</i>
Autossômica recessiva com defeitos imune-mediados	Defeitos na ativação de células B, macrófagos e células dendríticas mediada por células T auxiliares; defeitos em mutação somática, troca de classe e formação de centro germinativo; imunidade mediada por células defeituosa	Mutações em <i>CD40</i> , <i>NEMO</i>
Autossômica recessiva com defeitos somente nos anticorpos	Defeitos na mutação somática e troca de classe de isotipos	Mutações em <i>AID</i> , <i>UNG</i>

AID, citidina desaminase induzida por ativação; DNMT3B, DNA metiltransferase 3B; ICF, imunodeficiências-instabilidade centromérica-anomalias faciais; ICOS, coestimulador induzível; NEMO, modulador essencial do NF- $\kappa$ B; TAC1, ativador transmembrana e modulador de cálcio e interativo do ligante ciclofilina; UNG, uracil N-glicosilase.



**FIGURA 21-2** Imunodeficiência causada por defeitos na ativação das células T e B.

As imunodeficiências primárias podem ser causadas por defeitos genéticos em moléculas necessárias para a sinalização do receptor do antígeno do linfócito B ou T, para ativação de células B e APCs mediada por células T auxiliares, ou para ativação de linfócitos T citotóxicos ou células NK. CVID, imunodeficiência variável comum; HLH, linfo-histiocitose hemafagocítica.

## Agamaglobulinemia Ligada ao X: Um Defeito na Sinalização pré-BCR Ligada ao X

A **agamaglobulinemia ligada ao X**, também chamada de **agamaglobulinemia de Bruton**, é causada por mutações ou deleções no gene que codifica uma enzima chamada **tirosinoquinase de Bruton (Btk)**, que resultam na falha de amadurecimento das células B após a fase de pré-células B na medula óssea (Fig. 21-1). A doença é caracterizada pela ausência de gamaglobulina no sangue, conforme indica o nome. É uma das imunodeficiências congênitas mais comuns e o protótipo de uma falha de maturação das células B. A Btk está envolvida na transdução de sinais pré-BCR que são necessários para a sobrevivência e diferenciação de células pré-B (Cap. 8). Em mulheres portadoras da doença, apenas as células B que inativaram o cromossomo X portador do alelo mutante amadurecem. Pacientes com agamaglobulinemia geralmente apresentam quantidade de Ig sérica baixa ou indetectável, número de células B reduzido ou ausente no sangue e tecidos linfóides periféricos, inexistência de centros germinativos dos linfonodos, e ausência de plasmócitos nos tecidos. A maturação, o número e as funções das células T

geralmente estão normais, embora alguns estudos tenham revelado redução do número de células T ativadas nestes pacientes, o que pode ser uma consequência da apresentação de antígenos reduzida causada pela falta de células B. Por razões desconhecidas, há o desenvolvimento de doenças autoimunes em quase 20% dos pacientes. As complicações infecciosas da agamaglobulinemia ligada ao X são muito reduzidas com a administração de injeções periódicas (p. ex., semanal ou mensal) de preparações de gamaglobulina em *pool*. Estas preparações contêm anticorpos pré-formados contra patógenos comuns e fornecem uma imunidade passiva eficaz.

Camundongos *knockouts* sem Btk, bem como camundongos *Xid* naturalmente mutantes para Btk, exibem um defeito menos grave na maturação das células B do que os seres humanos o fazem, porque uma tirosinoquinase semelhante à Btk (*Btk-like*) chamada de Tec está ativa nas células pré-B dos camundongos que não possuem Btk e compensam parcialmente a Btk mutante. As principais alterações em camundongos *Xid* são as respostas por anticorpos defeituosas para alguns antígenos polissacarídicos e deficiência de células B foliculares maduras e células B-1.

## **Defeitos Autossômicos Recessivos em Pontos de Checagem do pré-BCR**

Formas autossômicas recessivas de agamaglobulinemia foram descritas, a maioria delas pode ser desencadeada por defeitos na sinalização pré-BCR. Genes mutantes que foram identificados neste contexto incluem os genes que codificam a cadeia pesada  $\mu$  (IgM), o substituto da cadeia leve  $\lambda 5$ , Ig $\alpha$  (um componente de sinalização pré-BCR e BCR), a subunidade p85 $\alpha$  de PI3quinase, e BLNK (uma proteína adaptadora *abaixo* de pré-BCR e BCR).

## **Deficiências Seletivas de Isotipo de Imunoglobulina**

Muitos defeitos imunológicos que envolvem seletivamente um ou alguns isotipos de Ig foram descritos. O mais comum é a **deficiência seletiva de IgA**, que afeta cerca de 1 em 700 caucasianos e é, portanto, a imunodeficiência primária conhecida mais comum. A deficiência de IgA geralmente ocorre esporadicamente, mas muitos casos familiares com padrões de herança autossômica recessiva ou autossômica dominantes também são conhecidos. As manifestações clínicas são variáveis. Muitos pacientes são totalmente normais; outros apresentam infecções respiratórias e diarreia ocasionais; e raramente, os pacientes apresentam infecções graves, recorrentes que provocam lesões intestinais e das vias aéreas permanentes, associados a doenças autoimunes. Estas manifestações refletem a importância da IgA secretora na proteção das barreiras mucosas de comensais e microrganismos patogênicos (Cap. 14). A deficiência de IgA é caracterizada por baixos níveis séricos de IgA, geralmente inferiores a 50 pg/mL (normal, 2 a 4 mg/mL), com níveis normais ou elevados de IgM e IgG, nível baixo de IgA nas secreções mucosas. O defeito

nestes pacientes é um bloqueio na diferenciação de células B em plasmócitos secretores de anticorpos IgA. Os genes de cadeia pesada  $\alpha$  e a expressão de IgA associada à membrana são normais. Não foram observadas alterações relevantes nos números, fenótipos, ou respostas funcionais das células T nestes pacientes. Em uma pequena proporção de pacientes com deficiência seletiva de IgA, têm sido descritas mutações em TACI (ativador transmembrana e modulador de cálcio e interativo do ligante ciclofilina), um dos três tipos de receptores para as citocinas Fc $\gamma$  (fator de ativação de células B) e APRIL (um ligante indutor de proliferação), que estimulam a sobrevivência e a proliferação das células B, ainda que em diferentes estágios de diferenciação de células B. As mutações em TACI também são uma importante causa de imunodeficiência variável comum, discutida mais adiante.

Deficiências seletivas da subclasse IgG foram descritas, onde o nível total de IgG sérica está normal, mas as concentrações de uma ou mais subclasses estão abaixo do normal. A deficiência de IgG3 é a deficiência de subclasse mais comum em adultos, e a deficiência de IgG2 relacionada à deficiência de IgA é mais comum em crianças. Algumas pessoas com estas deficiências desenvolvem infecções bacterianas recorrentes, mas muitas não apresentam quaisquer problemas clínicos. Deficiências seletivas nas subclasses de IgG geralmente devem-se à diferenciação anormal de células B e raramente à deleções homozigotas de vários genes de região constante (C $\gamma$ ).

## **Defeitos na Diferenciação de Células B: Imunodeficiência Comum Variável**

***A imunodeficiência variável comum é um grupo heterogêneo de doenças definidas pela redução dos níveis séricos de Ig, falha na resposta de anticorpos à infecção e vacinas, e aumento da incidência de infecções.*** O diagnóstico geralmente é realizado por exclusão quando outras imunodeficiências primárias são descartadas. A apresentação e a patogênese são, como o nome indica, muito variáveis. A deficiência de Ig e as infecções patogênicas associadas, normalmente por *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*, são as principais características desta desordem, mas doenças autoimunes, incluindo a anemia perniciosa, anemia hemolítica, doença inflamatória do intestino e artrite reumatoide, podem ser clinicamente significativas. A elevada incidência de tumores malignos, em particular linfomas, também está associada à imunodeficiência variável comum. Estes distúrbios podem ser diagnosticados na infância ou mais tarde. Ocorrem tanto casos esporádicos como casos familiares, e estes últimos apresentam dois padrões de herança, um padrão autossômico dominante e um autossômico recessivo. Nestes pacientes, os linfócitos B maduros estão presentes, mas os plasmócitos estão ausentes nos tecidos linfoides, sugerindo um bloqueio da diferenciação das células B em células secretoras de anticorpos.

Tem-se atribuído à produção defeituosa de anticorpos a múltiplas anormalidades,

incluindo defeitos intrínsecos das células B ou deficiência de células T auxiliares. Uma pequena proporção de pacientes com imunodeficiência variável comum apresenta uma mutação no do gene *ICOS* (coestimulador das células T indutoras). O *ICOS* é necessário para a geração das células T auxiliares foliculares (Cap. 12). A causa mais comum da síndrome é a existência de mutações no *TACI*, descrito anteriormente, no teto sobre deficiência seletiva de IgA. Alguns casos de imunodeficiência variável comum estão ligados a mutações no gene *CD19*. O *CD19* é um componente de sinalização do complexo receptor *CR2* (*CD21*) (Cap. 7).

## **Defeitos na Ativação da Célula B Dependente da Célula T: Síndromes Hiper-IgM**

**A síndrome da hiper-IgM ligada ao X é causada por mutações no gene que codifica o ligante CD40 da molécula efetora da célula T (CD154).** É uma doença rara associada a uma troca defeituosa nas células B para os isotipos IgG e IgA; portanto, a produção destes anticorpos fica reduzida e o principal isotipo detectado no sangue é IgM. As formas mutantes do ligante do CD40 produzidas nestes pacientes não se ligam ao CD40 ou nem executam a transdução de sinais através do CD40 e, portanto, não estimulam as células B a trocar de isotipo da cadeia pesada, o que requer a ajuda das células T (Cap. 12). Os pacientes apresentam infecções semelhantes àquelas observadas em outras hipogamaglobulinemias. Os pacientes com síndrome de hiper-IgM ligada ao X também exibem defeitos na imunidade mediada por células, com um aumento da susceptibilidade à infecção pelo fungo intracelular *Pneumocystis jiroveci*. Esta imunidade mediada por célula defeituosa ocorre porque o ligante de CD40 também está envolvido na ativação de macrófagos e células dendríticas dependentes de células T (Cap. 10). Camundongos *knockouts* para o CD40 ou para o ligante de CD40 apresentam um fenótipo similar ao da doença humana.

Casos raros de síndrome de hiper-IgM exibem um padrão de herança autossômica recessiva. Nestes pacientes, os defeitos genéticos podem estar no CD40 ou na desaminase induzida por ativação enzimática (*AID*), que está envolvida na troca de isotipo da cadeia pesada e maturação por afinidade (Cap. 12). As mutações na *AID* geralmente são homozigotas recessivas. Uma pequena fração de mutações na região do gene *AID* que corresponde à parte C terminal da enzima exibe um padrão de herança autossômica dominante. Uma forma da síndrome da hiper-IgM é causada por mutações recessivas autossômicas no gene que codifica a uracila N-glicosilase (*UNG*; Capítulo 12), uma enzima que remove os resíduos de U dos genes de Ig durante a troca de classe e de mutação somática. Uma desordem hereditária, a *EDA-ID*, na qual mutações hipomórficas em *NEMO* contribuem para um estado de hiper-IgM, bem como para defeitos em estruturas de origem ectodérmica, foi descrita anteriormente nesta seção sobre defeitos na imunidade inata.

Mutações em *AID* e *UNG* afetam a recombinação de troca de classe e



hipermutação somática em diferentes vias. Na ausência de AID, tanto a troca de classe como a hipermutação estão defeituosas, porque a AID é necessária em ambos os processos. Na ausência de UNG, a troca de classe de isotipo é defeituosa, mas a hipermutação somática está amplamente preservada, embora exiba menos mutações A:T sem a atividade da UNG. O papel das mutações no gene de reparo do DNA nos defeitos de troca de classe será considerado quando discutirmos sobre a ataxia-telangiectasia mais adiante neste capítulo.

## Defeitos na Ativação e Função do Linfócito T

À medida que nosso conhecimento aumenta e a compreensão das bases moleculares melhora, são descobertas cada vez mais anomalias congênitas na ativação dos linfócitos T (Tabela 21-5). Incluem-se nesta categoria geral alguns distúrbios de composição do grânulo celular de células CTL e NK ou de exocitose. Embora as doenças ligadas à expressão defeituosa do MHC sejam classificadas com as desordens ligadas ao desenvolvimento de células T, estas anormalidades também resultam na ativação deficiente das células T que amadurecem e emergem do timo.

**Tabela 21-5**

### Defeitos na Ativação das Células T

Doença	Deficiências Funcionais	Mecanismo de Defeito
Defeitos na expressão do MHC		
Síndrome do linfócito nu	Expressão defeituosa do MHC de classe I e deficiência de células T CD4 <sup>+</sup> ; imunidade celular e resposta imune humoral dependente de células T defeituosas	Defeitos em fatores de transcrição que regulam a expressão de genes do MHC de classe I, incluindo <i>CIITA</i> , <i>RFXANK</i> , <i>RFX5</i> e <i>RFXAP</i>
Deficiência do MHC de classe I	Diminuição dos níveis de MHC de classe I; células T CD8 <sup>+</sup> reduzidas	Mutações em <i>TAP1</i> , <i>TAP2</i> e <i>TAPASIN</i>
Sinalização de célula T defeituosa		
Defeitos de sinalização TCR proximal	Defeitos na imunidade celular e na imunidade humoral dependente de célula T	Mutações em genes <i>CD3</i> , <i>CD45</i> , <i>STIM1</i> e <i>ORAI1</i>
Síndrome de Wiskott-Aldrich Doença autossômica recessiva do tipo Wass	Defeitos na ativação da célula T e na mobilidade dos leucócitos Defeitos na ativação da célula T e na mobilidade dos leucócitos	Rearranjos do citoesqueleto na actina dependente de TCR são defeituosos por causa de mutações em <i>WAS</i> , uma mutação genética ligada ao C em <i>WIP</i>
Linfo-histiocitose Hemofagocítica Familiar		
Síndrome linfoproliferativa ligada ao X	Proliferação de células B induzida pelo EBV descontrolada, ativação de CTL e de macrófagos descontrolada, função defeituosa de CTL e célula NK defeituosa	Mutações em <i>SAP</i> Mutações em <i>XIAP</i>
Deficiências de perforina	Ativação de CTL e macrófagos descontrolada, função defeituosa de CTL e célula NK defeituosa	Mutações em <i>PERFORIN</i>
Fusão de grânulos	Ativação de CTL e macrófagos descontrolada, função defeituosa de CTL e célula NK defeituosa	Exocitose defeituosa de grânulos citotóxicos; mutações em <i>RAB27A</i> , <i>MUNC13-4</i> , <i>SYNTAXIN-11</i> , <i>AP3</i> (e na síndrome de Chédiak-Higashi — ver Tabela 21-2)

AP3, complexo da proteína relacionado ao adaptador 3; LYST, proteína reguladora do tráfego de lisossomos; SAP, proteína associada a SLAM; TAP, transportador associado ao processamento de antígeno; WASP, proteínas da síndrome de Wiskott-Aldrich.



## Defeitos na Transdução do Sinal do TCR

Muitas doenças de imunodeficiências raras são causadas por defeitos na expressão de moléculas necessárias para a ativação e função das células T. Análises bioquímicas e moleculares de indivíduos afetados revelaram mutações em genes que codificam várias proteínas das células T (Tabela 21-5). Entre os exemplos estão a expressão ou função do complexo TCR causada por mutações no gene *CD3 ε* ou *γ*, a sinalização mediada por TCR defeituosa devido a mutações no gene *ZAP70*, a redução da síntese de citocinas, como IL-2 e IFN- $\gamma$  (em alguns casos, devido a defeitos de fatores de transcrição) e a falta de expressão de cadeias de receptores de IL-2. Esses defeitos são encontrados em apenas alguns casos isolados ou em algumas poucas famílias, e as características clínicas e a gravidade variam muito. Os pacientes com estas alterações podem apresentar deficiências predominantemente na função das células T ou imunodeficiências mistas de células T e B, apesar de números normais ou mesmo elevados de linfócitos sanguíneos. Foi considerada anteriormente a importância do complexo CD3, RHOH, LCK e o checkpoint de pré-TCR; o papel das mutações em *ZAP70* no desenvolvimento de células T CD8<sup>+</sup>; o papel das mutações em *LCK* e *UNC119* no desenvolvimento de células T CD4<sup>+</sup>; e a relevância das mutações em *ORAI1* e *STIM1* na ativação das células T, tudo no contexto clínico da SCID. Outras síndromes que envolvem a ativação defeituosa de células T maduras são consideradas aqui.

## Síndrome de Wiskott-Aldrich

Graus variáveis de imunodeficiência de células T e B ocorrem em determinadas doenças congênitas com um amplo espectro de anormalidades envolvendo muitos sistemas de órgãos. A síndrome de Wiskott-Aldrich é uma doença ligada ao X, caracterizada por eczema, trombocitopenia (diminuição das plaquetas sanguíneas) e susceptibilidade à infecção bacteriana. Algumas das anormalidades nesta desordem podem ser causadas por defeitos na ativação da célula T, embora a perda intrínseca da função das células B também contribua para a patogênese. Nas fases iniciais da doença, o número de linfócitos está normal e o principal defeito é a incapacidade de produzir anticorpos em resposta a antígenos polissacarídeos independente de células T, e desta forma, esses pacientes são especialmente suscetíveis a infecções por bactérias encapsuladas. Os linfócitos (e as plaquetas) são menores do que o normal. À medida que a idade aumenta, os pacientes apresentam redução do número de linfócitos e imunodeficiência mais grave.

O gene defeituoso responsável pela síndrome de Wiskott-Aldrich codifica uma proteína citoplasmática chamada WASP (proteína da síndrome de Wiskott-Aldrich), expressa exclusivamente em células derivadas de medula óssea. A WASP interage com diversas proteínas, incluindo moléculas adaptadoras abaixo do receptor de antígeno, como a Grb-2 (Cap. 7), o complexo Arp2/3 envolvido na polimerização da

actina e as pequenas proteínas G da família Rho que regulam o rearranjo do citoesqueleto de actina. A ativação defeituosa e a formação de sinapses em linfócitos e a mobilidade defeituosa de todos os leucócitos podem ser responsáveis pela imunodeficiência observada nesta síndrome. Uma doença autossômica recessiva que se assemelha à síndrome de Wiskott-Aldrich foi descrita. Esta doença é causada por mutações no gene que codifica WIP (Proteína de Interação-WASP), uma proteína que liga-se a WASP e a estabiliza.

## **Síndrome Linfoproliferativa Ligada ao X**

A síndrome linfoproliferativa ligada ao X (XLP) é uma desordem caracterizada pela incapacidade de eliminar o EBV, levando eventualmente à mononucleose infecciosa fulminante e ao desenvolvimento de tumores de células B. Em cerca de 80% dos casos, a doença é causada por mutações no gene que codifica uma molécula adaptadora chamada SAP (proteína associada à SLAM) que se liga a uma família de moléculas da superfície celular envolvida na ativação de células NK e linfócitos T e B, incluindo a molécula de sinalização de ativação do linfócito (SLAM). A SAP liga-se a proteínas de membrana SLAM e à 2B4 ([Cap. 7](#)) para a quinase Fyn da família Src. Defeitos na SAP contribuem para falha na ativação de células T e NK, resultando no aumento da susceptibilidade a infecções virais. Como discutido no [Capítulo 12](#), a SAP é necessária para o desenvolvimento das células T auxiliares foliculares (T<sub>FH</sub>), e a incapacidade dos pacientes com XLP de gerar centros germinais e anticorpos de alta afinidade, provavelmente, também contribui para a hipogamaglobulinemia associada e à susceptibilidade a infecções virais. Em cerca de 20% dos casos de XLP, o defeito genético não está no SAP, mas no gene que codifica o XIAP (inibidor de apoptose ligado ao X). O resultante aumento da apoptose de células T e células T NK desencadeia uma depleção acentuada destes tipos de células. Esta imunodeficiência manifesta-se mais comumente através de graves infecções pelo EBV, que provavelmente surgem de forma oportunista, devido à natureza ubíqua do EBV.

## **Defeitos na Função das Células CTL e NK: Síndromes Familiares de Linfo-Histiocitose Hemofagocítica**

As síndromes de linfo-histiocitose hemofagocítica (HLH) constituem um grupo de doenças de imunodeficiência potencialmente fatais, nas quais a capacidade de eliminar células infectadas das células NK e as CTLs está defeituosa. Como resultado, as infecções virais não são controladas e a ativação excessiva compensatória dos macrófagos é uma característica destas síndromes. Uma característica tardia, mas marcante nestes transtornos, é a ingestão de glóbulos vermelhos por macrófagos ativado (hemofagocitose). As mutações no gene *perforina* são a causa mais comum de HLH, mas mutações em genes que codificam a maquinaria celular envolvida na exocitose de grânulos são encontradas em alguns casos da síndrome.

Especificamente, as mutações no *RAB27A*, uma pequena guanosina trifosfatase envolvida na fusão vesicular, e em *MUNC13-4*, que codifica um adaptador que participa na exocitose de grânulos, comprometem a fusão dos grânulos líticos com a membrana plasmática e, assim, contribuem para vários subtipos de HLH. Da mesma forma, mutações no gene para um componente do complexo da proteína adaptadora citossólica de AP-3 também podem interromper o transporte intracelular e contribuir para uma forma de HLH. Acredita-se que as células T e as células NK respondem fortemente aos microrganismos persistentes através da secreção de IFN- $\gamma$ , mas na ausência de atividade citotóxica, os CTL e as células NK não podem eliminar as infecções, e o excesso de ativação de IFN- $\gamma$  mediada por macrófagos se manifesta por meio de hemofagocitose e linfadenopatia no quadro da imunodeficiência.

## Desordens Multissistêmicas com Imunodeficiência

A imunodeficiência frequentemente é uma constelação de sintomas em inúmeras desordens hereditárias. Alguns exemplos destas síndromes discutidas anteriormente incluem a síndrome de Chédiak-Higashi, síndrome de Wiskott-Aldrich e síndrome de DiGeorge.

### Ataxia Telangiectasia

Ataxia-telangiectasia é uma doença autossômica recessiva caracterizada por marcha anormal (ataxia), malformações vasculares (telangiectasias), déficits neurológicos, aumento da incidência de tumores e imunodeficiência. Os defeitos imunológicos são de intensidade variável e podem afetar tanto células B como células T. O defeito imune humoral mais comum é a deficiência de IgA e de IgG2, provavelmente por causa do papel crucial de uma proteína chamada ATM (ataxia-telangiectasia mutada) que atua na recombinação de troca de classe. Os defeitos das células T, que geralmente são menos pronunciados, estão associados à hipoplasia do timo. Os pacientes apresentam infecções bacterianas do trato respiratório superior e inferior, vários fenômenos autoimunes e cânceres cada vez mais frequentes à medida que a idade avança.

A ATM é uma proteína quinase relacionada estruturalmente a fosfatidilinositol 3-quinase. Esta proteína pode ativar os pontos de verificação do ciclo celular e de apoptose em resposta a quebras da cadeia dupla do DNA. Também tem sido mostrada sua função na estabilidade do complexo de quebra da cadeia dupla do DNA durante a recombinação V(D)J. Na síndrome de Wiskott-Aldrich, estas anormalidades no reparo do DNA contribuem para a geração anormal de receptores de antígenos. Além disso, a ATM contribui para a estabilidade do ADN quando quebras na cadeia dupla de DNA são geradas no decorrer da recombinação de troca de isotipo, e mutações na ATM resultam em uma troca de classe defeituosa e níveis reduzidos de IgG, IgA e IgE.

## Abordagens Terapêuticas para Imunodeficiências Congênitas

***O tratamento atual para as imunodeficiências tem dois objetivos: minimizar e controlar as infecções, e substituir os componentes defeituosos ou ausentes do sistema imunológico por transferência adotiva ou transplante.*** A imunização passiva com gamaglobulina é muito benéfica para os pacientes agamaglobulinêmicos, salvando a vida de muitos meninos com agamaglobulinemia ligada ao X. Atualmente, o transplante de células-tronco hematopoéticas é o tratamento de escolha para muitas doenças de imunodeficiência e tem sido bem-sucedido no tratamento de SCID com deficiência de ADA, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome do linfócito nu, e deficiências de adesão dos leucócitos. É mais bem-sucedido quando há depleção de células T da medula e compatibilidade HLA para prevenir a doença do enxerto-versus-hospedeiro (Cap. 17). Tem sido tentada a terapia de reposição enzimática para deficiências de ADA e PNP, com transfusões de eritrócitos utilizados como fonte enzimática. Esta abordagem produziu melhora clínica temporária em vários pacientes com SCID autossômica. A injeção de ADA bovina, conjugada com polietilenoglicol para prolongar sua meia-vida no soro, revelou-se bem-sucedida em alguns casos, mas os benefícios geralmente são de curta duração.

Teoricamente, a terapia de escolha das desordens congênitas dos linfócitos é a reposição do gene defeituoso em células-tronco autorrenováveis. A substituição do gene permanece como um objetivo distante para a maioria das imunodeficiências humanas até o momento, apesar de um esforço considerável. Os principais obstáculos para este tipo de terapia genética são as dificuldades para a purificação das células-tronco autorrenováveis, que são o alvo ideal para a introdução do gene de substituição, e a introdução de genes em células de forma a alcançar uma expressão estável, de longa duração e de alto nível. Além disso, os receptores do transplante devem ser condicionados por meio de depleção das células da medula óssea para permitir o enxerto das células-tronco transplantadas e isto acarreta riscos potenciais devido à redução transitória das células sanguíneas. Algum progresso foi realizado na terapia genética para a deficiência de ADA através da utilização de uma abordagem de condicionamento mais branda. Um pequeno número de pacientes com SCID ligada ao X foi tratado com sucesso por meio de transplante de células autólogas de medula óssea modificadas para expressar um gene normal de  $\gamma_C$ . No entanto, alguns destes pacientes tratados desenvolveram leucemia, aparentemente porque o gene  $\gamma_C$  foi inserido adjacente a um oncogene e ativou este gene. O desenvolvimento de vetores lentivirais de autoinativação reduziu o risco de mutagênese de inserção, e, recentemente, houve algum sucesso com a terapia genética, especialmente para ADA-SCID.

## Imunodeficiências adquiridas (secundárias)

As deficiências do sistema imunológico, muitas vezes se desenvolvem devido a normalidades que não são genéticas, mas adquiridas durante a vida (Tabela 21-6). Doenças de imunodeficiência adquirida são causadas por diversos mecanismos patogênicos. Em primeiro lugar, a imunossupressão pode ocorrer como uma complicação biológica de outro processo de doença. Em segundo lugar, as chamadas imunodeficiências iatrogênicas podem se desenvolver como complicações do tratamento de outras doenças. Em terceiro lugar, a imunodeficiência pode ser adquirida por uma infecção que depleta as células do sistema imune. A mais importante delas é a infecção pelo HIV, que será descrita mais adiante separadamente neste capítulo.

**Tabela 21-6**

### Imunodeficiências Adquiridas

Causa	Mecanismo
Infecção pelo HIV	Depleção de células T CD4+
Desnutrição proteico-calórica	Desarranjo metabólico inibe a maturação e a função dos linfócitos
Irradiação e quimioterapia para o câncer	Diminuição de precursores dos linfócitos na medula óssea
Metástases do câncer e leucemia envolvendo a medula óssea	Redução do desenvolvimento de leucócitos
Imunossupressão para transplantes, doenças autoimunes	Redução da ativação de linfócitos, bloqueio de citocinas, problemas no trânsito de leucócitos
Remoção do baço	Diminuição da fagocitose de microrganismos

**Doenças nas quais a imunodeficiência é um elemento complicador frequente incluem desnutrição, neoplasias e infecções.** A desnutrição proteico-calórica é comum nos países em desenvolvimento e está associada à imunidade celular e humoral diminuída contra microrganismos. Grande parte da morbidade e mortalidade que atingem as pessoas desnutridas deve-se a infecções. A base para a imunodeficiência não está bem definida, mas é razoável presumir que os distúrbios metabólicos globais nestes indivíduos, causados pela ingestão deficiente de proteína, gordura, vitaminas, minerais afeta de forma adversa a maturação e a função das células do sistema imune.

Os pacientes com câncer generalizado avançado, geralmente, são suscetíveis à infecção por causa do comprometimento da resposta imune celular e humoral contra vários organismos. Tumores da medula óssea, incluindo os cânceres metastáticos para a medula óssea e as leucemias que se desenvolvem na medula, podem interferir no crescimento e desenvolvimento dos linfócitos e outros leucócitos. Além disso, os tumores podem produzir substâncias que interferem no desenvolvimento ou na função dos linfócitos. Um exemplo de imunodeficiência associada à malignidade é o comprometimento da função das células T, normalmente observada em pacientes com um tipo de linfoma chamado de doença de Hodgkin. Os pacientes são

incapazes de produzir reações DTH à injeção intradérmica de vários antígenos comuns aos quais foram previamente expostos, como *Candida* ou o toxoide tetânico. Outras medidas *in vitro* da função das células T, como a resposta proliferativa a ativadores policlonais, também são defeituosas nos pacientes com doença de Hodgkin. Esta deficiência generalizada nas respostas imunes mediadas por células tem sido chamada de anergia. A causa destas anormalidades das células T é desconhecida.

Vários tipos de infecções levam à imunossupressão. Alguns vírus, além do HIV, são conhecidos por prejudicar as respostas imunes; exemplos deles incluem o vírus do sarampo e o vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1). Ambos os vírus podem infectar os linfócitos, o que pode ser a base para os seus efeitos imunossupressores. Tal como o HIV, o HTLV-1 é um retrovírus com tropismo para as células T CD4<sup>+</sup>; no entanto, em vez de matar as células T auxiliares, ele as transforma e produz uma neoplasia maligna agressiva chamada de leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL). Os pacientes com ATL normalmente desenvolvem uma imunossupressão grave, com múltiplas infecções oportunistas. Infecções crônicas por *Mycobacterium tuberculosis* e vários fungos frequentemente resulta em anergia para muitos antígenos. Infecções parasitárias crônicas também podem levar à imunossupressão. Por exemplo, as crianças africanas com malária crônica apresentam depressão da função das células T, e isso pode ser uma razão pela qual estas crianças têm maior propensão a desenvolver tumores malignos associados ao EBV.

***A imunossupressão iatrogênica é mais frequentemente causada por terapias com fármacos que eliminam linfócitos ou os inativam funcionalmente.*** Alguns fármacos são administrados intencionalmente para imunossuprimir os pacientes, seja para o tratamento de doenças inflamatórias ou para evitar a rejeição de aloenxertos de órgãos. Os medicamentos anti-inflamatórios e imunossupressores mais comumente utilizados são os corticosteroides e a ciclosporina, respectivamente, mas atualmente muitos outros estão sendo amplamente utilizados (Caps. 17 e 19). Vários fármacos hemoterápicos são administrados a pacientes com câncer, e estes medicamentos geralmente são citotóxicos para proliferação de células, incluindo linfócitos maduros e em desenvolvimento, bem como para outros precursores de leucócitos. Assim, quimioterapia para o câncer é quase sempre acompanhada por um período de imunossupressão e risco de infecção. A imunossupressão iatrogênica e os tumores que envolvem a medula óssea são as causas mais comuns de imunodeficiência nos países desenvolvidos.

Uma outra forma de imunodeficiência adquirida é causada pela ausência do baço, que pode acontecer por remoção cirúrgica do órgão após um trauma, bem como pelo tratamento de certas doenças hematológicas, ou por infarto na doença das células falciformes. Pacientes sem baço são mais susceptíveis a infecção por alguns



organismos, especialmente bactérias encapsuladas, como *Streptococcus pneumoniae*. Esta susceptibilidade aumentada deve-se, em parte, ao defeito na eliminação fagocitária de microrganismos opsonizados transmissíveis pelo sangue, uma importante função fisiológica do baço, e em parte, deve-se às respostas de anticorpos defeituosas resultantes da ausência de células B da zona marginal.

## Vírus da imunodeficiência humana e a síndrome da imunodeficiência adquirida

A AIDS é uma doença causada pela infecção com HIV e caracteriza-se por uma profunda imunossupressão acompanhada por infecções oportunistas e tumores malignos, emaciação e degeneração do sistema nervoso central (SNC). O HIV infecta vários tipos de células do sistema imunológico, incluindo células T CD4<sup>+</sup> auxiliares, macrófagos e células dendríticas. O HIV evoluiu como um patógeno humano muito recentemente em relação à maioria dos outros patógenos humanos conhecidos e a epidemia do HIV só foi identificada pela primeira vez em 1980. No entanto, o grau de morbidade e mortalidade causado pelo HIV e o impacto global desta infecção em relação a recursos da saúde e da economia já são enormes e continuam a crescer. O HIV já infectou entre 50 a 60 milhões de pessoas e causou a morte de mais de 25 milhões de adultos e crianças. Aproximadamente 35 milhões de pessoas vivem com a infecção pelo HIV e AIDS, dos quais aproximadamente 70% estão na África e 20% na Ásia, e quase 1-2.000.000 morrem devido à doença a cada ano. A doença é particularmente devastadora porque cerca de metade dos aproximadamente 3 milhões de novos casos anuais ocorrem em adultos jovens (entre 15 e 24 anos de idade). A AIDS deixou cerca de 14 milhões de órfãos. Atualmente, não existe vacina ou cura permanente para a AIDS, mas existem medicamentos antirretrovirais bastante eficazes desenvolvidos, que são capazes de controlar a infecção. Nesta seção do capítulo, descrevemos as propriedades do HIV, a patogênese da imunodeficiência induzida pelo HIV, e as características clínicas e epidemiológicas de doenças relacionadas ao HIV.

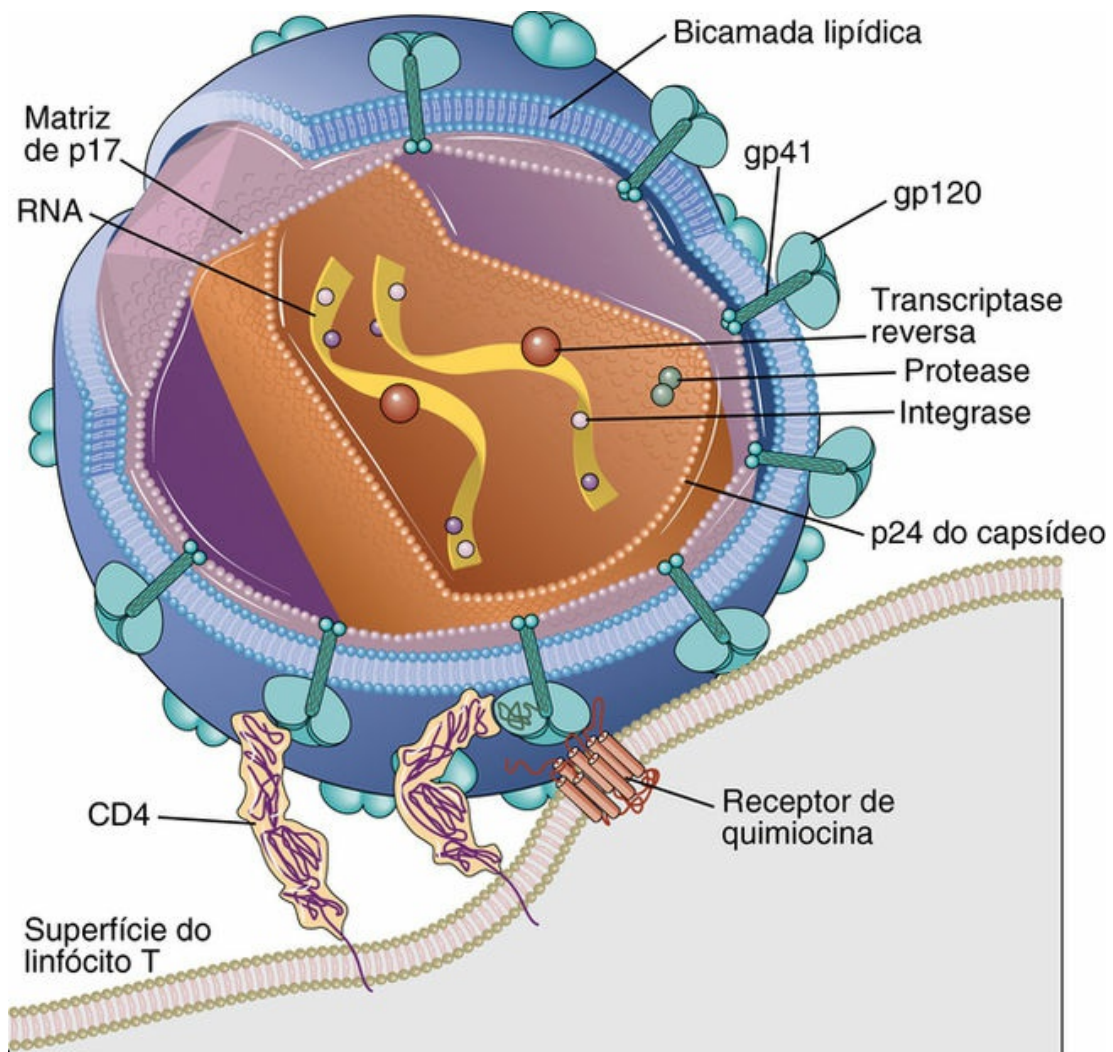
## Características Moleculares e Biológicas do HIV

O HIV é um membro da família dos Lentivírus de retrovírus animais. Os Lentivírus, incluindo o vírus Visna dos ovinos e bovinos, felinos, e o vírus da imunodeficiência simia, são capazes de desencadear uma infecção latente de longo prazo nas células e efeitos citopáticos de curto prazo, e todos eles são causadores de doenças fatais de progressão lenta, que incluem síndromes de emaciação e degeneração do SNC. Dois tipos de HIV intimamente relacionados, denominados de HIV-1 e HIV-2, foram identificados. O HIV-1 é, de longe, a causa mais comum de AIDS; o HIV-2, que é diferente na sua estrutura genômica e antigenicidade, causa uma forma de AIDS de

progressão mais lenta do que a doença desencadeada pelo HIV-1.

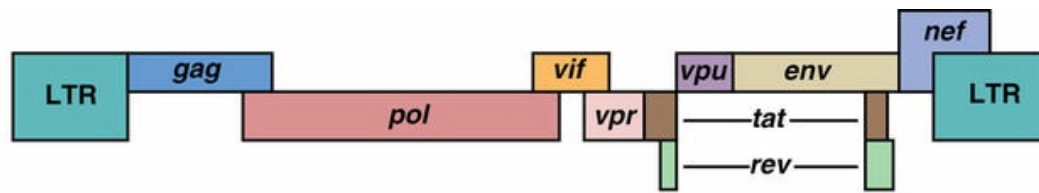
## **Estrutura e Genes do HIV**

Uma partícula infecciosa do HIV consiste em duas cadeias idênticas de RNA acondicionadas dentro de um núcleo de proteínas virais, circundado por um envelope composto por uma bicamada fosfolipídica derivada da membrana da célula hospedeira, mas com inclusões de proteínas de membrana codificadas pelo vírus (Fig. 21-3). O genoma de RNA do HIV é de aproximadamente 9,2 kb de comprimento e apresenta um arranjo básico de sequências de ácido nucleico característico de todos os retrovírus conhecidos (Fig. 21-4). Repetições terminais longas (LTR) em cada extremidade do genoma regulam a expressão dos genes virais, a integração viral no genoma do hospedeiro, e a replicação viral. A sequência *gag* codifica proteínas estruturais do núcleo. A sequência *env* codifica glicoproteínas gp120 e gp41 do envelope, que não estão covalentemente associadas uma à outra e são necessárias para a infecção das células. A sequência *pol* codifica as enzimas virais transcriptase reversa, integrase e protease, que são necessárias para a replicação viral. Além destes genes, como nos retrovírus típicos, o genoma do HIV-1 contém seis outros genes reguladores, ou seja, os genes *tat*, *rev*, *vif*, *nef*, *vpr*, *vpu*, cujos produtos regulam a replicação viral e a evasão imune ao hospedeiro de várias formas. As funções destes genes estão resumidas na Figura 21-4 e discutidas mais adiante.



**FIGURA 21-3** Estrutura do HIV-1.

A figura exibe um vírion do HIV-1 próximo da superfície de uma célula T. O HIV-1 consiste em duas fitas idênticas de RNA (genoma viral) e enzimas associadas, incluindo a transcriptase reversa, integrase e protease, acondicionadas em um cerne em forma de cone composto pela proteína do capsídeo p24, envolvida por uma proteína de matriz p17, e toda estrutura circundada por um envelope fosfolipídico derivado da membrana das células do hospedeiro. As proteínas da membrana codificadas pelo vírus (gp41 e gp120) estão ligadas ao envelope. Receptores de CD4 e de quimiocinas na superfície da célula do hospedeiro agem como receptores do HIV-1. (© 2000 Terese Winslow.)



- LTR** Transcrição do genoma viral; integração do DNA viral no genoma da célula hospedeira; local de ligação para fatores de transcrição do hospedeiro
- gag** Proteínas do centro do nucleocapsídeo e da matriz
- pol** Transcriptase reversa, protease, integrase e ribonuclease
- env** Proteínas do envelope viral (gp120 e gp41)
- vif** Supera os efeitos inibidores das enzimas da células hospedeira (APOBEC3G), promove a replicação viral
- vpr** Aumenta replicação viral; promove infecção dos macrófagos pelo HIV; bloqueia progressão do ciclo celular
- tat** Necessária para alongamento dos transcritos virais
- rev** Promove a exportação nuclear de RNAs virais incompletas
- vpu** Regula de forma inibitória a expressão da célula CD4 do hospedeiro; acentua a liberação dos vírus das células; neutraliza o fator de restrição teterina do hospedeiro
- nef** Regula de forma inibitória a expressão da célula CD4 e do MHC de classe I do hospedeiro; acentua a sinalização intracelular para facilitar a replicação viral

**FIGURA 21-4** Genoma do HIV.

Os genes ao longo do genoma linear estão representados por blocos de diferentes cores. Alguns genes usam uma parte da mesma sequência de outros genes, como indicado pelos blocos sobrepostos, mas são lidos de forma diferente pela RNA polimerase da célula hospedeira. De forma semelhante, os blocos sombreados separados por linhas indicam genes cujas sequências de codificação são separadas no genoma e requerem o *splicing* de RNA para produzir um RNA funcional. *env*, envelope; *gag*, antígeno específico do grupo; *LTR*, repetição terminal longa; *nef*, efector negativo; *pol*, polimerase; *rev*, regulador da expressão de genes virais; *tat*, ativador transcricional; *vif*, fator de infecciosidade viral; *vpr*, proteína R viral; *vpu*, proteína viral u.

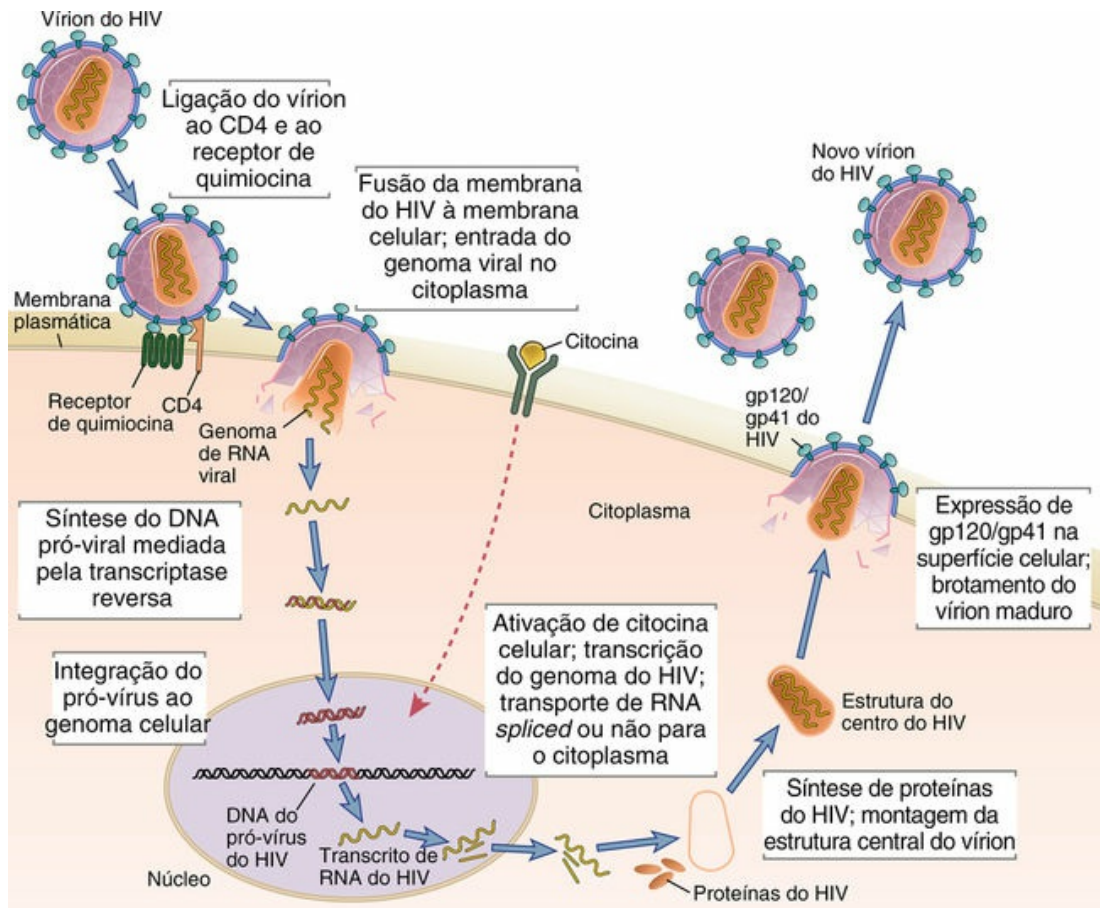
(Modificado de Greene W: *AIDS and the immune system*. Copyright © 1993 by Scientific American, Inc. Todos os direitos reservados.)

## Ciclo de Vida Viral

**A infecção das células pelo HIV inicia-se quando a glicoproteína do envelope gp120 do vírus liga-se a duas proteínas da célula hospedeira, ao CD4 e um correceptor que é um membro da família de receptores de quimiocinas (Fig. 21-5).** As partículas virais que iniciam a infecção geralmente estão presentes no

sangue, sêmen ou outros fluidos corporais de um indivíduo e são introduzidas em outro indivíduo pelo contato sexual, perfuração por agulha ou passagem transplacentária. O complexo de glicoproteína do envelope viral, chamado *Env*, é composto por uma subunidade gp41 transmembranar e uma subunidade gp120 externa, associados de forma não covalente. Estas subunidades são produzidas por clivagem proteolítica de um precursor de gp160. O complexo *Env* é expresso como uma estrutura trimérica de três pares de gp120/gp41. Este complexo medeia um processo de múltiplas etapas da fusão do envelope do vírion à membrana da célula-alvo (Fig. 21-6). O primeiro passo deste processo é a ligação das subunidades de gp120 a moléculas CD4, o que induz uma alteração conformacional que promove a ligação secundária de gp120 a um correceptor de quimiocinas. A ligação ao correceptor induz uma alteração conformacional em gp41 que expõe uma região hidrofóbica, chamada de peptídeo de fusão, que se insere na membrana celular, permitindo que a membrana viral se una à membrana da célula-alvo. Após o vírus completar o seu ciclo de vida na célula infectada (descrito mais adiante), as partículas virais livres são liberadas da célula infectada e se ligam a uma célula não infectada, propagando assim a infecção. Além disso, a gp120 e a gp41, que são expressas na membrana plasmática das células infectadas antes de o vírus ser liberado, podem servir como mediadores da fusão célula-célula com uma célula não infectada que expressa CD4 e correceptores, e, então, o genoma do HIV pode ser repassado entre as células fusionadas diretamente.

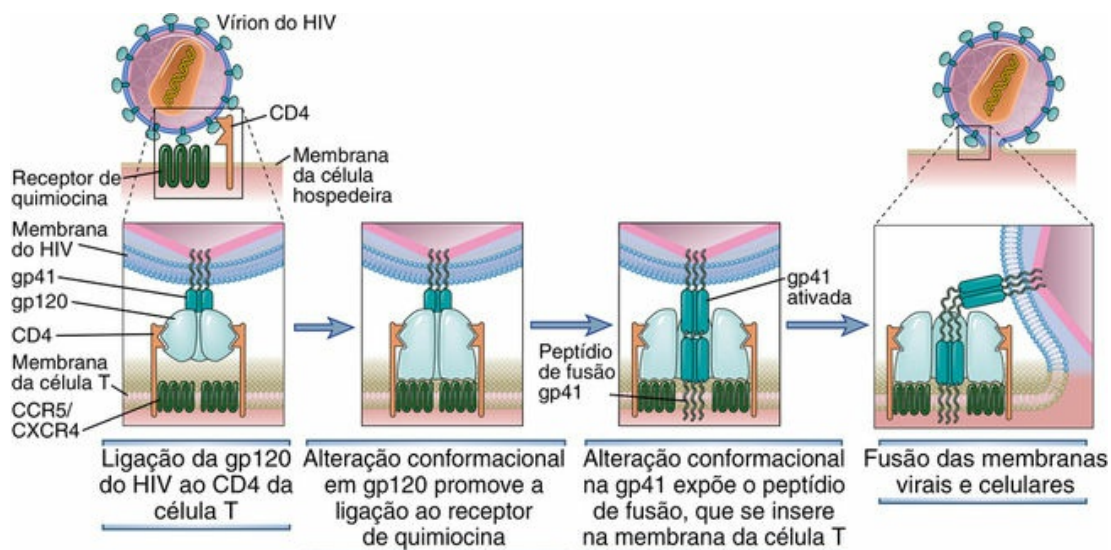




**FIGURA 21-5** Ciclo de vida do HIV.

As etapas sequenciais do ciclo de vida do HIV são exibidas, desde a infecção inicial de uma célula do hospedeiro até a replicação viral e liberação de um novo vírion. Para fins didáticos, foi demonstrada a produção e a liberação de somente um vírion. Uma célula infectada normalmente produz muitos vírions, e cada um deles é capaz de infectar células e ampliar o ciclo infeccioso.





**FIGURA 21-6** Mecanismo de entrada do HIV em uma célula.

No modelo apresentado, alterações conformacionais sequenciais em gp120 e em gp41 são induzidas pela ligação ao CD4. Estas alterações promovem a ligação do vírus ao correceptor (um receptor de quimiocina) e a fusão do HIV-1 com as membranas da célula hospedeira. O peptídeo de fusão da gp41 ativada contém resíduos de aminoácidos hidrofóbicos que são mediadores da inserção na membrana plasmática da célula do hospedeiro.

**Os receptores de quimiocinas mais importantes que agem como correceptores para o HIV são o CXCR4 e o CCR5.** Já foi demonstrado que mais de sete receptores de quimiocinas servem como correceptores para a entrada do HIV nas células e várias outras proteínas que pertencem à família do receptor acoplado a proteína G que atravessa a membrana sete vezes, como o receptor do leucotrieno B4, também podem mediar a infecção das células pelo HIV. Diferentes isolados de HIV apresentam tropismos distintos para diferentes populações celulares relacionadas à expressão de diferentes receptores de quimiocina nestas células.

Todas as cepas de HIV podem infectar e replicar em células T CD4<sup>+</sup> humanas isoladas a fresco ativadas *in vitro*. Por outro lado, algumas cepas infectarão culturas primárias de macrófagos humanos, mas não linhagens de células T contínuas (sendo chamados de vírus macrófago-trópico, ou M-trópico), enquanto outras cepas infectarão linhagens de células T, mas não de macrófagos (vírus T-trópico), e algumas infectarão ambas as linhagens de células T e macrófagos (vírus dual-trópico). Isolados de vírus macrófago-trópico expressam uma gp120 que se liga ao CCR5, que é expresso nos macrófagos (e algumas células de T de memória), enquanto os vírus de células T-trópico ligam-se ao CXCR4, que é expresso nas linhagens de células T. Variantes do HIV são descritas como X4 quando se ligam ao CXCR4, R5 quando se ligam ao CCR5, ou R5X4 quando há a capacidade de se ligar a ambos os receptores

de quimiocinas. Em muitos indivíduos infectados pelo HIV, existe uma alteração da produção viral que utiliza o CCR5, predominantemente macrófago-trópico no início da doença para o vírus que se liga a CXCR4 e é T-trópico tardiamente na doença. As cepas T-trópicas tendem a ser mais virulentas, presumivelmente porque elas infectam e destroem mais células T do que as cepas M-trópicas. A importância do CCR5 na infecção pelo HIV *in vivo* é suportada pela descoberta de que os indivíduos que não expressam este receptor na superfície da célula devido a herança homozigota de uma deleção de 32pb no gene *CCR5* são resistentes à infecção pelo HIV.

***Uma vez que um vírion do HIV entra em uma célula, as enzimas do complexo de nucleoproteína tornam-se ativas e iniciam o ciclo replicativo viral (Fig. 21-5).*** O núcleo da nucleoproteína viral rompe-se, há transcrição reversa do genoma de RNA do HIV para uma forma de DNA de cadeia dupla pela transcriptase reversa viral, e o DNA do vírus entra no núcleo. A integrase viral também entra no núcleo e catalisa a integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira. O DNA do HIV integrado é chamado de **provírus**. Os provírus podem permanecer transcricionalmente inativos durante meses ou anos, com pouca ou nenhuma produção de novas proteínas virais ou vírions, e deste modo a infecção pelo HIV de uma célula individual pode permanecer latente.

***A transcrição dos genes do provírus de DNA integrado é regulada pela LTR superior dos genes estruturais virais, e citocinas e outros estímulos que ativam as células T e macrófagos acentuam a transcrição dos genes virais.*** As LTRs contêm sequências de sinal de poliadenilação, a sequência promotora “TATA Box” e os locais de ligação para dois fatores de transcrição da célula hospedeira, NF- $\kappa$ B e SP1. O início da transcrição do gene do HIV nas células T está associado à ativação das células T por antígenos ou citocinas. Por exemplo, ativadores policlonais de células T, como fito-hemaglutinina, e citocinas, como a IL-2, o fator de necrose tumoral (TNF) e a linfotóxina, estimulam a expressão do gene do HIV nas células T infectadas; e IL-1, IL-3, IL -6, TNF, linfotóxina, IFN- $\gamma$ , e o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) estimulam a expressão do gene do HIV e da replicação viral em monócitos e macrófagos infectados. A estimulação de TCR e citocinas para a transcrição de genes do HIV provavelmente envolve a ativação de NF- $\kappa$ B e a sua ligação às sequências em LTR. Este fenômeno é significativo para a patogênese da AIDS porque a resposta normal de uma célula T infectada de forma latente a um microrganismo pode ser a maneira pela qual a latência do HIV é encerrada e a produção de vírus iniciada. Desta forma, as múltiplas infecções que os pacientes com AIDS adquirem, estimulam a produção de HIV e a infecção de células adicionais.

A proteína Tat é necessária para a expressão do gene do HIV e age acentuando a produção de transcritos completos do RNAm viral. Mesmo na presença de sinais perfeitos para iniciar a transcrição, pouca ou nenhuma molécula de RNAm do HIV é, na verdade, sintetizada sem a ação da Tat, porque a transcrição de genes do HIV

pela polimerase de RNA de mamíferos é ineficiente e o complexo da polimerase geralmente termina antes do RNAm estar concluído. A Tat permite que a polimerase de RNA dependente de DNA permaneça ligada à molécula de DNA viral tempo suficiente para a transcrição para ser completada e, portanto, haja produção de um RNAm viral funcional.

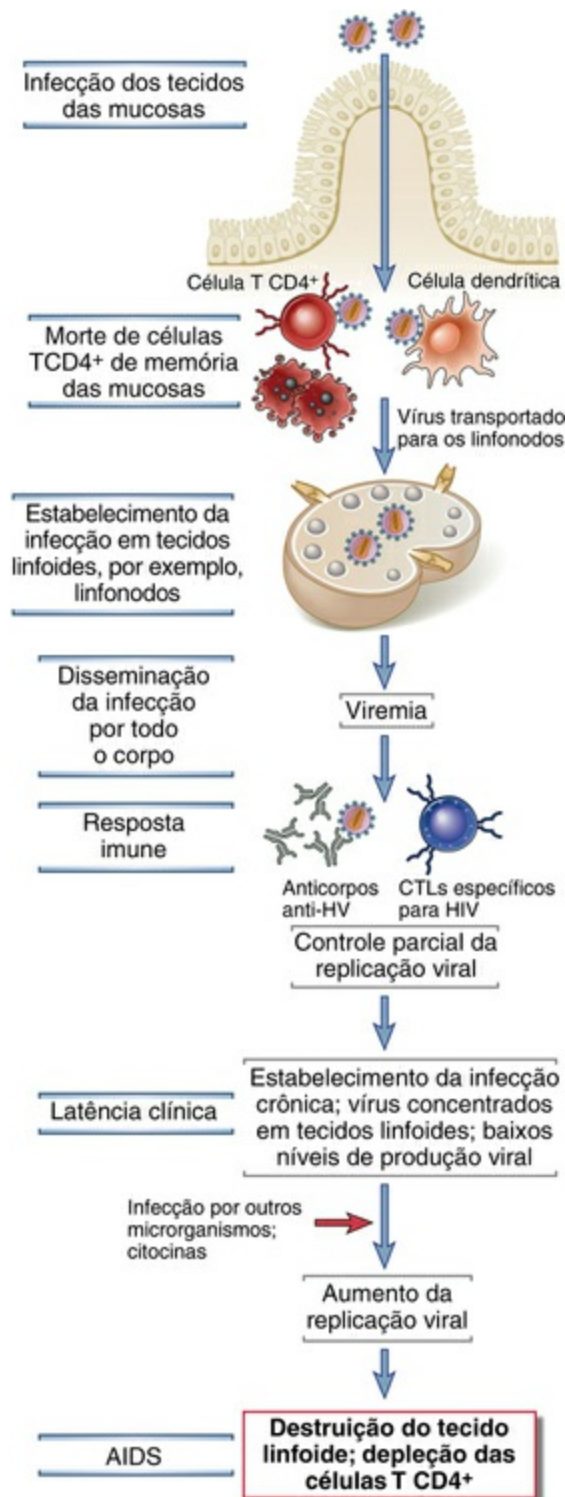
**A síntese de partículas virais infecciosas maduras começa após os transcritos totalmente completos de RNA viral serem sintetizados e os genes virais expressos como proteínas.** Os mRNAs que codificam as várias proteínas do HIV são derivados de um único transcrito completo do genoma por eventos de *splicing* diferencial. A expressão do gene do HIV pode ser dividida em uma fase precoce, durante a qual são expressos os genes reguladores, e uma fase tardia, durante a qual são expressos os genes estruturais e o genoma viral de comprimento total são empacotados. As proteínas Rev, Tat e Nef são produtos de genes precoces codificadas por mRNAs totalmente emendados que são exportados do núcleo e traduzidos em proteínas no citoplasma logo após a infecção de uma célula. Os genes tardios incluem os genes *env*, *gag* e *pol*, que codificam os componentes estruturais dos vírus e são traduzidos a partir de um único RNA unido ou isolado. A proteína Rev inicia a mudança da expressão de genes precoces para tardios, promovendo a exportação destes RNAs dos genes tardios ligados incompletamente para fora do núcleo. O produto do gene *pol* é uma proteína precursora que é sequencialmente clivada para formar as enzimas transcriptase reversa, protease, ribonuclease e integrase. Como mencionado anteriormente, as proteínas da transcriptase reversa e da integrase são necessárias para a produção de uma cópia de DNA do genoma a partir do RNA viral e por sua integração como provírus no genoma do hospedeiro. O gene *gag* codifica uma proteína de 55-kDa que é clivada proteoliticamente para p24, p17, p15 e polipeptídeos pela ação da protease viral codificada pelo gene *pol*. Estes polipeptídeos são as proteínas do núcleo necessárias para a montagem das partículas virais infecciosas. O produto primário do gene *env* é uma glicoproteína de 160 kDa (gp160) que é clivada por proteases celulares no retículo endoplasmático para as proteínas gp120 e gp41 necessárias para a ligação do HIV às células, como discutido anteriormente. Atualmente, a terapia antirretroviral para o HIV inclui inibidores das enzimas transcriptase reversa, protease e integrase.

Após a transcrição de vários genes virais, são sintetizadas as proteínas virais no citoplasma. A montagem das partículas virais infecciosas, a seguir, inicia-se pelo acondicionamento dos transcritos completos de RNA do genoma proviral dentro de um complexo de nucleoproteína que inclui as proteínas do núcleo codificadas por *gag* e enzimas codificadas por *pol* necessárias para o próximo ciclo de integração. Este complexo de nucleoproteína então brota através da membrana plasmática, capturando Env e glicoproteínas do hospedeiro como parte de seu envelope. A taxa de produção de vírus pode atingir níveis suficientemente altos para causar morte celular, como discutido mais adiante.

Fatores de restrição do hospedeiro inibem a infecção viral e muitas proteínas virais evoluíram para combater estes fatores de restrição. Um fator do hospedeiro que impede a liberação do vírion em certos tipos de células é uma proteína chamada teterina. A teterina evita a pressão de certos vírus, inclusive do HIV, e a inibição do processo de brotamento pode ser antagonizado por uma proteína do HIV chamada Vpu. As células hospedeiras incorporam certos fatores de restrição nas partículas virais, incluindo proteínas APOBEC3 (enzima catalítica polipeptídica 3 de edição de mRNA da apolipoproteína B). Estas proteínas do hospedeiro são citidinas desaminases que interferem na replicação viral nas células infectadas. A proteína Vif do HIV auxilia as proteínas-alvo APOBEC3 para ubiquitinação e degradação proteossomal e, assim, promove a replicação viral. Nas células infectadas, outro fator de restrição do hospedeiro importante é a TRIM5 $\alpha$  da família Tripartite Motif (TRIM) de ubiquitina ligases E3. A TRIM5 $\alpha$  interage com as proteínas do capsídeo do HIV causando o desnudamento prematuro do vírus e degradação proteossômica do complexo da transcriptase reversa viral. Ela também pode bloquear a translocação nuclear dos complexos virais de pré-integração.

## Patogênese da Infecção pelo HIV e AIDS

***A doença causada pelo HIV começa com uma infecção aguda, que é apenas parcialmente controlada pela resposta imune do hospedeiro, e avança para uma infecção crônica progressiva de tecidos linfoides periféricos (Fig. 21-7). O vírus, normalmente, penetra através de epitélios da mucosa. Os eventos subsequentes à infecção podem ser divididos em várias fases.***



**FIGURA 21-7** Progressão da infecção pelo HIV.

A progressão da infecção pelo HIV se relaciona com a disseminação do vírus a partir do local da infecção inicial para tecidos linfóides por todo o corpo. A resposta imune do hospedeiro controla temporariamente a infecção aguda, mas não evita o estabelecimento da infecção crônica das células do tecido linfóide. O estímulo das citocinas induzido por outros

microrganismos acentuam a produção do HIV e a progressão para a AIDS.

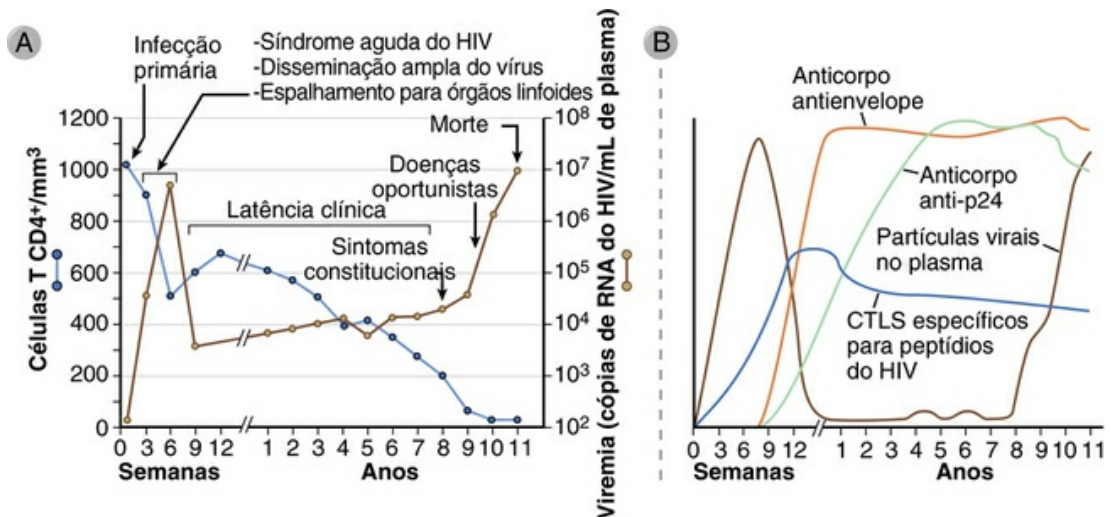
***A infecção aguda (inicial) caracteriza-se pela infecção das células T de memória CD4<sup>+</sup> em tecidos linfoides das mucosas e morte de muitas células infectadas.*** Como os tecidos da mucosa constituem o maior reservatório de células T no corpo e o principal reservatório das células T de memória, esta perda local se reflete em uma depleção considerável de linfócitos. Na verdade, cerca de duas semanas após a infecção, uma grande fração de células T CD4<sup>+</sup> pode estar destruída.

***A transição da infecção da fase aguda para a fase crônica é acompanhada pela disseminação do vírus, viremia e o desenvolvimento de respostas imunes pelo hospedeiro.*** As células dendríticas do epitélio no local de entrada viral captura o vírus e, em seguida, migram para os linfonodos. As células dendríticas expressam uma proteína com um domínio de lectina ligante de manose, chamada de DC-SIGN, que pode ser particularmente importante na ligação do envelope do HIV e no transporte do vírus. Uma vez nos tecidos linfoides, as células dendríticas podem transmitir o HIV aos linfócitos T CD4<sup>+</sup> por contato direto célula-célula. Após alguns dias a primeira exposição ao HIV, a replicação viral pode ser detectada nos linfonodos. Esta replicação causa viremia, quando há um grande número de partículas do HIV presentes no sangue do paciente, acompanhada por uma síndrome aguda do HIV, que inclui vários sinais e sintomas inespecíficos típicos de muitas infecções virais (descritos mais adiante). A viremia permite que o vírus se dissemine por todo o corpo e infecte as células T auxiliares, macrófagos e células dendríticas nos tecidos linfoides periféricos. À medida que a infecção pelo HIV se espalha, o sistema imune adquirido desenvolve respostas imunes humoral e celular direcionadas aos antígenos virais, descritos mais adiante. Estas respostas imunes controlam parcialmente a infecção e a produção viral, e este controle reflete-se em diminuição da viremia para níveis baixos, mas detectáveis, aproximadamente 12 semanas após a exposição primária.

***Na fase seguinte da doença, a fase crônica, o baço e os linfonodos constituem locais de replicação contínua do HIV e de destruição celular (Fig. 21-7).*** Durante este período da doença, o sistema imune permanece capaz de combater a maioria das infecções por microrganismos oportunistas, e poucas ou nenhuma manifestação clínica da infecção pelo HIV está presente. Portanto, esta fase da infecção pelo HIV é chamada de período de latência clínica. Embora a maioria das células T do sangue periférico não abrigue o vírus, a destruição das células T CD4<sup>+</sup> no interior de tecidos linfoides progride de forma constante durante o período latente e o número de células T CD4<sup>+</sup> sanguíneas circulantes declina constantemente (Fig. 21-8). Mais de 90% das cerca de 10<sup>12</sup> células T do organismo normalmente são encontradas em tecidos linfoides periféricos e das mucosas, e estima-se que o HIV



destrua até  $1 \text{ a } 2 \times 10^9$  células T CD4<sup>+</sup> por dia. No início da doença, o indivíduo pode continuar produzindo novas células T CD4<sup>+</sup>, e, portanto, estas células podem ser substituídas quase tão rapidamente quanto são destruídas. Nesta fase, até 10% das células T CD4<sup>+</sup> dos órgãos linfoides podem estar infectadas, mas o número de células T CD4<sup>+</sup> circulante que está infectado pode ser inferior a 0,1% do total de células T CD4<sup>+</sup> de um indivíduo. Por fim, ao longo de anos, o ciclo contínuo de infecção pelo vírus, morte de células T e nova infecção leva a uma perda considerável de células T CD4<sup>+</sup> dos tecidos linfoides e circulantes.



**FIGURA 21-8** Evolução clínica da doença causada pelo HIV.

**A.** Viremia plasmática, contagem de células T CD4<sup>+</sup> no sangue e estágios clínicos da doença. Cerca de 12 semanas após a infecção, a concentração de vírus no sangue (viremia plasmática) é reduzida para níveis muito baixos (detectável apenas por ensaios sensíveis de reação em cadeia da polimerase da transcriptase reversa) e assim permanecem por muitos anos. Contudo, a contagem de células T CD4<sup>+</sup> continua a declinar durante este período de latência clínica porque há replicação viral ativa e infecção de células T nos linfonodos. Quando a contagem de células T CD4<sup>+</sup> está

abaixo de um determinado nível crítico (cerca de 200/mm<sup>3</sup>), o risco de infecção e outras características clínicas da AIDS é alto. **B.** Resposta imune a infecção pelo HIV. A resposta de CTLs contra o HIV é detectável em 2 ou 3 semanas após a infecção inicial e atinge seu pico entre 9 e 12 semanas. Uma expansão expressiva de células T CD8<sup>+</sup> específicas para o vírus ocorre durante este período e até 10% dos CTLs do paciente podem ser específicos para o HIV em 12 semanas.

O pico da resposta imune humoral ao HIV ocorre aproximadamente 12 semanas após a infecção inicial. (**A**, De Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS: New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection, *New England Journal of Medicine* 328:327-335, 1993. Copyright © 1993 Massachusetts Medical Society.

Todos os direitos reservados.)

## **Mecanismos de Imunodeficiência Causada pela Infecção pelo HIV**

O HIV causa problemas tanto na função imune adaptativa como na inata. Os defeitos mais proeminentes pertencem à imunidade mediada por células, o que pode ser atribuído a vários mecanismos, inclusive aos efeitos citopáticos diretos e indiretos do vírus. Os efeitos indiretos podem ser especialmente importantes na patogênese da infecção pelo HIV, porque muitas ou mesmo a maioria das células T infectadas pode ser abortivamente infectada, de tal modo que não há nenhuma produção viral e nenhum efeito citopático direto.

***Uma causa importante da perda de células T CD4<sup>+</sup> em pessoas infectadas pelo HIV é o efeito direto da infecção viral nestas células.*** A morte das células T CD4<sup>+</sup> está associada à produção de vírus nas células infectadas e é uma das principais causas da diminuição do número destas células, em especial na fase inicial (aguda) da infecção. Vários efeitos tóxicos diretos do HIV nas células T CD4<sup>+</sup> infectadas foram descritos.

- O processo de produção viral, com a expressão da gp41 na membrana plasmática e o brotamento de partículas virais, pode levar a um aumento da permeabilidade da membrana plasmática e influxo de quantidades letais de cálcio, o que induz apoptose ou lise osmótica da célula causada pelo influxo de água.
- A produção viral pode interferir na síntese proteica celular e, assim, levar à morte da célula.
- A infecção não citopática (abortiva) do HIV ativa a via do inflamassoma e desencadeia uma forma de morte celular chamada de piroptose. Durante este processo, as citocinas inflamatórias e os conteúdos celulares são liberados, levando ao recrutamento de novas células e aumento do número de células que podem ser infectadas. Esta forma de morte celular pode desempenhar um papel importante não só na destruição das células infectadas, mas também na propagação da infecção.
- As membranas plasmáticas das células T infectadas pelo HIV fusionam-se com as das células T CD4<sup>+</sup> não infectadas devido a interações gp120-CD4, e há formação de células gigantes multinucleadas ou sincícios. O processo de formação de sincícios induzido pelo HIV pode ser letal para as células T infectadas, bem como para as células T CD4<sup>+</sup> não infectadas pelo vírus que se fundem às células infectadas. No entanto, este fenômeno tem sido amplamente observado *in vitro*, e os sincícios raramente são vistos nos tecidos de pacientes com AIDS.

***Mecanismos adicionais de morte de células T CD4<sup>+</sup> infectadas pelos vírus foram propostos para a depleção e perda da função destas células em indivíduos infectados pelo HIV.*** Um dos mecanismos está relacionado a ativação crônica de células não infectadas pelas infecções que são comuns em pacientes infectados pelo HIV e também pelas citocinas produzidas em resposta a estas

infecções. A ativação crônica das células T pode predispor-las à apoptose; a via molecular envolvida neste tipo de morte celular induzida pela ativação ainda não está definida. A morte de linfócitos ativados por apoptose pode ser responsável pela observação de que a perda das células T excede em muito o número de células infectadas pelo HIV. CTLs específicos para o HIV estão presentes em muitos pacientes com AIDS, e estas células podem matar as células T CD4<sup>+</sup> infectadas. Além disso, anticorpos contra as proteínas do envelope do HIV podem se ligar às células T CD4<sup>+</sup> infectadas e as marcar para a citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos. A ligação da gp120 ao CD4 intracelular recém-sintetizado pode interferir no processamento normal de proteínas no retículo endoplasmático e bloquear a expressão do CD4 na superfície celular, tornando as células incapazes de responder à estimulação antigênica. Também tem sido sugerido que a maturação das células T CD4<sup>+</sup> no timo torne-se defeituosa em indivíduos infectados. A importância relativa destes mecanismos indiretos de depleção das células T CD4<sup>+</sup> em pacientes infectados pelo HIV é incerto e controverso.

***Defeitos funcionais do sistema imune em indivíduos infectados pelo HIV agravam a deficiência imunológica causada pela depleção das células T***

**CD4<sup>+</sup>**. Estes defeitos funcionais incluem a diminuição das respostas das células T aos antígenos e fraca resposta imune humoral, mesmo com níveis totais elevados de Ig sérica. Os defeitos podem ser resultantes dos efeitos diretos da infecção pelo HIV nas células T CD4<sup>+</sup>, incluindo os efeitos da gp120 solúvel liberada pelas células infectadas que se ligam às células não infectadas. Por exemplo, o CD4 que se ligou a gp120 pode não estar disponível para interagir com as moléculas do MHC de classe II nas APCs, e, desta forma, a resposta das células T aos antígenos seria inibida. Como alternativa, a ligação do CD4 à gp120 pode fornecer sinais que regulam negativamente a função das células T auxiliares. As células T infectadas pelo HIV são incapazes de formar sinapses fortes com as APCs e isso também pode interferir na ativação das células T. Alguns estudos têm demonstrado que os pacientes infectados pelo HIV apresentam aumento no número de células T reguladoras CD4<sup>+</sup> e CD25<sup>+</sup>, mas ainda não foi esclarecido se este é um achado consistente ou se estas células contribuem realmente para os defeitos da imunidade.

A proteína Tat pode ter alguma participação na patogênese da imunodeficiência causada pelo HIV. Dentro das células T, a Tat pode interagir com várias proteínas reguladoras, e estas interações podem interferir nas funções das células T normais, como a síntese de citocinas. Notavelmente, Tat não só entra no núcleo das células T infectadas, como também pode escapar através da membrana plasmática e entrar nas células vizinhas, interferindo assim na ativação das células T não infectadas de forma parácrina.

***Os macrófagos, as células dendríticas e as células dendríticas foliculares***

**podem ser infectadas ou lesadas pelo HIV, e as suas anormalidades contribuem para a progressão da imunodeficiência.**

- Os macrófagos expressam níveis muito mais baixos de CD4 do que os linfócitos T auxiliares, mas eles expressam os correceptores CCR5, sendo suscetíveis à infecção pelo HIV. No entanto, os macrófagos são relativamente resistentes aos efeitos citopáticos do HIV. Os macrófagos também podem ser infectados por uma via independente da gp120/gp41, como fagocitose de outras células infectadas ou endocitose mediada pelo receptor Fc de víriões do HIV cobertos por anticorpos. Como os macrófagos podem ser infectados, mas, geralmente, não são destruídos pelo HIV, eles podem se tornar um reservatório viral. Na verdade, a quantidade de HIV associada aos macrófagos excede a quantidade de vírus associado às células T na maioria dos tecidos de pacientes com AIDS, incluindo o cérebro e os pulmões. Os macrófagos infectados pelo HIV podem ter a função de apresentação de antígenos e secreção de citocinas deficiente.
- As células dendríticas também podem ser infectadas pelo HIV. Como os macrófagos, as células dendríticas não são diretamente danificadas pela infecção do HIV. No entanto, estas células apresentam um contato íntimo com as células T inativas (*naïves*) no decorrer da apresentação do antígeno. Sugere-se que as células dendríticas infectam as células T inativas (*naïves*) durante estes encontros, podendo constituir uma via de propagação da infecção.
- As células dendríticas foliculares (CDFs) nos centros germinativos dos linfonodos e no baço aprisionam grandes quantidades de HIV em suas superfícies, em parte pela ligação, mediada por receptores Fc, aos vírus cobertos de anticorpos. Embora as CDFs não sejam eficientemente infectadas, elas contribuem para a patogênese da imunodeficiência associada ao HIV, pelo menos, de duas maneiras. Em primeiro lugar, a superfície das CDFs constitui um reservatório para o HIV que pode infectar os macrófagos e células T CD4<sup>+</sup> nos linfonodos. Em segundo lugar, as funções normais das CDFs nas respostas imunes estão prejudicadas, e elas podem, eventualmente, ser destruídas pelo vírus. Embora os mecanismos de morte das CDFs induzidos pelo HIV não sejam compreendidos, o resultado da perda da rede de CDFs nos linfonodos e baço é uma profunda dissolução da arquitetura do sistema linfoide periférico.

## **Reservatórios do HIV e Renovação Viral**

**Os vírus detectados no sangue dos pacientes são produzidos principalmente pelas células T CD4<sup>+</sup> infectadas de vida curta e em menores quantidades por outras células infectadas.** Três fases de redução da viremia plasmática têm sido observadas nos pacientes tratados com fármacos antirretrovirais ou previstos por modelos matemáticos, e estas curvas de redução foram usadas para deduzir a distribuição do HIV em diferentes reservatórios celulares. Acredita-se que mais de

90% dos vírus encontrados no plasma sejam produzidos por células de vida curta (meia-vida de ~1 dia), que provavelmente são células T CD4<sup>+</sup> ativadas, principais reservatórios e fontes de vírus nos pacientes infectados. Cerca de 5% do vírus no plasma é produzido por macrófagos, que apresentam um tempo de renovação mais lento (meia-vida de cerca de 2 semanas). Suspeita-se, também, que haja uma pequena fração do vírus, talvez cerca de 1%, presente em células de memória T infectadas de forma latente. Devido ao ciclo de vida longo das células de memória, pode demorar décadas para que este reservatório viral seja eliminado, mesmo que todos os novos ciclos de infecção sejam bloqueados.

## Características Clínicas da Doença Causada pelo HIV

Há uma grande quantidade de informação acumulada sobre a epidemiologia e a progressão clínica da infecção pelo HIV. À medida que a terapia antirretroviral melhora, muitas das manifestações clínicas se alteram. Na seção seguinte, descreveremos as características clássicas da infecção pelo HIV e discutiremos as mudanças, quando relevantes.

### Transmissão do HIV e Epidemiologia da AIDS

O HIV é transmitido de uma pessoa para outra através de três vias principais:

- **O contato sexual é o modo mais frequente de transmissão**, tanto entre casais heterossexuais (o modo mais frequente de transmissão na África e na Ásia) como entre parceiros do sexo masculino homossexuais. Na África Subsaariana, onde a taxa de infecção é a mais alta do mundo (estima-se que surjam cerca de 10.000 novos casos por dia), mais da metade das pessoas infectadas são mulheres.
- **A transmissão do HIV de mãe para filho** é responsável pela maioria dos casos pediátricos de AIDS. Este tipo de transmissão ocorre mais frequentemente na vida intrauterina ou durante o parto, embora a transmissão através do leite materno também seja possível.
- **A inoculação de um receptor com sangue ou hemoderivados infectados** também é um modo frequente de transmissão do HIV. Agulhas compartilhadas por usuários de drogas intravenosas são responsáveis pela maioria dos casos nesta forma de transmissão. Com o advento da triagem laboratorial de rotina, a transfusão de sangue ou hemoderivados em uma clínica é responsável por uma pequena porção de infecções pelo HIV.

### Progressão Clínica da Infecção pelo HIV

A evolução da doença causada pelo HIV pode ser acompanhada por meio da medição da quantidade de vírus no plasma do paciente e pela contagem de células T CD4<sup>+</sup> (Fig. 21-8) no sangue.



- **A fase aguda** da doença, também chamada de síndrome aguda do HIV, é o período de viremia caracterizada por sintomas inespecíficos da infecção. Desenvolve-se em 50% a 70% de adultos infectados, normalmente entre 3 a 6 semanas após a infecção. Há um pico na concentração viral plasmática e uma redução discreta na contagem de células T CD4<sup>+</sup>, mas o número de células sanguíneas T CD4<sup>+</sup> geralmente retorna ao normal. Em muitos pacientes, no entanto, a infecção é oculta e não há nenhuma sintomatologia.
- **A fase crônica da latência clínica** pode durar muitos anos. Durante este tempo, o vírus permanece contido no interior de tecidos linfoides e a perda de células T CD4<sup>+</sup> é corrigida por reconstituição a partir de células progenitoras. Os pacientes permanecem assintomáticos ou apresentam infecções secundárias. Dentro de 2 a 6 meses após a infecção, a concentração viral plasmática se estabiliza em um determinado nível, que difere entre os pacientes. Este nível de concentração viral e o número de células sanguíneas T CD4<sup>+</sup> são preditores clinicamente úteis na progressão da doença. Conforme a doença progride, os pacientes tornam-se suscetíveis a outras infecções e as respostas imunes a estas infecções podem estimular a produção de HIV e acelerar a destruição dos tecidos linfoides. Como discutido anteriormente, a transcrição do gene do HIV pode ser aumentada por estímulos que ativam as células T, como antígenos e várias citocinas. As citocinas, como TNF, que são produzidas durante a resposta imune inata contra as infecções microbianas, são particularmente eficazes no aumento da produção do HIV. Assim, conforme o sistema imune tenta erradicar outros microrganismos, ele causa sua própria destruição pelo HIV.
- **A doença pelo HIV progride para a fase final e, quase que invariavelmente para uma fase fatal, chamada AIDS, quando a contagem de células T CD4<sup>+</sup> diminui para menos de 200 células/mm<sup>3</sup>.** A viremia pode aumentar drasticamente à medida que a replicação viral acelera em outros reservatórios além das células T. Os pacientes com AIDS desenvolvem vários tipos de infecções oportunistas, neoplasias, caquexia (síndrome de emaciação pelo HIV), insuficiência renal (nefropatia pelo HIV) e degeneração do SNC (encefalopatia da AIDS) ([Tabela 21-7](#)). Como as células T CD4<sup>+</sup> auxiliares são essenciais para a resposta imune humoral e mediadas por células para vários microrganismos a perda destes linfócitos é a principal razão pela qual os pacientes com AIDS se tornam susceptíveis a muitos tipos diferentes de infecções. Além disso, muitos dos tumores que surgem em pacientes com AIDS apresentam etiologia viral, e a sua prevalência no contexto da AIDS reflete a incapacidade do paciente infectado pelo HIV de desenvolver uma resposta imune eficaz contra os vírus oncogênicos. A caquexia é frequentemente observada em pacientes com doenças inflamatórias crônicas e pode ser resultante dos efeitos das citocinas inflamatórias (como TNF)

sobre o apetite e o metabolismo. A doença do SNC na AIDS deve-se à lesão neuronal pelo vírus ou pelas proteínas virais liberadas, como a gp120 e Tat, bem como pelos efeitos das citocinas produzidas pelas células micróglia infectadas. Muitas destas consequências devastadoras da infecção pelo HIV, incluindo infecções oportunistas e tumores, foram reduzidas significativamente pela terapia antirretroviral altamente ativa.

**Tabela 21-7**

### **Características Clínicas da Infecção pelo HIV**

Fase da Doença	Características Clínicas
Doença aguda pelo HIV	Febre, cefaleia, dor de garganta com faringite, linfadenopatia generalizada, urticárias
Período de latência clínica	Declínio da contagem de células T CD4+ no sangue
AIDS	Infecções oportunistas Protozoários ( <i>Toxoplasma</i> , <i>Cryptosporidium</i> ) Bactérias ( <i>Mycobacterium avium</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Salmonella</i> ) Fungos ( <i>Candida</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Coccidioides immitis</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Pneumocystis</i> ) Vírus (citomegalovírus, herpes simples, varicela-zóster) Tumores Linfomas (incluindo linfomas de células B associado ao EBV) Sarcoma de Kaposi Carcinoma cervical Encefalopatia Síndrome de emaciação

Embora este resumo da evolução clínica seja verdadeiro para os casos mais graves, a taxa de progressão da doença é altamente variável, e alguns indivíduos são não progressores de longo prazo. As correlações imunológicas dessa progressão variável permanecem desconhecidas. Além disso, a terapia antirretroviral recente alterou a progressão da doença e reduziu enormemente a incidência de infecções oportunistas graves (como *Pneumocystis*) e tumores (como o sarcoma de Kaposi).

## **Resposta Imune ao HIV**

**Respostas imunes humorais e celulares específicas para o HIV se desenvolvem após a infecção, mas geralmente proporcionam proteção limitada.** A resposta inicial à infecção pelo HIV é, de fato, em muitos aspectos, semelhante ao da resposta imune a outros vírus e serve para remover a maior parte do vírus presente no sangue e nas células T circulantes. No entanto, é claro que estas respostas imunes não erradicam todos os vírus, e, geralmente, a infecção perpassa o sistema imunológico na maioria dos indivíduos. Apesar da falta de eficácia da resposta imune ao vírus, é importante caracterizá-la por três razões. Em primeiro lugar, as respostas imunes podem ser prejudiciais para o hospedeiro, por exemplo,

por estimular a captura de vírus opsonizados por células não infectadas por endocitose mediada por receptor Fc ou por erradicação de células T CD4<sup>+</sup> que expressam antígenos virais pelos CTLs CD8<sup>+</sup>. Em segundo lugar, os anticorpos contra o HIV são marcadores diagnósticos da infecção pelo HIV que são amplamente utilizados para triagem. Em terceiro lugar, o desenvolvimento de vacinas eficazes para a imunização contra o HIV requer conhecimento dos tipos de resposta imune mais propensa a ser protetora (os “correlatos de proteção”).

Muitas respostas imunes inatas contra o HIV foram descritas. Estas incluem a produção de peptídeos antimicrobianos (defensinas) e a ativação de células NK, células dendríticas (células dendríticas particularmente plasmocitoides produtoras de interferon do tipo I) e o sistema complemento. A função destas respostas no combate contra a infecção não está estabelecida.

***A resposta imune adaptativa inicial contra a infecção pelo HIV é caracterizada pela expansão de células T CD8<sup>+</sup> específicas para peptídeos do HIV.*** Até 10% ou mais das células T CD8<sup>+</sup> circulantes podem ser específicas para o HIV durante a infecção aguda. Estes CTLs controlam a infecção na fase inicial (Fig. 21-8), mas adiante revelam-se ineficazes por causa do surgimento de variantes virais (variantes com antígenos mutados). As células T CD4<sup>+</sup> também respondem ao vírus, e estas células T CD4<sup>+</sup> podem contribuir para o controle viral de inúmeras maneiras. Uma resposta das células T CD4<sup>+</sup> eficaz é necessária como uma fonte auxiliar para a geração de células T CD8<sup>+</sup> de memória, mas também tem sido demonstrado que as células T CD4<sup>+</sup> medeiam as respostas citolíticas contra células infectadas pelo HIV, talvez usando o ligando Fas como alvo nas células T CD4<sup>+</sup> infectadas.

A importância da resposta dos CTLs no controle do HIV é realçada pela evolução do vírus sob pressão imune, resultando em isolados virais que perderam seus epitopos de CTL originais. A evolução do vírus também resulta na perda dos epitopos reconhecidos pelas células T CD4<sup>+</sup>, indicando que tanto as células T CD8<sup>+</sup> como as células T CD4<sup>+</sup> contribuem para a defesa do hospedeiro contra o vírus.

***A resposta por anticorpos a uma variedade de antígenos do HIV é detectável dentro de 6 a 9 semanas após a infecção.*** As moléculas do HIV mais imunogênicas a induzir respostas por anticorpos parecem ser as glicoproteínas do envelope, e títulos elevados de anticorpos anti-gp120 e anti-gp41 estão presentes na maioria dos indivíduos infectados pelo HIV. Outros anticorpos anti-HIV encontrados frequentemente no soro dos pacientes são os anticorpos contra p24, transcriptase reversa e produtos de *gag* e *pol* (Fig. 20-8). O efeito destes anticorpos na evolução clínica da infecção por HIV é incerto. Os primeiros anticorpos geralmente não são neutralizantes e, portanto, são inibidores fracos da infecciosidade viral ou efeitos

citopáticos. Os anticorpos neutralizantes contra gp120 desenvolvem-se de 2 a 3 meses após a infecção primária, mas mesmo estes anticorpos não pode lidar com um vírus que é capaz de mudar rapidamente os epítomos mais imunodominantes das glicoproteínas do seu envelope. O sequenciamento de genes para cadeia leve e pesada dos anticorpos a partir de células B gp-140-específicas de indivíduos que foram infectados pelo HIV-1 durante alguns anos tem revelado a presença de anticorpos amplamente neutralizantes. Estes anticorpos se ligam em um local na proteína viral que impede o vírus de sofrer mutações, por exemplo, o local de ligação de CD4 da gp140. Desta forma, eles são eficazes em eliminar o vírus. Uma característica marcante de todos estes anticorpos é que eles foram selecionados após extensa hipermutação somática, indicando resposta de anticorpos dependente de células T auxiliares. A complicação é que inicialmente o repertório de células B inativas (*naïves*) específicas para o HIV consiste principalmente de células B, cujos receptores para antígeno se ligam fracamente a certos epítomos antigênicos, como o local de ligação CD4 da gp140. Muitos ciclos de hipermutação somática e de seleção que podem ocorrer em uma infecção de longo prazo podem gerar, eventualmente, populações de células B que se ligam com alta afinidade ao epítomo original fracamente reconhecido. Uma das metas da vacinação é gerar anticorpos amplamente neutralizantes de alta afinidade, mas até agora isto não foi alcançado de nenhuma forma consistente.

## Mecanismos de Evasão Imune do HIV

O HIV é o protótipo de um patógeno infeccioso que escapa das defesas do hospedeiro pela destruição do sistema imune. Além disso, várias características do HIV podem ajudar o vírus a escapar da imunidade do hospedeiro.

***O HIV apresenta uma taxa de mutação extremamente elevada por causa da propensão a erros da transcrição reversa, e, desta forma, pode evitar a detecção pelos anticorpos ou células T geradas em resposta às proteínas virais.*** Estimou-se que, em uma pessoa infectada, todas as possíveis mutações pontuais no genoma viral ocorram todos os dias. A região da molécula gp120, denominada alça V3, é um dos componentes mais antigenicamente variáveis do vírus; ela varia ainda em isolados do HIV retirados do mesmo indivíduo em momentos diferentes. Muitos epítomos do vírus que poderiam potencialmente servir como alvos para anticorpos amplamente neutralizantes também são protegidos por açúcares N-ligados que compõem o que é conhecido como campo de glicanas do HIV.

As células infectadas pelo HIV podem escapar dos CTLs através de regulação negativa da expressão de moléculas do MHC de classe I. A proteína Nef do HIV inibe a expressão de moléculas de MHC de classe I, principalmente através da promoção da internalização destas moléculas. Outros mecanismos de inibição da imunidade celular foram demonstrados em alguns casos. Como mencionado anteriormente,

estes incluem uma inibição preferencial de citocinas  $T_H1$ , ativação de células T reguladoras e supressão de funções das células dendríticas. Os mecanismos destas ações do vírus, bem como o seu significado patogênico não estão estabelecidos.

## Controladores de Elite e Não Progressores de Longo Prazo: Uma Possível Função para os Genes do Hospedeiro

***Embora a maioria dos indivíduos infectados pelo HIV desenvolva AIDS, aproximadamente 1% dos indivíduos infectados não desenvolvem a doença.***

Estes indivíduos apresentam alta contagem de células T  $CD4^+$  e  $CD8^+$ , não exigindo tratamento, e apresentam viremia persistente, mas nenhuma doença por pelo menos 10 a 15 anos. Com base no grau de viremia, este grupo pode ser dividido em dois subconjuntos: não progressores de longo prazo com viremia detectável de cerca de 5.000 cópias de RNA do HIV-1 por mililitro de sangue; e um subconjunto muito menor de controladores de elite, que apresentam carga viral de cerca de 50 cópias, ou menos, de RNA do HIV-1 por mililitro de sangue. Há um grande interesse na compreensão da base genética de controle do HIV por meio de estudo minucioso destas coortes de indivíduos. Até agora, sugeriu-se um importante papel do locus do MHC na proteção dos indivíduos e prevenção da progressão através de estudos de associação genética. Locus do HLA de classe I específico e alguns locus do HLA de classe II têm sido associados à ausência de progressão da doença. Nós já mencionamos anteriormente a importância da herança homozigótica da deleção de 32 pb do CCR5 na proteção contra infecções, e provavelmente outros fatores genéticos que contribuam para a resistência serão revelados nos próximos anos.

## Tratamento e Prevenção da AIDS e Desenvolvimento da Vacina

Esforços de pesquisa ativa estão destinados para desenvolver os reagentes que interfiram com o ciclo de vida viral. Atualmente, o tratamento da infecção pelo HIV e AIDS tipicamente envolve a administração de três fármacos antivirais, usados de forma combinada, cujos alvos são moléculas virais para as quais não existem homólogas humanas. Os primeiros medicamentos antirretrovirais amplamente utilizados foram os análogos de nucleosídeos que inibem a atividade da transcriptase reversa viral. Estas drogas incluem análogos do nucleosídeo desoxitimidina, como a 3'-azido-2'-desoxitimidina (AZT), análogos do nucleosídeo desoxicidina e análogos do nucleosídeo desoxiadenosina. Quando estes medicamentos são usados isoladamente, eles, geralmente, são eficazes na redução significativa dos níveis plasmáticos de RNA do HIV durante vários meses ou anos, mas geralmente não

evitam a progressão da doença induzida pelo HIV, principalmente por causa da evolução viral devido às formas mutantes da transcriptase reversa que são resistentes aos fármacos. Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídicos se ligam diretamente à enzima e inibem a sua função. Inibidores de proteases virais têm sido desenvolvidos, e bloqueiam o processamento de proteínas precursoras em proteínas do capsídeo viral e nucleares maduras. Quando estes inibidores de protease são utilizados isoladamente, emergem vírus mutantes resistentes aos seus efeitos. No entanto, atualmente, os inibidores da protease fazem parte de um regime terapêutico constituído por três fármacos, juntamente com dois diferentes inibidores da transcriptase reversa. Esta nova terapia tripla, chamada de HAART (terapia antirretroviral altamente ativa) ou ART (terapia antirretroviral), provou ser eficaz na redução do RNA viral plasmático para níveis não detectáveis na maioria dos pacientes tratados durante alguns anos. Atualmente, um inibidor da integrase também está disponível para a terapia antiviral. Inibidores de entrada, que impedem a entrada viral via CD4 ou CCR5 na célula hospedeira, ou gp41 ou gp120 do vírus, compõe outra categoria nova de agentes terapêuticos. Os fármacos que têm como alvo a gp41 incluem compostos que impedem a fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira. Embora a terapia antirretroviral reduza os títulos virais para níveis indetectáveis por até 10 anos, em alguns pacientes, é pouco provável que tal tratamento possa eliminar o vírus de todos os seus reservatórios (especialmente das células infectadas de vida longa), e pode haver o desenvolvimento de resistência às drogas. Outros problemas consideráveis associados a estes novos fármacos terapêuticos, que prejudicarão a sua utilização efetiva em muitas partes do mundo, incluem custo elevado, esquemas de administração complicados e os efeitos adversos significativos.

As infecções desenvolvidas por pacientes com AIDS são tratadas por meio de profilaxia adequada, antibióticos e medidas de suporte. Muitas vezes é necessária a utilização de um antibioticoterapia mais agressiva do que seria aplicada para infecções similares em hospedeiros menos comprometidos.

As medidas de prevenção da infecção pelo HIV são extremamente importantes e potencialmente eficazes no controle da epidemia do HIV. Nos Estados Unidos, a triagem de rotina para detecção do HIV em doadores de sangue e hemoderivados já reduziu o risco desta forma de transmissão para níveis insignificantes. Atualmente, várias medidas de saúde pública para aumentar o uso de preservativos e para reduzir o uso de agulhas contaminadas por usuários de drogas injetáveis estão se generalizando. Talvez os esforços mais eficazes na prevenção sejam as campanhas para aumentar a consciência pública sobre o HIV. Ensaio clínico recentes demonstraram que a administração de drogas antirretrovirais em mães grávidas é eficaz na prevenção da infecção dos recém-nascidos. O uso profilático destes medicamentos em pacientes de alto risco também reduz a taxa de infecção.

***O desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV é prioridade em***



**instituições de pesquisa bioclínica por todo o mundo.** Esta tarefa foi complicada pela capacidade do vírus de mutar e variar muitos antígenos imunogênicos. É provável que uma vacina eficaz tenha que estimular tanto a resposta humoral como a celular contra antígenos virais essenciais para o ciclo de vida viral. Para atingir este objetivo, várias abordagens estão sendo consideradas para o desenvolvimento de vacinas contra o HIV. Muitos trabalhos preliminares envolveram a infecção de macacos pelo vírus da imunodeficiência símia (SIV), e vacinas eficazes contra o SIV já foram desenvolvidas. Este sucesso é encorajador, pois o SIV é molecularmente relacionado ao HIV e provoca uma doença em macacos semelhante à AIDS em seres humanos. Várias vacinas de vírus vivos foram testadas na esperança de que induzisse fortes respostas por CTLs. Tais vacinas incluem vírus híbridos recombinantes não virulentos compostos por sequências do SIV e parte do HIV ou de vírus que tenham sido atenuados por deleções em uma ou mais partes do genoma viral, como o gene *nef*. Uma preocupação em relação às vacinas de vírus vivos é o seu potencial de causar a doença, se não forem completamente atenuados e, possivelmente, a possibilidade de recombinar com HIV produzindo uma cepa selvagem variante e patogênica. Outra abordagem que evita este problema de segurança, mas retém a eficácia na indução da imunidade mediada por CTLs é a utilização de vetores recombinantes virais vivos não HIV que transportem genes do HIV. Testes preliminares em voluntários humanos têm mostrado que as vacinas de vírus da varíola do canário (*canarypox*) que expressam vários genes do HIV-1 podem induzir fortes respostas dos CTL contra os antígenos de HIV. Muitas vacinas de DNA também têm sido estudadas; estas vacinas são constituídas por combinações de genes estruturais e reguladores do HIV ou do SIV acondicionados em vetores que expressam DNA de mamíferos. As combinações de vacinas, tais como a imunização inicial com uma vacina de DNA seguida por um reforço com um vetor de vírus da varíola do canário que expressa genes do HIV, produziram alguns dos resultados mais promissores até o momento. Vacinas de subunidades de proteína ou peptídeos recombinantes que induzem a produção de anticorpos apresentam, até agora, um valor limitado porque os anticorpos induzidos por estas vacinas geralmente não neutralizam isolados clínicos do HIV.

## Resumo

Imunodeficiências são causadas por defeitos congênitos ou adquiridos em linfócitos, fagócitos e outros mediadores da imunidade adaptativa e inata. Estas doenças estão associadas a um aumento da susceptibilidade à infecção e a natureza e gravidade delas dependem em grande parte de qual componente do sistema imune está anormal e a extensão desta anormalidade.

Distúrbios da imunidade inata incluem defeitos de eliminação microbiana por fagócitos (p. ex., CGD ou síndrome de Chédiak-Higashi), de migração e adesão de

leucócitos (p. ex., deficiência de adesão de leucócitos) e de sinalização do TLR e complemento.

Imunodeficiências combinadas graves incluem defeitos no desenvolvimento dos linfócitos que afetam tanto as células T como as células B e são causadas por sinalização defeituosa de citocinas, metabolismo anormal da purina, recombinação V(D)J defeituosa e mutações que afetam a maturação das células T.

Imunodeficiências de anticorpos incluem doenças causadas por defeitos na maturação das células B ou defeitos na ativação e na colaboração das células B e T (síndrome da hiper-IgM ligado ao X).

Imunodeficiências das células T incluem doenças nas quais há defeitos na expressão das moléculas do MHC, desordens na sinalização de células T e doenças raras que envolvem as funções de CTLs e células NK.

O tratamento das imunodeficiências congênitas envolve transfusões de anticorpos, de transplante medula óssea ou de células-tronco ou substituição enzimática. A terapia genética pode oferecer melhores tratamentos no futuro.

Imunodeficiências adquiridas são causadas por infecções, desnutrição, câncer disseminado e terapia imunossupressora para a rejeição do transplante ou doenças autoimunes.

A AIDS é uma imunodeficiência grave causada pela infecção com HIV. Este retrovírus infecta os linfócitos T CD4<sup>+</sup>, macrófagos e células dendríticas e desencadeia uma disfunção progressiva do sistema imune. A maior parte da imunodeficiência na AIDS pode ser atribuída à depleção de células T CD4<sup>+</sup>.

O HIV entra nas células ligando-se à molécula CD4 e a um correceptor da família dos receptores de quimiocina. Uma vez no interior da célula, o genoma viral é transcrito de forma reversa em DNA e incorporado ao genoma celular. A transcrição dos genes virais e a replicação são estimulados por sinais que normalmente ativam a célula hospedeira. A produção viral é acompanhada pela morte das células infectadas.

A fase aguda da infecção é caracterizada por morte de células T CD4<sup>+</sup> de memória em tecidos da mucosa e disseminação do vírus para os linfonodos. Na fase latente subsequente, há a replicação do vírus em níveis baixos nos tecidos linfoides e uma perda lenta e progressiva de células T. A ativação persistente das células T promove a sua morte, levando à perda rápida e deficiência imunológica na fase crônica da infecção.

A depleção das células T CD4<sup>+</sup> em indivíduos infectados pelo HIV deve-se aos efeitos citopáticos diretos do vírus, efeitos tóxicos de produtos virais como secreção de gp120, e aos efeitos indiretos, como a morte celular induzida por ativação ou morte das células T CD4<sup>+</sup> infectadas por CTLs.

Existem vários reservatórios do HIV em indivíduos infectados, incluindo as células T CD4<sup>+</sup> ativadas de vida curta, macrófagos de vida mais longa e células T de

memória de vida muito longa infectadas de forma latente.

A depleção de células T CD4<sup>+</sup> induzida pelo HIV provoca um aumento da susceptibilidade à infecção por inúmeros microrganismos oportunistas. Além disso, os pacientes infectados pelo HIV apresentam aumento de incidência de tumores, particularmente sarcoma de Kaposi e linfomas de células B associados ao EBV e encefalopatia. A incidência destas complicações foi bastante reduzida com o uso da terapia antirretroviral.

O HIV apresenta uma taxa de mutação elevada, o que permite que o vírus escape das respostas imunes do hospedeiro e torne-se resistente às terapias medicamentosas. A variabilidade genética também representa um problema para o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra o HIV. A infecção pelo HIV pode ser tratada através da combinação de inibidores das enzimas virais.

## Leituras selecionadas

### Imunodeficiências Congênitas (Primárias)

Blackburn, M. R., Kellems, R. E. Adenosine deaminase deficiency: metabolic basis of immune deficiency and pulmonary inflammation. *Advances in Immunology*. 2005; 86:1–4.

Casanova, J.-L., Abel, L. The genetic theory of infectious diseases: a brief history and selected illustrations. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2013; 14:215–243.

Castigli, E., Geha, R. S. Molecular basis of common variable immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006; 117:740–746.

Chen, X., Jensen, P. E. MHC class II antigen presentation and immunological abnormalities due to deficiency of MHC class II and its associated genes. *Experimental and Molecular Pathology*. 2008; 85:40–44.

Conley, M. E., Dobbs, A. K., Farmer, D. M., Kilic, S., Paris, K., Grigoriadou, S., Coustan-Smith, E., Howard, V., Campana D. Primary B. cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts. *Annual Review of Immunology*. 2009; 27:199–227.

Durandy, A., Kracker, S., Fischer, A. Primary antibody deficiencies. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:519–533.

Janka, G. E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematology*. 2005; 10(suppl 1):104–107.

Lavin, M. F. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signaling and cancer. *Nature Reviews Molecular and Cell Biology*. 2008; 9:759–769.

Milner, J. D., Holland, S. M. The cup runneth over: lessons from the ever-expanding pool of primary immunodeficiency diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2013;

13:635–668.

Notarangelo, L. D. Functional T cell immunodeficiencies (with T cells present). *Annual Review of Immunology*. 2013; 31:195–225.

Ochs, H. D., Thrasher, A. J. The Wiskott-Aldrich syndrome. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006; 117:725–738.

Parvaneh, N., Casanova, J. L., Notarangelo, L. D., Conley, M. E. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013; 131:314–323.

Puel, A., Yang, K., Ku, C. L., et al. Heritable defects of the human TLR signaling pathways. *Journal of Endotoxin Research*. 2005; 11:220–224.

### **HIV e AIDS**

Barouch, D. H. Challenges in the development of an HIV-1 vaccine. *Nature*. 2008; 455:613–619.

Brenchley, J. M., Price, D. A., Douek, D. C. HIV disease: fallout from a mucosal catastrophe? *Nature Immunology*. 2006; 7:235–239.

Douek, D. C., Roederer, M., Koup, R. A. Emerging concepts in the immunopathogenesis of AIDS. *Annual Review of Medicine*. 2009; 60:471.

Haase, A. T. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5:783–792.

Hladik, F., McElrath, M. J. Setting the stage: host invasion by HIV. *Nature Reviews Immunology*. 2008; 8:447–457.

Johnston, M. I., Fauci, A. S. An HIV vaccine—evolving concepts. *New England Journal of Medicine*. 2007; 356:2073–2081.

Kwong, P. D., Mascola, J. R., Nabel, G. J. Broadly neutralizing antibodies and the search for an HIV-1 vaccine: the end of the beginning. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:693–701.

Lusso, P. HIV and the chemokine system: 10 years later. *EMBO Journal*. 2006; 25:447–456.

Mascola, J. R., Montefiori, D. C. The role of antibodies in HIV vaccines. *Annual Review of Immunology*. 2010; 28:413–444.

McMichael, A. J., Borrow, P., Tomaras, G. D., Goonetilleke, N., Haynes, B. F. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nature Reviews Immunology*. 2010; 10:11–23.

Nixon, D. F., Aandahl, E. M., Michaelsson J. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in HIV infection. *Microbes and Infection*. 2005; 7:1063–1065.

Walker, B., McMichael, A. The T-cell response to HIV. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2, 2012. [a007054].

Walker, B. D., Yu, X. G. Unraveling the mechanisms of durable control of HIV-1. *Nature Reviews Immunology*. 2013; 13:487–498.

---

# APÊNDICE I

## Glossário

**Adjuvante** Uma substância, distinta do antígeno, que aumenta a ativação das células T e B principalmente pela promoção do acúmulo e ativação de células apresentadoras de antígenos (APCs) no local da exposição ao antígeno. Os adjuvantes estimulam a expressão de coestimuladores ativadores de células T e citocinas pelas APCs e também podem prolongar a expressão de complexos peptídeo-MHC na superfície das APCs.

**Adressina** Molécula de adesão expressa nas células endoteliais em diferentes locais anatômicos que direcionam a chegada dos linfócitos a locais específicos. A molécula de adesão celular da mucosa 1 (MadCAM-1) é um exemplo de adressina expressa nas placas de Peyer, na parede intestinal, que se ligam às integrinas  $\alpha_4\beta_7$  das células T intestinais.

**Afinidade** Força de uma ligação entre um único local de ligação de uma molécula (p. ex., um anticorpo) e um ligante (p. ex., um antígeno). A afinidade de uma molécula X por um ligante Y é representada pela constante de dissociação ( $K_D$ ), que é a concentração de Y necessária para ocupar os locais de ligação de metade das moléculas X presentes na solução. Um  $K_D$  menor indica uma afinidade de interação mais forte ou maior, e uma concentração menor de ligante é necessária para ocupar os locais.

**Agamaglobulinemia ligada ao X** Uma doença de imunodeficiência, também denominada agamaglobulinemia de Bruton, caracterizada pelo bloqueio em estágio precoce de maturação da célula B e pela ausência de Ig no soro. Pacientes sofrem de infecções bacterianas piogênicas. A doença é causada por mutações ou deleções no gene que codifica Btk, uma enzima envolvida na transdução do sinal nas células B em desenvolvimento.

**Alelo** Uma das diferentes formas do mesmo gene presente em um locus particular do cromossoma. Um indivíduo heterozigoto em um locus tem dois diferentes alelos, cada um de um membro diferente do par de cromossomas, um herdado da mãe e outro herdado do pai. Se um gene em particular em uma população tem diferentes alelos, o gene ou locus é chamado de polimórfico. Os genes MHC têm muitos alelos (p. ex., eles são altamente polimórficos).

**Alérgeno** Antígeno que ativa uma reação de hipersensibilidade imediata (alérgica). Os alérgenos são proteínas ou compostos químicos ligados a proteínas que induzem respostas de anticorpo IgE em indivíduos atópicos.



**Alergia** Distúrbio causado por uma reação de hipersensibilidade imediata, frequentemente denominada de acordo com o tipo de antígeno (alérgeno) que ativa a doença, como alergia alimentar, alergia à picada de abelha e alergia à penicilina. Todas essas condições são o resultado da produção de IgE estimulada pelas células T auxiliares produtoras de IL-4, seguida por alérgeno e ativação de mastócitos dependente de IgE.

**Aloanticorpo** Anticorpo específico para um aloantígeno (p. ex., um antígeno presente em alguns indivíduos de uma espécie, mas não em outros).

**Aloantígeno** Um antígeno celular ou tecidual que está presente em alguns indivíduos de uma espécie, mas não em outros e que é reconhecido como estranho ou em um enxerto. Os aloantígenos normalmente são produtos de gene polimórficos.

**Aloantissoro** Soro contendo aloanticorpo de um indivíduo que foi previamente exposto a um ou mais aloantígenos.

**Alorreativo** Reativo a aloantígenos; descreve as células T ou anticorpos de um indivíduo que irão reconhecer os antígenos nas células ou tecidos de outro indivíduo geneticamente idêntico.

**Alótipo** Propriedade de um grupo de moléculas de anticorpo definida por elas compartilharem um determinante antigênico em particular encontrado nos anticorpos de alguns indivíduos, mas não em outros. Tais determinantes são chamados de **alotopos**. Anticorpos que compartilham um alotopo particular pertencem ao mesmo alótipo. *Alótipo* também é frequentemente usado como sinônimo de *alotopo*.

**Altas vênulas endoteliais (HEVs, do inglês *high endothelial venules*)** Vênulas especializadas que são os locais da migração de linfócitos do sangue para o estroma de tecidos linfoides secundários. As HEVs são recobertas por células endoteliais gordas que emitem protrusão para dentro da luz do vaso e expressam moléculas de adesão únicas envolvidas na ligação de células B inativas e centrais e células T.

**Amiloide A sérico (SAA, do inglês *serum amyloid A*)** Uma proteína de fase aguda cujas concentrações aumentam significativamente no quadro de uma infecção e inflamação, principalmente por causa da síntese de IL-1 e TNF pelo fígado. A SAA ativa a quimiotaxia de leucócitos, fagocitose e adesão às células endoteliais.

**Aminas biogênicas** Compostos de baixo peso molecular e não lipídicos, como histamina, que têm um grupo amina, são armazenados e liberados dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos e medeiam muitos efeitos biológicos das reações de hipersensibilidade imediata (alérgica). (Algumas vezes, as aminas biogênicas são chamadas de aminas vasoativas.)

**Anafilatoxinas** Fragmentos do complemento C5a, C4a e C3a que são produzidos

durante a ativação do complemento. As anafilatoxinas ligam-se a receptores específicos na superfície da célula e promovem inflamação aguda atribuída a estímulo de quimiotaxia de neutrófilos e ativação de mastócitos.

**Anafilaxia** Uma forma grave de hipersensibilidade imediata na qual existe uma ativação sistêmica de mastócitos e basófilos e a liberação de mediadores causa broncoconstrição, edema tecidual e colapso cardiovascular.

**Anergia** Estado de irresponsividade à estimulação antigênica. A anergia do linfócito (também chamada de anergia clonal) consiste na falha dos clones de células T ou B de reagirem ao antígeno e é um mecanismo de manutenção da tolerância imunológica ao próprio. Clinicamente, a anergia descreve a falta de reações de hipersensibilidade cutânea do tipo retardada e dependente de célula T aos antígenos comuns.

**Anergia clonal** Estado de irresponsividade do antígeno de um clone de linfócitos Y experimentalmente induzido pelo reconhecimento do antígeno na ausência de sinais adicionais (sinais coestimulatórios) necessários para a ativação funcional. A anergia clonal é considerada um modelo para um mecanismo de tolerância de autoantígenos e pode ser aplicável aos linfócitos B.

**Angiogênese** Formação de novos vasos sanguíneos regulada por uma variedade de fatores proteicos elaborados pelas células dos sistemas imunes inato e adaptativo e frequentemente acompanhada por inflamação crônica.

**Antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra)** Um inibidor natural da IL-1 produzido por fagócitos mononucleares que é estruturalmente homólogo à IL-1 e se liga aos mesmos receptores, mas é biologicamente inativo.

**Anticorpo** Um tipo de molécula glicoproteica, também chamada de imunoglobulina (Ig), produzida pelos linfócitos B e que se liga aos antígenos, frequentemente com um alto grau de especificidade e afinidade. A unidade estrutural básica de um anticorpo é composta de duas cadeias pesadas idênticas e duas cadeias leves idênticas. As regiões variáveis N-terminal das cadeias pesada e leve formam os locais de ligação do antígeno, ao passo que as regiões constantes C-terminal das cadeias pesadas interagem funcionalmente com outras moléculas no sistema imune. Cada indivíduo tem milhões de anticorpos diferentes, cada um com um único local de ligação ao antígeno. Os anticorpos secretados desempenham várias funções efetoras, incluindo neutralização de antígenos, ativação do complemento e promoção da destruição de microrganismos dependente de leucócitos.

**Anticorpo humanizado** Um anticorpo monoclonal codificado por um gene híbrido recombinante e composto de locais de ligação de antígeno a partir de anticorpo monoclonal murino e de região constante de um anticorpo humano. Os anticorpos humanizados têm menor probabilidade do que anticorpos monoclonais de

camundongo de induzir uma resposta antianticorpo em humanos. Eles são usados clinicamente no tratamento de doenças inflamatórias, tumores e rejeição a transplante.

**Anticorpo monoclonal** Anticorpo que é específico para um antígeno e é produzido por um hibridoma de célula B (uma linhagem celular derivada da fusão de uma célula B única normal e uma linhagem tumoral de célula B imortal). Os anticorpos monoclonais são amplamente usados em pesquisa, diagnóstico clínico e terapia.

**Anticorpos naturais** Anticorpos IgM, grandemente produzidos pelas células B-1, específicos para bactérias que são comuns no meio ambiente e no trato gastrointestinal. Indivíduos normais contêm anticorpos naturais sem qualquer evidência de infecção, os quais servem como um mecanismo de defesa pré-formado contra microrganismos que conseguem penetrar as barreiras epiteliais. Alguns destes anticorpos fazem reação cruzada com antígenos do grupo sanguíneo ABO e são responsáveis pelas reações de transfusão.

**Antígeno** Uma molécula que se liga a um anticorpo ou a um TCR. Os antígenos que se ligam aos anticorpos incluem todas as classes de moléculas. A maioria dos TCRs liga-se somente a fragmentos de peptídeos de proteínas complexados com moléculas de MHC; ambos ligantes de peptídeo e proteína nativa dos quais são derivados são chamados de **antígenos de células T**.

**Antígeno carcinoembriônico (CEA, CD66, do inglês *carcinoembryonic antigen*)** Uma proteína membranar altamente glicosilada. A expressão aumentada de CEA em muitos carcinomas de cólon, pâncreas, estômago e mama resulta em elevação dos níveis séricos. O nível de CEA sérico é usado para monitorar a persistência ou recorrência do carcinoma metastático após o tratamento.

**Antígeno dependente de T** Um antígeno que necessita de ambas as células B e T auxiliar para estimular uma resposta de anticorpo. Os antígenos T dependentes são antígenos proteicos que contêm alguns epítomos reconhecidos pelas células T e outros epítomos reconhecidos pelas células B. As células T auxiliares produzem citocinas e moléculas de superfície celular que estimulam o crescimento e a diferenciação das células B em células secretoras de anticorpos. As respostas imunes humorais aos antígenos T dependentes são caracterizadas pela troca de isotipo, maturação de afinidade e memória.

**Antígeno específico de transplante de tumor (TSTA, do inglês *tumor-specific transplantation antigen*)** Antígeno expresso nas células tumorais de animais de experimentação que pode ser detectado pela indução da rejeição imunológica dos transplantes tumorais. Os TSTAs foram originalmente definidos em sarcomas quimicamente induzidos em roedores e estimulam a rejeição mediada por CTL dos tumores transplantados.

**Antígeno específico de tumor** Antígeno cuja expressão é restrita a um tumor em

particular e não é expresso pelas células normais. Os antígenos específicos do tumor podem servir como antígenos-alvo para respostas imunes antitumorais.

**Antígeno oncofetal** Proteínas que são expressas em altos níveis em alguns tipos de células cancerosas e nos tecidos fetais em desenvolvimento (mas não em adulto). Anticorpos específicos para essas proteínas são frequentemente usados na identificação histopatológica de tumores ou para monitorar a progressão do crescimento tumoral em pacientes. CEA (CD66) e  $\alpha$ -fetoproteína são dois antígenos oncofetais comumente expressos por certos carcinomas.

**Antígenos de grupo sanguíneo ABO** Antígenos de carboidratos ligados principalmente a proteínas ou lipídios de superfície celular que estão presentes em muitos tipos celulares, incluindo hemácias. Estes antígenos diferem entre os indivíduos, dependendo de alelos herdados que codificam as enzimas necessárias para a síntese dos antígenos de carboidratos. Os antígenos ABO agem como aloantígenos que são responsáveis pelas reações nas transfusões de sangue e na rejeição hiperaguda a aloenxertos.

**Antígenos de grupo sanguíneo Rh** Um sistema complexo de aloantígenos proteicos expressos nas membranas das hemácias e que são a causa das reações de transfusão e doença hemolítica no recém-nascido. O antígeno de Rh clinicamente mais importante é o designado como D.

**Antígenos de leucócito humano (HLA, do inglês *human leukocyte antigens*)** Moléculas de MHC expressas na superfície das células humanas. As moléculas de MHC humanas foram primeiramente identificadas como aloantígenos na superfície das células brancas sanguíneas (leucócitos) que ligam anticorpos séricos em indivíduos previamente expostos a células de outros indivíduos (p. ex., mães ou receptores de transfusão) (ver também **molécula do complexo maior de histocompatibilidade [MHC]**).

**Antígenos T independentes** Antígenos não proteicos, como polissacarídeos e lipídios, que podem estimular respostas de anticorpo sem a necessidade de linfócitos T auxiliares específicos para o antígeno. Esses antígenos normalmente contêm múltiplos epítomos idênticos que podem fazer ligação cruzada com Ig da membrana das células B e, assim, ativar as células. As respostas imunes humorais aos antígenos T independentes mostram relativamente pouca troca de isotipo de cadeia pesada ou maturação de afinidade, dois processos que necessitam de sinais das células T auxiliares.

**Antissoro** Soro de um indivíduo previamente imunizado com um antígeno e que contém anticorpo específico para aquele antígeno.

**Apoptose** Processo de morte celular caracterizado por ativação de caspases intracelulares, quebra de DNA, condensação e fragmentação nuclear e internalização da membrana que leva à fagocitose dos fragmentos celulares sem

indução de uma resposta inflamatória. Este tipo de morte celular é importante no desenvolvimento dos linfócitos, retorno à homeostasia após uma resposta imune à infecção, manutenção de tolerância aos autoantígenos e morte das células infectadas pelos linfócitos T citotóxicos e células *natural killer*.

**Apresentação cruzada** Mecanismo pelo qual uma célula dendrítica ativa (ou dispara) uma CTL CD8<sup>+</sup> virgem específica para antígenos de uma terceira célula (p. ex., um vírus infectado ou uma célula tumoral). A apresentação cruzada ocorre, por exemplo, quando uma célula infectada (com frequência apoptótica) é ingerida pela célula dendrítica e os antígenos microbianos são processados e apresentados em associação com moléculas de MHC de classe I, ao contrário da regra geral para antígenos fagocitados, que são apresentados em associação com moléculas de MHC de classe II. A célula dendrítica também fornece coestimulação para as células T. Também chamada de **ativação cruzada**.

**Apresentação de antígenos** Localização de peptídios ligados pelas moléculas de MHC na superfície de uma APC que permite o reconhecimento específico pelos TCRs e a ativação das células T.

**Apresentação direta de antígenos (ou alorreconhecimento direto)**

Apresentação de molécula de MHC alogênica na superfície celular por APCs de enxerto a células T do receptor do enxerto e que leva à ativação das células T alorreativas. No reconhecimento direto das moléculas de MHC alogênicas, o TCR que foi selecionado para reconhecer uma própria molécula de MHC com peptídeo estranho reage com moléculas de MHC alogênicas com peptídeo. A apresentação direta é parcialmente responsável pelas fortes respostas de célula T ao aloenxerto.

**Apresentação indireta de antígenos (ou alorreconhecimento indireto)** Na imunologia do transplante, é a via de apresentação das moléculas de MHC do doador (alogênica) pelas APCs do receptor que envolve os mesmos mecanismos usados para apresentação das proteínas microbianas. As proteínas de MHC alogênicas são processadas pelas APCs profissionais do receptor e os peptídios derivados das moléculas de MHC alogênicas são apresentados, em associação com as moléculas de MHC do receptor (próprias), às células T do hospedeiro. Contrapondo-se à apresentação indireta de antígeno, a apresentação direta de antígeno envolve o reconhecimento pela célula T do receptor de moléculas de MHC alogênicas não processadas na superfície das células do transplante.

**Artrite reumatoide** Doença autoimune caracterizada primariamente por dano inflamatório nas articulações e, algumas vezes, inflamação dos vasos sanguíneos, pulmões e outros tecidos. Células T CD4<sup>+</sup>, linfócitos B ativados e plasmócitos são encontrados nos revestimentos da articulação inflamada (sinóvia) e numerosas citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 e TNF, estão presentes no fluido sinovial

(articular).

**Asma brônquica** Doença inflamatória normalmente causada por reações repetidas de hipersensibilidade imediata nos pulmões e que leva a obstrução intermitente e reversível das vias aéreas, inflamação brônquica crônica com eosinófilos e hipertrofia e hiperatividade das células do músculo liso bronquial.

**Ativação alternativa de macrófagos** A ativação de macrófagos por IL-4 e IL-13 leva a um fenótipo anti-inflamatório e reparador tecidual, contrapondo-se à ativação clássica de macrófagos pela interação com interferon- $\gamma$  e ligantes TLR.

**Ativação clássica da via do complemento** Via de ativação do sistema complemento que é iniciada por ligação de complexos antígeno-anticorpo à molécula C1 e induz a cascata proteolítica envolvendo várias outras proteínas do complemento. A via clássica é uma arma efetora do sistema imune humoral que gera mediadores inflamatórios, opsoninas para a fagocitose de antígenos e complexos líticos que destroem células.

**Ativação clássica de macrófagos** Ativação de macrófagos por interferon- $\gamma$ , células T<sub>H1</sub> e ligantes TLR, levando ao fenótipo pró-inflamatório e microbicida. Macrófagos “ativados classicamente” também são chamados de macrófagos M1.

**Ativadores policlonais** Agentes que são capazes de ativar muitos clones de linfócitos, a despeito de suas especificidades antigênicas. Exemplos de ativadores policlonais incluem anticorpos anti-IgM para células B e anticorpos anti-CD-3, superantígenos bacterianos e PHA para células T.

**Atopia** Propensão de um indivíduo em produzir anticorpos IgE em resposta a vários antígenos ambientais e em desenvolver fortes reações de hipersensibilidade (alergia). Pessoas com alergia a antígenos ambientais, como pólen ou ácaros, são ditas serem atópicas.

**Autoanticorpo** Anticorpo produzido em um indivíduo que é específico para seu próprio antígeno. Os autoanticorpos podem causar danos a células e tecidos e são produzidos em excesso nas doenças autoimunes sistêmicas, como o lúpus eritematoso sistêmico.

**Autofagia** Processo normal pelo qual a célula degrada seus próprios componentes pelo catabolismo lisossomal. A autofagia tem papel na defesa imune inata contra infecções, e polimorfismos de genes que regulam a autofagia estão ligados a risco de algumas doenças autoimunes.

**Autoimunidade** Estado de responsividade do sistema imune aos próprios antígenos que ocorre quando mecanismos de autotolerância falham.

**Autorrestrrição de MHC** Limitação (ou restrição) das células T em reconhecer antígenos apresentados pelas moléculas de MHC que a célula T encontra durante a maturação no timo (e assim as reconhece como próprias).



**Autotolerância** Irresponsividade do sistema imune adaptativo aos próprios antígenos, amplamente como resultado da inativação ou morte dos linfócitos reativos induzida pela exposição a esses antígenos. A autotolerância é uma característica fundamental do sistema imune normal, e a falha na autotolerância leva a doenças autoimunes.

**Avidez** Força total das interações entre duas moléculas, tais como um anticorpo e um antígeno. A avidéz depende de ambas afinidade e valência de interações. Dessa maneira, a avidéz de um anticorpo IgM pentamérico, com 10 locais de ligação a antígenos, para um antígeno multivalente pode ser muito maior do que a avidéz de uma molécula IgG dimérica para o mesmo antígeno. A avidéz pode ser usada para descrever as forças das interações célula-célula, que são mediadas por muitas interações de ligações entre moléculas da superfície celular.

**Baço** Um órgão linfoide secundário no quadrante superior esquerdo do abdome. O baço é o principal local das respostas imunes adaptativas aos antígenos originados do sangue. A polpa vermelha do baço é composta de sinusoides vasculares cheios de sangue recobertos por fagócitos ativados que ingerem antígenos opsonizados e hemácias danificadas. A polpa branca do baço contém linfócitos e folículos linfoides nos quais as células B são ativadas.

**Bactéria intracelular** Uma bactéria que sobrevive ou replica dentro das células, normalmente nos endossomas. O principal mecanismo de defesa contra bactérias intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis*, é a imunidade mediada por célula T.

**Bactérias piogênicas** Bactérias, como estafilococos e estreptococos Gram-positivos, que induzem respostas inflamatórias ricas em leucócitos polimorfonucleares (originando o pus). Respostas de anticorpos a essas bactérias aumentam consideravelmente a eficácia dos mecanismos efetores imunes inatos para limpar infecções.

**Basófilo** Um tipo de granulócito circulante derivado da medula óssea com similaridades estruturais e funcionais com os mastócitos e que contém grânulos com muitos dos mesmos mediadores inflamatórios dos mastócitos e também expressa receptores Fc de alta afinidade para IgE. Os basófilos que são recrutados para os locais tissulares onde o antígeno está presente podem contribuir para as reações de hipersensibilidade imediata.

**Bcl-6** Um repressor transcricional que é necessário para o centro germinativo de desenvolvimento da célula B e para o desenvolvimento de T<sub>FH</sub>.

**BCR (receptor de célula B, do inglês *B cell receptor*)** Receptor de antígeno na superfície celular nos linfócitos B, que é uma molécula de imunoglobulina ligada à membrana.

**Bet-t** Um fator de transcrição da família Tbox que promove a diferenciação das células T<sub>H</sub>1 a partir de células T inativas.

**BLIMP-1** Um repressor transcricional que é necessário para a geração do plasmócito.

**Burst respiratório** Processo pelo qual intermediários reativos de oxigênio, como ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, são produzidos em macrófagos e leucócitos polimorfonucleares. O *burst* respiratório é mediado pela enzima fagócito-oxidase e normalmente disparado por mediadores inflamatórios, como LTB<sub>4</sub>, PAF e TNF, ou por produtos bacterianos, como peptídeos *N*-formilmetionil.

**C1** Uma proteína do sistema complemento sérico composta de várias cadeias polipeptídicas que iniciam a via clássica da ativação do complemento através da ligação às porções Fc do anticorpo IgG ou IgM que se ligou ao antígeno.

**C3** Uma proteína central e mais abundante do sistema complemento. Está envolvida em ambas as vias clássica e alternativa. O C3 é proteoliticamente clivado durante a ativação do complemento para gerar o fragmento C3b, que se liga covalentemente às superfícies da célula e do microrganismo, e o fragmento C3a, que tem várias atividades pró-inflamatórias.

**C3 convertase** Um complexo de enzima multiproteico gerado por um passo inicial das vias clássica, da lectina e alternativa da ativação do complemento. A C3 convertase quebra o C3, o que origina dois produtos proteolíticos denominados C3a e C3b.

**C5 convertase** Um complexo de enzima multiproteico gerado pela ligação de C3b a C3 convertase. A C5 convertase cliva o C5 e inicia os estágios finais da ativação do complemento, levando à formação dos complexos de ataque à membrana e lise das células.

**Cadeia de ligação (J)** Um peptídeo que liga moléculas de IgA ou IgM para formar multímeros (p. ex., IgA dimérica e IgM pentamérica).

**Cadeia invariante (I<sub>i</sub>)** Uma proteína não polimórfica que se liga às moléculas de MHC de classe II recentemente sintetizadas no retículo endoplasmático. A cadeia invariável previne a ligação de peptídeos presentes no retículo endoplasmático com a fenda de ligação ao peptídeo de MHC de classe II, e tais peptídeos se associam, então, às moléculas de classe I. A cadeia invariante também promove a dobra e montagem das moléculas de classe II e direciona moléculas de classe II recentemente sintetizadas para o compartimento MHC endossomal especializado, onde tem lugar o carregamento do peptídeo.

**Cadeia J** Um pequeno polipeptídeo que é ligado por ponte dissulfeto a pedaços de

extremidades de anticorpos IgM e IgA multiméricos e contribui para o transporte transepitelial destas imunoglobulinas.

**Cadeia leve de imunoglobulina** Um de dois tipos de cadeias polipeptídicas em uma molécula de anticorpo. A unidade estrutural básica de um anticorpo inclui duas cadeias leves idênticas, cada uma ligada por ponte dissulfeto a uma de duas cadeias pesadas idênticas. Cada cadeia leve é composta de um domínio Ig variável (V) e um domínio Ig constante (C). Existem dois isotipos de cadeia leve, chamados de  $\kappa$  e  $\lambda$ , ambos funcionalmente idênticos. Cerca de 60% dos anticorpos humanos têm cadeias leve  $\kappa$ , e 40% apresentam cadeias leve  $\lambda$ .

**Cadeia pesada de imunoglobulina** Um de dois tipos de cadeias polipeptídicas em uma molécula de anticorpo. A unidade estrutural básica de um anticorpo inclui duas cadeias pesadas ligadas por ponte dissulfeto idênticas e duas cadeias leves idênticas. Cada cadeia pesada é composta de um domínio Ig variável (V) e três ou quatro domínios Ig constantes (C). Os diferentes isotipos de anticorpos, incluindo IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, são distinguidos por diferenças estruturais nas regiões constantes de suas cadeias pesadas. As regiões constantes da cadeia pesada também medeiam funções efetoras, tais como ativação do complemento ou engajamento de fagócitos.

**Cadeia  $\zeta$**  Uma proteína transmembranar expressa nas células T como parte do complexo TCR que contém ITAMs em sua cauda citoplasmática e se liga à proteína tirosinoquinase ZAP-70 durante a ativação da célula T.

**leves substituídas** Duas proteínas não variáveis que se associam às cadeias pesadas  $\mu$  da Ig nas células pré-B para formar o receptor da célula pré-B. As duas cadeias leves substituídas incluem a proteína V pré-B, que é homóloga ao domínio V da cadeia leve, e  $\lambda 5$ , que é ligada covalentemente à cadeia pesada  $\mu$  por uma ponte dissulfeto.

**Calcineurina** Uma fosfatase citoplasmática serina/treonina que defosforila o fator de transcrição NFAT, permitindo, assim, que NFAT entre no núcleo. A calcineurina é ativada por sinais de cálcio gerados por meio da sinalização de TCR em resposta ao reconhecimento do antígeno, e os fármacos imunossupressores ciclosporina e FK506 agem bloqueando a atividade da calcineurina.

**Camundongo *knockout*** Um camundongo com uma alteração direcionada de um ou mais genes que é criada por técnicas de recombinação homóloga. Os camundongos *knockout* sem genes funcionais para citocinas, receptores de superfície celular, moléculas de sinalização e fatores de transcrição têm fornecido muitas informações acerca do papel destas moléculas no sistema imune.

**Camundongo nude** Uma cepa de camundongos que carece do desenvolvimento do timo e linfócitos T, bem como folículos capilares. Os camundongos nude têm sido utilizados experimentalmente para definir o papel dos linfócitos T na

imunidade e na doença.

**Camundongo SCID** Uma linhagem de camundongo na qual as células B e T estão ausentes por causa de um bloqueio precoce na maturação dos precursores da medula óssea. Os camundongos SCID carregam uma mutação em um componente da proteinoquinase dependente de DNA, que é necessária para o reparo da quebra do DNA de dupla fita. A deficiência desta enzima resulta em ligação anormal dos segmentos dos genes de Ig e TCR durante a recombinação e, assim, falha na expressão dos receptores de antígenos.

**Camundongo transgênico** Camundongo que expressa um gene exógeno que foi introduzido no genoma pela injeção de uma sequência específica de DNA no pró-núcleo de óvulos fertilizados do camundongo. Transgenes são inseridos aleatoriamente em pontos de quebra cromossômica e subsequencialmente herdados como simples traços mendelianos. Com o desenho de transgênicos com sequências regulatórias específicas para tecidos, os camundongos podem ser produzidos expressando um gene em particular somente em alguns tecidos. Os camundongos transgênicos são extensamente utilizados na pesquisa imunológica para estudar as funções de várias citocinas, moléculas de superfície celular e moléculas de sinalização intracelular.

**Camundongo transgênico de receptor de célula T (TCR)** Um camundongo em uma linhagem geneticamente modificada que expressa genes TCR  $\alpha$  e  $\beta$  funcionais transgênicamente codificados e que codifica um TCR de especificidade única e definida. Em virtude da exclusão alélica dos genes TCR, a maioria ou todas as células T em um camundongo transgênico têm a mesma especificidade antigênica, o que é uma propriedade útil para inúmeros fins de pesquisa.

**Cascata de proteinoquinase ativada por mitógeno (MAP, do inglês *mitogen-activated protein*)** Cascata de transdução do sinal iniciada pela forma inativa da proteína Ras e envolvendo a ativação sequencial de três serino/treoninoquinasas, esta última sendo uma MAP quinase. A MAP quinase então fosforila e ativa outras enzimas e fatores de transcrição. A via da MAP quinase é uma de várias vias de sinalização ativada pela ligação do antígeno ao TCR e BCR.

**Caspases** Proteases intracelulares com cisteínas em seus locais ativos que quebram substratos no lado C-terminal dos resíduos de ácido aspártico. A maioria é componente de cascatas enzimáticas que causam morte apoptótica das células, mas a caspase-1, que é parte do inflamossoma, direciona a inflamação processando formas de precursores inativos das citocinas IL-1 e IL-18 em suas formas ativas.

**Catelicidinas** Polipeptídeos produzidos pelos neutrófilos e várias barreiras epiteliais que atuam em diversas funções na imunidade inata, incluindo toxicidade direta aos microrganismos, ativação de leucócitos e neutralização de lipopolissacarídeo.

**Catepsinas** Tiol e aspartil proteases com grande especificidade de substrato, abundantes nos endossomas das APCs e com importante papel na geração de fragmentos peptídicos a partir de proteínas antigênicas exógenas que se ligam às moléculas de MHC de classe II.

**Célula apresentadora de antígeno (APC, do inglês *antigen presenting cell*)**

Uma célula que dispõe fragmentos peptídicos de antígenos proteicos, em associação com moléculas de MHC, na sua superfície e ativa células T específicas para antígenos. Em adição à disposição de complexos peptídeo-MHC, as APCs também expressam moléculas coestimulatórias para otimizar a ativação dos linfócitos T.

**Célula pré-B** Célula B em desenvolvimento presente somente em tecidos hematopoéticos que é o estágio de maturação caracterizado pela expressão de cadeia pesada  $\mu$  de Ig e substitui as cadeias leves, mas não as cadeias leves de Ig. Os receptores de célula pré-B compostos de cadeias  $\mu$  e cadeias leves substituídas liberam sinais que estimulam a maturação da célula pré-B em uma célula B imatura.

**Célula pré-T** Linfócito T em desenvolvimento no timo em estágio de maturação, caracterizado pela expressão de cadeia  $\beta$  de TCR, mas não cadeia  $\alpha$  ou CD4 ou CD8. Nas células pré-T, a cadeia TCR  $\beta$  não é encontrada na superfície celular como parte do receptor de célula pré-T.

**Célula pró-B** Uma célula B em desenvolvimento na medula óssea que é a primeira célula comprometida com a linhagem de linfócito B. As células pró-B não produzem Ig, mas podem ser diferenciadas de outras células imaturas pela expressão de moléculas de superfície restritas às linhagens B, tais como CD19 e CD10.

**Célula pró-T** Uma célula T em desenvolvimento no córtex tímico que chegou recentemente da medula óssea e não expressa TCRs, CD3, cadeias  $\zeta$ , ou moléculas CD4 ou CD8. As células pró-T também são denominadas tímócitos duplo-negativos.

**Célula secretora de anticorpo** Um linfócito B que sofre diferenciação e produz a forma secretória de Ig. As células secretoras de anticorpo são geradas a partir de células B virgens em resposta ao antígeno e situam-se no baço e nos linfonodos, bem como na medula óssea. Frequentemente usada como sinônimo de plasmócito.

**Célula T auxiliar folicular ( $T_{FH}$ )** Ver **células T auxiliares foliculares ( $T_{FH}$ )**.

**Célula-tronco** Uma célula não diferenciada que se divide continuamente e dá origem a células-tronco adicionais e a células de diferentes linhagens. Por exemplo, todas as células sanguíneas originam-se de uma célula-tronco hematopoética comum.

**Célula-tronco hematopoética** Uma célula indiferenciada da medula óssea que se divide continuamente e dá origem a células-tronco adicionais e células de diferentes e múltiplas linhagens. A célula-tronco hematopoética na medula óssea dará origem a células de linhagem linfóide, mieloide e eritrocítica.

**Células assassinas ativadas por linfocina (LAK, do inglês *lymphokine-activated killer cells*)** Células NK com atividade citolítica aumentada para células tumorais como resultado da exposição a elevadas doses de IL-2. As células LAK geradas *in vitro* foram adaptativamente transferidas de volta aos pacientes com câncer para tratar seus tumores.

**Células assassinas naturais (NK, do inglês *natural killer*)** Um subgrupo de células linfóides inatas que atuam nas respostas imunes inatas para matar células infectadas por microrganismos através de mecanismos líticos diretos e pela secreção de IFN- $\gamma$ . Células NK não expressam receptores de antígenos clonalmente distribuídos do tipo Ig ou TCRs, e sua ativação é regulada pela combinação de receptores estimuladores e inibitórios da superfície celular, estes últimos reconhecendo as próprias moléculas de MHC.

**Células B maduras** Células B inativas, funcionalmente competentes, expressando IgM e IgD e que representam o estágio final da maturação da célula B na medula óssea e povoam os órgãos linfóides periféricos.

**Células de Langerhans** Células dendríticas imaturas encontradas como uma malha na camada epitelial da pele e cuja principal função é o sequestro de microrganismos e antígenos que entram através da pele e transporte de antígenos para os linfonodos de drenagem. Durante sua migração para os linfonodos, as células de Langerhans diferenciam-se em células dendríticas maduras, que podem apresentar com eficiência os antígenos às células T inativas.

**Células dendríticas** Células derivadas da medula óssea encontradas no epitélio e em tecidos linfóides que são morfológicamente caracterizadas pelas finas projeções membranosas. Existem muitas subclasses de células dendríticas com funções diversas. As células dendríticas clássicas atuam como células de sentinela inatas e tornam-se APCs para linfócitos T inativos após ativação. Além disso, são importantes para o início das respostas imunes adaptativas ao antígeno proteico. Células dendríticas clássicas imaturas (em repouso) são importantes para a indução da tolerância aos próprios antígenos. As células dendríticas plasmacitoides produzem abundantes interferons de tipo 1 em resposta à exposição a vírus.

**Células dendríticas foliculares (FDCs, do inglês *follicular dendritic cells*)** Células nos folículos linfóides dos órgãos linfóides secundários que expressam receptores de complemento, receptores Fc e ligante CD40 e têm longos processos citoplasmáticos que formam uma malha integrante da arquitetura dos



folículos. As células dendríticas foliculares apresentam antígenos em suas superfícies para o reconhecimento da célula B e estão envolvidos na ativação e seleção das células B que expressam Ig de membrana de alta afinidade durante o processo de maturação da afinidade. Elas são células não hematopoéticas (origem não é da medula óssea).

**Células efectoras** Células que realizam funções efectoras durante a resposta imune, tais como secreção de citocinas (p. ex., células T auxiliares), morte de microrganismos (p. ex., macrófagos), morte de células do hospedeiro infectadas com microrganismos (p. ex., CTLs) ou anticorpos secretados (p. ex., células B diferenciadas).

**Células epiteliais tímicas** Células epiteliais abundantes no estroma cortical e medular do timo que têm papel importante no desenvolvimento da célula T. No processo de seleção positiva, as células T em maturação que reconhecem fracamente os próprios peptídeos ligados às moléculas de MHC na superfície das células epiteliais tímicas são salvas da morte celular programada.

**Células indutoras de tecido linfóide** Um tipo de célula linfóide inata derivada hematopoeticamente e que estimula o desenvolvimento de linfonodos e outros órgãos linfóides secundários, em parte pela produção das citocinas linfotóxina- $\alpha$  (LT $\alpha$ ) e linfotóxina- $\beta$  (LT $\beta$ ).

**Células M** Células especializadas da mucosa epitelial gastrointestinal que recobrem as placas de Peyer no intestino e atuam na liberação de antígenos para as placas de Peyer.

**Células profissionais apresentadoras de antígenos (APCs profissionais)** Um termo algumas vezes utilizado para se referir às APCs que ativam linfócitos T; inclui células dendríticas, fagócitos mononucleares e linfócitos B, todos os quais são capazes de expressar moléculas de MHC de classe II e coestimuladores. As APCs profissionais mais importantes para o início das respostas primárias de célula T são as células dendríticas.

**Células supressoras mioelóide-derivadas** Um grupo heterogêneo de precursores mioelóides imaturos que suprimem as respostas imunes antitumorais e são encontrados em tecidos linfóides, sangue ou tumores de animais contendo tumor ou pacientes com câncer. As células expressam Ly6C ou Ly6G e CD11b em camundongos e CD33, CD11b e CD15 em humanos.

**Células T assassinas naturais (células NKT, do inglês *natural killer cells*)** Um subgrupo numericamente pequeno de linfócitos que expressam receptores de células T e algumas moléculas de superfície características de células NK. Algumas células NKT, chamadas NKT invariantes (iNKT), expressam receptores de antígenos de célula T  $\alpha\beta$  com pouca diversidade, reconhecem antígenos lipídicos apresentados pelas moléculas CD1 e realizam várias funções efectoras típicas das

células T auxiliares.

**Células T auxiliares** Uma classe de linfócitos T cujas funções são ativar macrófagos e promover inflamação em respostas imunes mediadas por célula e promover a produção de anticorpo em célula B nas respostas imunes humorais. Essas funções são mediadas por citocinas secretadas e por ligação de ligantes CD40 de célula T aos macrófagos ou CD40 de célula B. A maioria das células T auxiliares expressa a molécula CD4.

**Células T auxiliares foliculares (T<sub>FH</sub>)** Um subgrupo heterogêneo de células T auxiliares CD4<sup>+</sup> presente dentro dos folículos linfoides e que é crucial para fornecer sinais para as células B na reação do centro germinativo que estimula a hipermutação somática, troca de isotipo e geração de células B de memória e plasmócitos de vida longa. As células T<sub>FH</sub> expressam CXCR5, ICOS, IL-21 e Bcl-6.

**Células T regulatórias** Uma população de células T que inibe a ativação de outras células T e é necessária para a manutenção da tolerância periférica aos próprios antígenos. A maioria das células T regulatórias é CD4<sup>+</sup> e expressa a cadeia  $\alpha$  do receptor de IL-2 (CD25), CTLA4 e fator de transcrição FoxP3.

**Células T supressoras** Células T que bloqueiam a ativação e função de outros linfócitos T. Tem sido difícil identificar claramente as células T supressoras, de modo que o termo não é mais utilizado. As células T mais bem definidas e que atuam para controlar as respostas imunes são as **células T regulatórias**.

**Células T<sub>H1</sub>** Um subgrupo de células T auxiliares CD4<sup>+</sup> que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IFN- $\gamma$ , e cuja principal função é estimular a defesa contra infecções mediada pelo fagócito, especialmente com microrganismos intracelulares.

**Células T<sub>H17</sub>** Um subgrupo funcional de células T auxiliares CD4<sup>+</sup> que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IL-17 e IL-22, que são protetoras contra infecções bacterianas e fúngicas e também medeiam reações inflamatórias nas doenças autoimunes e outras doenças inflamatórias.

**Células T<sub>H2</sub>** Um subgrupo funcional de células T auxiliares CD4<sup>+</sup> que secretam um grupo particular de citocinas, incluindo IL-4, IL-5 e IL-3, e cuja principal função é estimular reações imunes mediadas por IgE e eosinófilo/mastócito.

**Centroblastos** Células B em rápida proliferação na zona escura dos centros germinativos dos tecidos linfoides secundários, que dão origem a milhares de progenitores, expressam deaminase induzida por ativação (AID) e se submetem à mutação somática de seus genes V. Os centroblastos tornam-se centrócitos da zona clara dos centros germinativos.

**Centrócitos** Células B na zona clara dos centros germinativos dos órgãos linfoides secundários, que são os progenitores dos centroblastos em proliferação da zona escura. Os centrócitos que expressam Ig de alta afinidade são positivamente selecionados para sobreviver, se submeter à troca de isotipo e, posteriormente, sofrer diferenciação em plasmócitos de vida longa e células B de memória.

**Centros germinativos** Estruturas especializadas nos órgãos linfoides geradas durante as respostas imunes humorais dependentes de T, onde ocorrem extensa proliferação de célula B, troca de isotipo, mutação somática, maturação de afinidade, geração de célula B de memória e indução de plasmócitos de vida longa. Os centros germinativos surgem como regiões levemente coradas dentro do folículo linfóide no baço, linfonodo e tecido linfóide mucoso.

**Cepas congênicas de camundongo** Cepas puras de camundongo que são idênticas umas às outras em cada locus genético, exceto naquele para o qual elas são selecionadas para serem diferentes. Tais cepas são criadas por repetidos cruzamentos e seleção para uma marca particular. As cepas congênicas que diferem umas das outras somente por um alelo de MHC em particular têm sido úteis na definição da função das moléculas de MHC.

**Choque séptico** Uma grave complicação de infecções bacterianas que se espalha pela corrente sanguínea (sepse) e é caracterizada por colapso vascular, coagulação intravascular disseminada e distúrbios metabólicos. Esta síndrome é atribuída aos efeitos dos componentes da parede celular bacteriana, como LPS ou peptidoglicano, que se ligam aos TLRs nos vários tipos celulares e induzem a expressão de citocinas inflamatórias, incluindo TNF e IL-12.

**Ciclosporina** Um inibidor de calcineurina muito utilizado como um fármaco imunossupressor para prevenir a rejeição a enxerto mediante bloqueio da ativação da célula T. A ciclosporina (também denominada ciclosporina A) liga-se à proteína citosólica denominada ciclofilina, e um complexo ciclosporina-ciclofilina liga-se e inibe a calcineurina, inibindo, assim, a ativação e translocação nuclear do fator de transcrição NFAT.

**Citocinas** Proteínas que são produzidas e secretadas por diferentes tipos celulares e medeiam reações inflamatórias e imunes. As citocinas são os principais mediadores de comunicação entre células do sistema imune (ver [Apêndice II](#)).

**Citometria de fluxo** Método de análise do fenótipo de populações celulares requerendo um instrumento especializado (citômetro de fluxo) que pode detectar fluorescência em células individuais em suspensão e, assim, determina o número de células que expressam a molécula na qual o marcador fluorescente se liga, bem como a quantidade relativa de molécula expressa. Suspensões de células são incubadas com anticorpos fluorescentes marcados, e a quantidade de marcador ligado a cada célula da população é medida após a passagem das

células individuais através do fluorímetro, utilizando um feixe de *laser*.

**Citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC, do inglês *antibody dependente cell cytotoxicity*)** Processo pelo qual as células NK são direcionadas para células recobertas com IgG, resultando na lise das células cobertas por anticorpo. Um receptor específico para a região constante da IgG, chamado de FcγRIII (CD16), é expresso na membrana celular da célula NK e medeia a ligação à IgG.

**Classificador de células ativado por fluorescência (FACS, do inglês *fluorescence-activated cell sorter*)** Uma adaptação do citômetro de fluxo que é usado para a purificação de células a partir de uma população misturada e de acordo com qual fluorescência e intensidade a célula marcada se liga. Primeiramente, as células são coradas com um marcador fluorescente, como um anticorpo específico para um antígeno de superfície de uma população celular. As células são, então, passadas individualmente através do fluorímetro com um *laser* incidente e coletadas em diferentes tubos de acordo com campos eletromagnéticos cujos tamanhos e direção são variados de acordo com a medida da intensidade do sinal fluorescente.

**Clone** Um grupo de células, todas derivadas um precursor comum único, que mantém muitas das características genóticas e fenotípicas compartilhadas pela célula de origem. Na imunidade adaptativa, todos os membros de um clone de linfócitos compartilham os mesmos genes de *Ig* ou *TCR* recombinados clonalmente, embora a reorganização dos genes *Ig V* de diferentes células dentro de um clone de células B possa variar em sequência devido a uma hipermutação somática que ocorre após a recombinação VDJ.

**Coestimulador** Uma molécula expressa na superfície das APCs em resposta aos estímulos imunes inatos, que fornecem um estímulo, em adição ao antígeno (o “segundo sinal”), necessário para a ativação das células T virgens. Os coestimuladores mais bem definidos são as moléculas B7 (CD80 e CD86) nas APCs que se ligam ao receptor CD28 nas células T. Outros coestimuladores se ligam a receptores que são expressos nas células T ativadas, levando a respostas efetoras aumentadas.

**Coinibidor** Uma proteína da superfície celular expressa pelas células apresentadoras de antígenos, células T ou B regulatórias, ou células de tecidos, que se liga aos receptores inibitórios nas células T efetoras, induzindo sinais que bloqueiam a ativação da célula T pelo antígeno. Um exemplo é o PD-L1, um coinibidor expresso em vários tipos celulares, que se liga ao PD-1 nas células T efetoras. A via PD-L1/PD-1 tem sido alvo terapêutico para aumentar as respostas antitumorais e antivirais da célula T.

**Colectinas** Uma família de proteínas, incluindo a lectina de ligação à manose, que

são caracterizadas por um domínio tipo colágeno e um domínio lectina (i.e., ligação a carboidrato). As colectinas atuam no sistema imune inato como receptores de reconhecimento de padrão microbiano e podem ativar o sistema complemento por ativação de C1q.

**Compartimento de MHC de classe II (MIIC)** Um subgrupo de endossomas (vesículas ligadas à membrana envolvidas nas vias celulares) encontrados em macrófagos e células B humanas que são importantes na via de MHC de classe II da apresentação de antígenos. O MIIC contém todos os componentes necessários para a formação de complexos peptídeo-molécula de MHC de classe II, incluindo enzimas que degradam antígenos proteicos, moléculas de classe II, cadeia invariante e HLA-DM.

**Complemento** Um sistema de proteínas séricas e de superfície celular que interagem umas com as outras e com outras moléculas do sistema imune para gerar importantes efetores das respostas imunes inata e adaptativa. As vias clássica, alternativa e da lectina do sistema complemento são ativadas por complexos antígeno-anticorpo, superfícies microbianas e lectinas plasmáticas ligadas aos microrganismos, respectivamente, e consistem em uma cascata de enzimas proteolíticas que geram mediadores inflamatórios e opsoninas. Todas as três vias levam à formação de um complexo lítico na célula terminal comum e que é inserido nas membranas celulares.

**Complexo BCR (receptor de célula B)** Um complexo multiproteico expresso na superfície dos linfócitos B que reconhece o antígeno e traduz os sinais de ativação dentro da célula. O complexo BCR inclui Ig de membrana, que é responsável pela ligação do antígeno, e proteínas Ig $\alpha$  e Ig $\beta$ , que iniciam os eventos de sinalização.

**Complexo de ataque à membrana (MAC, do inglês *membrane attack complex*)** Complexo lítico de componentes terminais da cascata do complemento, incluindo múltiplas cópias de C9, que se forma nas membranas das células-alvo. O MAC causa alterações iônicas letais nas células.

**Complexo maior de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*)** Um grande locus genético (no cromossoma 6 humano e cromossoma 17 murino) que inclui genes altamente polimórficos que codificam moléculas ligantes de peptídeos reconhecidas pelos linfócitos T. O locus MHC também inclui genes que codificam citocinas, moléculas envolvidas no processamento de antígeno e proteínas do complemento.

**Componente secretório** Uma porção proteoliticamente clivada do domínio extracelular de um receptor poli-Ig que permanece ligado a uma molécula de IgA nas secreções mucosas.

**Correceptor** Um receptor da superfície do linfócito que se liga ao complexo de antígeno ao mesmo tempo que Ig ou TCR de membrana se ligam ao antígeno e

produzem sinais necessários para uma ótima ativação do linfócito. CD4 e CD8 são correceptores de célula T que se ligam a partes não polimórficas da molécula de MHC concomitantemente à ligação do TCR aos resíduos polimórficos e ao peptídeo ligado. CR2 é um correceptor nas células B que se liga aos antígenos opsonizados por complemento ao mesmo tempo que a Ig de membrana se liga a outra parte do antígeno.

**CTLA-4** Uma proteína da superfamília de Ig expressa na superfície de células T efectoras ativadas e Treg, que se liga com alta afinidade a B7-1 e B7-2 e tem papel essencial na inibição das respostas da célula T. A CTLA-4 é essencial para a função da Treg e tolerância da célula T aos autoantígenos.

**Deaminase induzida por ativação (citidina) (AID, do inglês *activation-induced deaminase*)** Enzima expressa nas células B que catalisa a conversão de citosina em uracil no DNA, um passo necessário para a hipermutação somática e maturação por afinidade dos anticorpos e para a troca de classe de Ig.

**Dectinas** Receptores de reconhecimento padrão expressos nas células dendríticas que reconhecem carboidratos da parede células fúngica e induzem eventos sinalizadores que promovem infamação e aumentam as respostas imunes adaptativas.

**Defensinas** Peptídeos ricos em cisteína produzidos pelas células da barreira epitelial na pele, no intestino, no pulmão e outros tecidos e nos grânulos de neutrófilos e que agem como antibióticos de amplo espectro para matar uma grande variedade de bactérias e fungos. A síntese das defensinas é aumentada em resposta ao estímulo de receptores do sistema imune inato, como receptores do tipo Toll, e citocinas inflamatórias, como IL-1 e TNF.

**Deficiência de adesão de leucócito (LAD, do inglês *leukocyte adhesion deficiency*)** Uma doença de um raro grupo de doenças de imunodeficiência com complicações infecciosas que é causada pela expressão defeituosa de moléculas de adesão de leucócitos necessárias para o recrutamento tecidual de fagócitos e linfócitos. LAD-1 é decorrente de mutações no gene que codifica a proteína CD18, que é parte das integrinas  $\beta_2$ . LAD-2 é provocada por mutações em um gene que codifica um transportador de fucose envolvido na síntese de ligantes de leucócitos para selectinas endoteliais.

**Deficiência seletiva de imunoglobulina** Imunodeficiência caracterizada pela falta de somente uma de poucas classes ou subclasses de Ig. A deficiência de IgA é a deficiência seletiva de Ig mais comum, seguida pelas deficiências de IgG3 e IgG2. Pacientes com esses distúrbios podem estar sob risco de infecções bacterianas, porém muitos são normais.

**Deleção clonal** Mecanismo de tolerância de linfócitos no qual uma célula T imatura no timo ou uma célula B imatura na medula óssea se submete à morte apoptótica



como consequência do reconhecimento de um autoantígeno.

**Dessensibilização** Método de tratamento da doença da hipersensibilidade imediata (alergia) que envolve administração repetida de baixas doses de um antígeno ao quais os indivíduos são alérgicos. Este processo frequentemente previne reações alérgicas graves em exposições ambientais subsequentes ao antígeno, mas os mecanismos não são bem compreendidos.

**Desvio imune** Conversão de uma resposta de célula T associada a um grupo de citocinas, como as citocinas  $T_H1$ , que estimulam funções inflamatórias de macrófagos, a uma resposta associada a outras citocinas, como as citocinas  $T_H2$ , que ativam respostas anti-inflamatórias de macrófagos.

**Determinante** Uma porção específica de um antígeno macromolecular no qual um anticorpo se liga. No caso de um antígeno proteico reconhecido por uma célula T, o determinante é uma porção de peptídeo que se liga a uma molécula de MHC para o reconhecimento pelo TCR. Sinônimo de **epítopo**.

**Diabetes melito tipo 1** Doença caracterizada pela falta de insulina e que causa várias anormalidades metabólicas e vasculares. A deficiência de insulina resulta de destruição autoimune das células  $\beta$  produtoras de insulina nas ilhotas de Langerhans do pâncreas, normalmente durante a infância. Células  $CD4^+$  e  $CD8^+$ , anticorpos e citocinas têm sido implicados no dano à ilhota pancreática. Também denominado diabetes melito dependente de insulina.

**Diacilglicerol (DAG)** Uma molécula de sinalização gerada pela hidrólise de fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP<sub>2</sub>) mediada pela fosfolipase C (PLC $\gamma$ 1) durante a ativação de linfócitos pelo antígeno. A principal função do DAG é ativar uma enzima chamada de proteinoquinase C, que participa da geração de fatores de transcrição ativos.

**Diversidade** Existência de um grande número de linfócitos com diferentes especificidades antigênicas em qualquer indivíduo. A diversidade é uma propriedade fundamental do sistema imune adaptativo e é o resultado da variabilidade nas estruturas de locais de ligação do antígeno de receptores de linfócitos aos antígenos (anticorpos e TCRs).

**Diversidade combinatorial** Diversidade de Ig e especificidade de TCR geradas pelo uso de diferentes combinações de diversas variáveis, diversidade e segmentos unidos durante a recombinação somática do DNA no *loci* de Ig e TCR nas células B e T em desenvolvimento. A diversidade combinatorial é um mecanismo que trabalha conjuntamente com a diversidade juncional, para a geração de um grande número de diferentes genes de receptores de antígenos a partir de um número limitado de segmentos de gene de DNA.

**Diversidade juncional** Diversidade de anticorpos e repertórios de TCR que é

atribuída à adição ou remoção randômica de sequências de nucleotídeos nas junções entre segmentos de gene V, D, e J.

**Doença autoimune** Doença causada pela interrupção da autotolerância de tal forma que o sistema imune adaptativo responde aos autoantígenos e medeia o dano a células e tecidos. As doenças autoimunes podem ser causadas por ataque contra um órgão ou tecido (p. ex., esclerose múltipla, tireoidite ou diabetes tipo 1) ou contra antígenos múltiplos e sistemicamente distribuídos (p. ex., lúpus eritematoso sistêmico).

**Doença do enxerto *versus* hospedeiro** Uma doença que ocorre nos receptores de transplantes de medula óssea e que é causada pela reação de células T maduras na medula transplantada com aloantígenos nas células do hospedeiro. A doença afeta mais frequentemente a pele, o fígado e os intestinos.

**Doença do imunocomplexo** Doença inflamatória causada pela deposição de complexos antígeno-anticorpo nas paredes dos vasos sanguíneos, resultando em ativação local do complemento e recrutamento de fagócitos. Os imunocomplexos podem se formar em virtude da superprodução de anticorpos contra antígenos microbianos ou como resultado de produção de autoanticorpo no quadro de uma doença autoimune, como o lúpus eritematoso sistêmico. A deposição de imunocomplexos nas membranas basais de capilares especializados do glomérulo renal pode causar glomerulonefrite e prejuízo da função renal. A deposição sistêmica de imunocomplexos nas paredes arteriais pode levar à vasculite, com trombose e dano isquêmico a vários órgãos.

**Doença do soro** Doença causada pela injeção de grandes doses de um antígeno proteico no sangue e caracterizada pela deposição de complexos antígeno-anticorpo (imunes) nas paredes dos vasos sanguíneos, especialmente nos rins e nas articulações. A deposição dos imunocomplexos leva a fixação do complemento e recrutamento de leucócitos e, subsequentemente, à glomerulonefrite e artrite. A doença do soro foi originalmente descrita como um distúrbio que ocorre em pacientes que receberam injeção de soro contendo anticorpos antitoxina para prevenir a difteria.

**Doença granulomatosa crônica** Uma rara imunodeficiência herdada causada por mutações nos genes que codificam componentes do complexo da enzima oxidase de fagócitos e que é necessária para a morte do microrganismo por leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. A doença é caracterizada por recorrentes infecções intracelulares bacterianas e fúngicas, frequentemente acompanhadas por respostas imunes crônicas mediadas por células e formação de granulomas.

**Doença inflamatória imunomediada** Um amplo grupo de distúrbios nos quais as respostas imunes, ao próprio ou a antígenos estranhos, e a inflamação crônica

são os componentes principais.

**Doença inflamatória intestinal (IBD, do inglês *inflammatory bowel disease*)** Um grupo de distúrbios incluindo colite ulcerativa e doença de Crohn, caracterizado por inflamação crônica no trato gastrointestinal. A etiologia da IBD não é conhecida, mas algumas evidências indicam que é causada por regulação inadequada das respostas de célula T, provavelmente contra bactérias comensais intestinais. A IBD desenvolve-se em camundongos sem o gene para IL-2, IL-10 ou cadeia de TCR $\alpha$ .

**Doenças de hipersensibilidade** Distúrbios causados por respostas imunes. As doenças de hipersensibilidade incluem as doenças autoimunes, nas quais as respostas imunes são direcionadas contra autoantígenos, e aquelas que resultam de respostas descontroladas ou excessivas contra antígenos estranhos, como microrganismos e alérgenos. O dano tecidual que ocorre nas doenças de hipersensibilidade é decorrente dos mesmos mecanismos efetores usados pelo sistema imune para proteção contra os microrganismos.

**Domínio de imunoglobulina** Uma estrutura tridimensional globular encontrada em muitas proteínas no sistema imune, incluindo Igs, TCRs e moléculas de MHC. Os domínios Ig têm cerca de 110 resíduos de aminoácidos de extensão, incluem uma ponte dissulfeto interna e possuem duas camadas de folhas  $\beta$ -pregueadas, cada camada composta de três a cinco bandas de cadeia polipeptídica antiparalela. Os domínios Ig são classificados como tipo V ou tipo C baseando-se nas homologias mais próximas ou aos domínios Ig V ou C.

**Domínio Src de homologia 2 (SH2)** Uma estrutura de domínio tridimensional com aproximadamente 100 resíduos de aminoácidos presente em muitas proteínas de sinalização e que permite interações específicas e não covalentes com outras proteínas através da ligação à fosfotirosina. Cada domínio SH2 tem uma especificidade única de ligação que é determinada pelos resíduos de aminoácidos adjacentes à fosfotirosina na proteína-alvo. Várias proteínas envolvidas nos eventos iniciais de sinalização nos linfócitos T e B interagem umas com as outras através de domínios SH2.

**Domínio Src de homologia 3 (SH3)** Uma estrutura de domínio tridimensional com aproximadamente 60 resíduos de aminoácidos presente em muitas proteínas de sinalização e que medeia a ligação proteína-proteína. Os domínios SH3 ligam-se a resíduos de prolina e funcionam cooperativamente com os domínios SH2 da mesma proteína. Por exemplo, SOS, o fator de troca de nucleotídeo guanina para Ras, contém ambos os domínios SH2 e SH3, os quais estão envolvidos na ligação do SOS à proteína adaptadora Grb-2.

**Ectoparasitas** Parasitas que vivem na superfície de um animal, tais como carrapatos e ácaros. Ambos os sistemas imunes inato e adaptativo podem ter papel na proteção contra ectoparasitas, frequentemente pela destruição dos estágios larvais

destes organismos.

**Edição de receptor** Processo pelo qual algumas células B imaturas que reconhecem os próprios antígenos na medula óssea podem ser induzidas a alterarem suas especificidades de Ig. A edição de receptor envolve a reativação dos genes RAG, recombinações adicionais de cadeia leve VJ e nova produção de cadeia leve de Ig, o que permite à célula expressar um receptor Ig diferente que não é autorreativo.

**Encefalomielite autoimune experimental (EAE, do inglês *experimental autoimmune encephalomyelitis*)** Um modelo animal de esclerose múltipla, uma doença autoimune desmielinizante do sistema nervoso central. A EAE é induzida em roedores com imunização com componentes da bainha de mielina (p. ex., proteína básica da mielina) dos nervos, misturados com um adjuvante. A doença é mediada em grande parte por células T CD4<sup>+</sup> secretoras de citocinas específicas para as proteínas da bainha de mielina.

**Endossoma** Uma vesícula intracelular ligada à membrana onde proteínas extracelulares são internalizadas durante o processamento do antígeno. Os endossomas têm um pH ácido e possuem enzimas proteolíticas que degradam proteínas em peptídeos que se ligam às moléculas de MHC de classe II. Um subgrupo de endossomas ricos em MHC de classe II, chamado de MIIc, tem papel especial no processamento de antígenos e apresentação pela via de classe II.

**Endotoxina** Um componente da parede celular de bactérias Gram-negativas, também chamado de **lipopolissacarídeo** (LPS), que é liberado pelas bactérias mortas e estimula as respostas inflamatórias imunes inatas através da ligação em TLR4 de diferentes tipos celulares, incluindo fagócitos, células endoteliais, células dendríticas e células epiteliais de barreira. A endotoxina contém ambas as porções de componentes lipídicos e de carboidrato (polissacarídeo).

**Ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA)** Método de quantificação de um antígeno imobilizado em uma superfície sólida pelo uso de um anticorpo específico com uma enzima covalentemente acoplada. A quantidade de anticorpo que se liga ao antígeno é proporcional à quantidade de antígeno presente e é determinada por medida espectrofotométrica da conversão de um substrato claro a um produto colorido causado pela enzima acoplada (ver [Apêndice IV](#)).

**Enxerto** Tecido ou órgão que é removido de um local e colocado em outro local, normalmente em um indivíduo diferente.

**Enxerto arteriosclerótico** Oclusão de artérias enxertadas causada por proliferação das células musculares lisas da íntima. Este processo é evidente dentro de 6 meses a 1 ano após o transplante e é responsável pela rejeição crônica de enxertos de órgãos vascularizados. O mecanismo provavelmente é uma resposta

imune crônica aos aloantígenos da parede do vaso. Também é chamado de arteriosclerose acelerada.

**Enxerto singênico** Um enxerto de um doador que é geneticamente idêntico ao receptor. Os enxertos singênicos não são rejeitados.

**Eosinófilo** Um granulócito derivado da medula óssea que é abundante nos infiltrados inflamatórios nas fases tardias das reações de hipersensibilidade imediata e contribui para muitos dos processos patológicos nas doenças alérgicas. Os eosinófilos são importantes na defesa contra parasitas extracelulares, incluindo helmintos.

**Epítopo** Porção específica de um antígeno macromolecular no qual um anticorpo se liga. No caso de um antígeno proteico reconhecido por uma célula T, um epítopo é a porção peptídica que se liga a uma molécula de MHC para o reconhecimento pelo TCR. Sinônimo de **determinante**.

**Epítopo imunodominante** O epítopo de um antígeno proteico que elicit a maioria das respostas em um indivíduo imunizado com proteínas inativas. Os epítotos imunodominantes correspondem aos peptídios das proteínas que são proteoliticamente geradas dentro das APCs e se ligam mais avidamente às moléculas de MHC e, mais provavelmente, estimularão as células T.

**Espalhamento de epítopo** Na autoimunidade, o desenvolvimento das respostas imunes a múltiplos epítotos como uma doença imune originalmente visando a um único epítopo progride provavelmente em virtude da interrupção na tolerância e liberação de antígenos teciduais adicionais decorrentes do processo inflamatório estimulado pela resposta inicial.

**Espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*)**

Metabólitos de oxigênio altamente reativos, incluindo ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, que são produzidos pelos fagócitos ativados. As espécies reativas de oxigênio são usadas pelos fagócitos para formar oxialetos que danificam a bactéria ingerida. Eles também podem ser liberados das células e promover respostas inflamatórias ou causar dano tecidual.

**Especificidade** Uma característica cardinal do sistema imune adaptativo, ou seja, as respostas imunes são direcionadas e capazes de distinguir entre antígenos distintos e pequenas partes de antígenos macromoleculares. Esta fina especificidade é atribuída aos receptores de antígenos de linfócitos que podem se ligar a uma molécula, mas não a outra, mesmo intimamente relacionada.

**Exclusão alélica** Expressão exclusiva de somente um de dois alelos herdados que codifica cadeias pesada e leve de Ig e cadeias TCR  $\beta$ . A exclusão alélica ocorre quando o produto proteico de um locus receptor antigênico produtivamente recombinado em um cromossoma bloqueia o rearranjo do locus correspondente no outro cromossoma. Esta propriedade garante que cada linfócito expressará um

único receptor de antígeno e que todos os receptores de antígenos expressos por um clone de linfócitos terão especificidade idêntica. Pelo fato de os *loci* de cadeias TCR  $\alpha$  não mostrarem exclusão alélica, algumas células T expressam dois tipos diferentes de TCR.

**Expansão clonal** Aumento de ~10.000 a 100.000 vezes no número de linfócitos específicos para um antígeno que resulta de estimulação e proliferação das células T virgens pelo antígeno. A expansão clonal ocorre nos tecidos linfoides e é necessária para gerar linfócitos efetores específicos para antígenos em quantidade suficiente para erradicar infecções.

**Fab (fragmento, ligante de antígeno)** Fragmento proteolítico de uma molécula de anticorpo IgG que inclui uma cadeia leve completa pareada com um fragmento de cadeia pesada contendo o domínio variável e somente o primeiro domínio constante. Os fragmentos Fab retêm a habilidade de se ligar monovalentemente a um antígeno, mas não podem interagir com receptores Fc IgG nas células ou com complemento. Dessa maneira, as preparações Fab são usadas na pesquisa e aplicações terapêuticas quando a ligação do antígeno é desejada sem a ativação das funções efectoras. (O fragmento Fab retém a região da dobra da cadeia pesada.)

**Fagócitos mononucleares** Células com uma linhagem óssea comum cuja principal função é a fagocitose. Estas células atuam como células acessórias nas fases de reconhecimento e ativação da resposta imune adaptativa e como células efectoras na imunidade inata e adaptativa. Os fagócitos mononucleares circulam no sangue como uma forma diferenciada incompleta denominada monócito e, uma vez que alcançam os tecidos, amadurecem em macrófagos.

**Fagocitose** Processo pelo qual certas células do sistema imune inato, incluindo macrófagos e neutrófilos, engolfam grandes partículas (> 0,5  $\mu\text{m}$  em diâmetro), tais como um microrganismo. A célula circunda a partícula com extensões de sua membrana plasmática mediante um processo dependente de energia do citoesqueleto. Este processo resulta na formação de uma vesícula intracelular denominada fagossoma, que contém a partícula ingerida.

**Fagossoma** Uma vesícula intracelular ligada à membrana e que contém microrganismos ou material particulado do ambiente extracelular. Os fagossomas são formados durante o processo de fagocitose. Eles se fundem com outras estruturas vesiculares, como lisossomas, levando à degradação enzimática do material ingerido.

**Família de proteínas Bcl-2** Uma família de proteínas membranares citoplasmáticas e mitocondriais parcialmente homólogas que regulam a apoptose, influenciando a permeabilidade da membrana mitocondrial. Os membros desta família podem ser pró-apoptóticos (p. ex., Bax, Bad e Bak) ou antiapoptóticos (p. ex., Bcl-2 e Bcl-X<sub>L</sub>).



**Família de receptor acoplado à proteína G** Uma família diversa de receptores para hormônios, mediadores lipídicos inflamatórios e quimiocinas que usam proteínas G triméricas para a sinalização intracelular.

**Fas (CD95)** Um receptor de morte da família de receptor do TNF que é expresso na superfície das células T e muitos outros tipos celulares e inicia uma cascata de sinalização que leva à morte apoptótica da célula. A via de morte é iniciada quando o Fas se liga ao ligante Fas expresso nas células T ativadas. A morte de linfócitos mediada pelo Fas é importante para a manutenção da autotolerância. Mutações no gene *FAS* causam doenças autoimunes sistêmicas.

**Fase efetora** Fase da resposta imune na qual um antígeno estranho é destruído ou inativado. Por exemplo, na resposta imune humoral, a fase efetora pode ser caracterizada por ativação de complemento dependente de anticorpo e fagocitose de bactéria opsonizada por anticorpo ou complemento.

**Fator ativador de plaqueta (PAF, do inglês *platelet-activating factor*)** Um mediador lipídico derivado de fosfolípidios de membrana de vários tipos celulares, incluindo mastócitos e células endoteliais. O PAF pode causar broncoconstrição e dilatação vascular e extravasamento, e também pode ser um importante mediador na asma.

**Fator autócrino** Uma molécula que age na mesma célula que produz o fator. Por exemplo, a IL-2 é um fator de crescimento de células T autócrino que estimula a atividade mitótica da célula T que a produz.

**Fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF, do inglês *granulocyte colony-stimulating factor*)** Uma citocina produzida por células T ativadas, macrófagos e células endoteliais nos locais de infecção e que age na medula óssea para aumentar a produção e mobilizar neutrófilos para substituírem aqueles consumidos nas reações inflamatórias.

**Fator estimulador de colônia de granulócito e monócito (GM-CSF, do inglês *granulocyte-monocyte colony-stimulating factor*)** Uma citocina produzida por células T ativadas, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos do estroma e que age na medula óssea para aumentar a produção de neutrófilos e monócitos. O GM-CSF também é um fator ativador de macrófagos e promove a maturação de células dendríticas.

**Fator nuclear de células T ativadas (NFAT, do inglês *nuclear factor of activated cells*)** Um fator de transcrição necessário para a expressão de genes de IL-2, IL-4, TNF e outras citocinas. As quatro NFATs diferentes são cada uma codificadas por genes separados; NFATp e NFATc são encontradas nas células T. NFAT citoplasmática é ativada por defosforilação mediada por calcineurina, dependente de cálcio/calmodulina, o que permite ao NFAT translocar para o núcleo e se ligar às sequências consenso de ligação nas regiões regulatórias dos genes de IL-2,

IL-4 e outras citocinas, normalmente em associação com outros fatores de transcrição, tais como AP-1.

**Fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B, do inglês *nuclear factor kappa;B*)** Uma família de fatores de transcrição composta de proteínas homodímeras ou heterodímeras homólogas à proteína c-Rel. As proteínas NF- $\kappa$ B são necessárias para a transcrição induzível de muitos genes importantes em ambas as respostas imunes inata e adaptativa.

**Fator parácrino** Uma molécula que age nas células na proximidade da célula que produz o fator. A maioria das citocinas age em função parácrina.

**Fatores associados ao receptor de TNF (TRAFs, do inglês *TNF receptor-associated factors*)** Uma família de moléculas adaptadoras que interagem com os domínios citoplasmáticos de vários receptores na família do receptor de TNF, incluindo TNF-RII, receptor de linfotóxina (LT)- $\beta$  e CD40. Cada um desses receptores contém um motivo citoplasmático que se liga a diferentes TRAFs, que por sua vez envolvem outras moléculas sinalizadoras, levando à ativação dos fatores de transcrição AP-1 e NF- $\kappa$ B.

**Fatores de estimulação de colônia (CSFs, do inglês *colony-stimulating factors*)** Citocinas que promovem a expansão e diferenciação de células progenitoras da medula óssea. São essenciais para a maturação de hemácias, granulócitos, monócitos e linfócitos. Exemplos de CSFs incluem fator estimulador de colônia de granulócito e monócito (GM-CSF), fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF) e IL-3.

**Fatores regulatórios de interferon (IRFs, do inglês *interferon regulatory factors*)** Uma família de fatores de transcrição induzivelmente ativados que são importantes na expressão de genes inflamatórios e antivirais. Por exemplo, IFR3 é ativado por sinais TLR e regula a expressão de interferons tipo I, que são citocinas que protegem as células da infecção viral.

**Fc (fragmento, cristalino)** Fragmento proteolítico de IgG que contém somente regiões carboxiterminais de duas cadeias pesadas ligadas a um dissulfeto. O Fc também é usado para descrever a região correspondente de uma molécula de Ig intacta que medeia funções efetoras através de ligação a receptores da superfície celular ou a proteína C1a do complemento. (Fragmentos Fc são assim denominados porque eles tendem a cristalizar a partir da solução.)

**Fc $\epsilon$ RI** Um receptor de alta afinidade para a região constante carboxiterminal das moléculas de IgE que é expresso nos mastócitos, basófilos e eosinófilos. As moléculas Fc $\epsilon$ RI dos mastócitos normalmente são ocupadas pela IgE, e ligações cruzadas induzidas por antígeno destes complexos IgE-Fc $\epsilon$ RI ativam os mastócitos e iniciam reações de hipersensibilidade imediatas.

**Fenda de ligação a peptídeo** Porção de uma molécula de MHC que se liga a peptídeos para a apresentação às células T. A fenda é composta de  $\alpha$ -hélices pareadas repousando em um assoalho composto de até oito cadeias de folhas  $\beta$ -pregueadas. Os resíduos polimórficos, que são os aminoácidos que variam dentre diferentes alelos de MHC, estão localizados na fenda e em seu entorno.

**Ficolinas** Proteínas plasmáticas hexaméricas do sistema imune inato, contendo domínios do tipo colágeno e domínios de reconhecimento de carboidrato do tipo fibrinogênio, que se ligam a componentes da parede celular de bactérias Gram-positivas, opsonizando-as e ativando o complemento.

**Fito-hemaglutinina (PHA, do inglês *phytohemagglutinin*)** Uma proteína, ou lectina, de ligação de carboidrato, produzida por plantas que fazem ligação cruzada com moléculas de superfície da célula T humana, incluindo receptor de célula T, induzindo, assim, a ativação policlonal e aglutinação de células T. A PHA é frequentemente usada na imunologia experimental para o estudo da ativação da célula T. Na medicina clínica, a PHA é utilizada para avaliar se as células T de um paciente são funcionais ou se induzem mitose da célula T com a finalidade de gerar dados cariotípicos.

**FK506** Fármaco imunossupressor (também conhecido como tacrolimus) usado para prevenir a rejeição ao aloenxerto que atua bloqueando a transcrição de gene de citocina em célula T, similar à ciclosporina. O FK506 liga-se a uma proteína citosólica chamada proteína ligante de FK506, e o complexo resultante liga-se à calcineurina, inibindo, assim, a ativação e translocação nuclear do fator de transcrição NFAT.

**Folha linfoide periarteriolar (PALS, do inglês *periarteriolar lymphoid sheath*)** Uma linha de linfócitos rodeando pequenas arteríolas no baço, adjacente aos folículos linfóides. A PALS contém principalmente linfócitos T, cerca de dois terços dos quais são  $CD4^+$  e um terço é  $CD8^+$ . Nas respostas imunes humorais aos antígenos proteicos, os linfócitos B são ativados na interface entre a PALS e os folículos e, então, migram para dentro dos folículos para formar os centros germinativos.

**Folículo** Ver [folículo linfoide](#).

**Folículo linfoide** Uma região do linfonodo ou baço rica em célula B e que é local de proliferação e diferenciação de célula B induzida por antígeno. Nas respostas de célula B dependente de célula T aos antígenos proteicos, um centro germinativo se forma dentro dos folículos.

**Fosfatase (proteína fosfatase)** Uma enzima que remove grupos fosfato das cadeias laterais de certos resíduos de aminoácidos de proteínas. As fosfatases proteicas nos linfócitos, como CD45 ou calcineurina, regulam a atividade de várias moléculas de sinalização de sinal e fatores de transcrição. Algumas fosfatases

proteicas podem ser específicas para resíduos de fosfotirosina e outras para resíduos de fosfoserina e fosfotreonina.

**Fosfolipase C $\gamma$  (PLC $\gamma$ , do inglês *fosfolipase C $\gamma$* )** Uma enzima que catalisa a hidrólise do fosfolipídio a membrana plasmática PIP<sub>2</sub> para gerar duas moléculas de sinalização, o IP<sub>3</sub> e o DAG. A PLC $\gamma$  torna-se ativada em linfócitos mediante ligação do antígeno ao receptor de antígeno.

**FoxP3** Uma família de fatores de transcrição expressa por e necessária para o desenvolvimento das células T CD4<sup>+</sup> regulatórias. Mutações no FoxP3 em camundongos e humanos resultam na ausência das células T CD25<sup>+</sup> regulatórias e em doença autoimune multissistêmica.

**Fragmento F(ab')<sub>2</sub>** Fragmento proteolítico de uma molécula de IgG que inclui duas cadeias leves completas, mas somente um domínio variável, primeiro domínio constante e região de dobradiça das duas cadeias pesadas. Os fragmentos F(ab')<sub>2</sub> retêm toda a região bivalente de ligação do antígeno de uma molécula de IgG intacta, mas não podem se ligar a complemento ou receptores IgG Fc. Eles são usados na pesquisa e em aplicações terapêuticas quando a ligação do antígeno é desejável sem as funções efetoras do anticorpo.

**GATA-3** Fator de transcrição que promove a diferenciação de células T<sub>H</sub>2 a partir de células T inativas.

**Genes 1 e 2 de reativação de recombinação (*RAG1* e *RAG2*, do inglês *recombination-activating genes*)** Genes que codificam as proteínas RAG-1 e RAG-2, que formam a recombinase V(D)J e são expressas nas células B e T em desenvolvimento. As proteínas RAG ligam-se a sequências de recombinação de sinal e são críticas para eventos de recombinação de DNA que formam *Ig* funcionais e genes *TCR*. Dessa maneira, as proteínas RAG são necessárias para a expressão de receptores de antígenos e para a maturação de linfócitos B e T.

**Genes de resposta imune (*Ir*)** Originalmente definidos como genes de linhagens puras de roedores que foram herdados de maneira mendeliana dominante e que controlavam a habilidade dos animais em produzirem anticorpos contra polipeptídeos sintéticos simples. Agora sabemos que os genes *Ir* são genes polimórficos que codificam moléculas de MHC de classe II, as quais expõem peptídeos aos linfócitos T, mostrando-se, portanto, necessários para a ativação da célula T e respostas de célula B dependente de célula T auxiliar (anticorpo) às proteínas antigênicas.

**Glicoproteína de envelope (*Env*)** Uma glicoproteína de membrana codificada por um retrovírus que é expresso na membrana plasmática de células infectadas e na membrana derivada da célula do hospedeiro recoberta de partículas virais. As proteínas *Env* frequentemente são necessárias para a infectividade viral. As

proteínas Env do HIV incluem gp41 e gp120, que se ligam ao CD4 e receptores de quimiocinas, respectivamente nas células T humanas, e medeiam a fusão das membranas viral e da célula T.

**Glomerulonefrite** Inflamação do glomérulo renal, frequentemente iniciada por mecanismos imunopatológicos como deposição de complexos antígeno-anticorpo na membrana basal glomerular ou ligação de anticorpos a antígenos expressos no glomérulo. Os anticorpos podem ativar o complemento em fagócitos, e a resposta inflamatória resultante pode levar à falência renal.

**Granuloma** Nódulo no tecido inflamatório composto de agregados de macrófagos e linfócitos T, normalmente com fibrose associada. A inflamação granulomatosa é uma forma de hipersensibilidade do tipo retardada crônica, frequentemente em resposta a microrganismos persistentes, tais como *Mycobacterium tuberculosis* e alguns fungos, ou em resposta a antígenos particulados que não são facilmente fagocitados.

**Granzimas** Uma enzima serinoprotease encontrada nos grânulos de CTLs e células NK que é liberada por exocitose, entra nas células-alvo, quebra proteoliticamente e ativa as caspases, que então clivam vários substratos e induzem a apoptose da célula-alvo.

**Halótipo** Grupo de alelos de MHC herdados de um dos pais e, assim, em um cromossoma.

**Hapteno** Uma pequena molécula que pode se ligar a um anticorpo, mas deve estar acoplada a uma macromolécula (carreador) para estimular uma resposta imune adaptativa específica para aquela molécula. Por exemplo, a imunização com dinitrofenol (DNP) sozinho não estimula uma resposta de anticorpo contra DNP, mas a imunização com uma proteína com um hapteno DNP covalentemente ligado desencadeará a resposta.

**Helminto** Um verme parasita. As infecções helmínticas frequentemente elicitam respostas imunes dependentes de T<sub>H</sub>2 caracterizadas por infiltrados inflamatórios ricos em eosinófilos e produção de IgE.

**Hematopoese** Desenvolvimento de células sanguíneas maduras, incluindo eritrócitos, leucócitos e plaquetas, a partir de células-tronco pluripotentes na medula óssea e no fígado fetais. A hematopoese é regulada por várias citocinas e diferentes fatores de crescimento produzidos pelas células estromais da medula óssea, células T e outros tipos celulares.

**Hibridoma** Uma linhagem celular derivada por fusão, ou hibridização celular somática, entre um linfócito normal e uma linhagem tumoral de linfócito imortalizado. Os hibridomas de célula B criados por fusão das células B normais de especificidade antigênica definida com uma linhagem células de mieloma são

usados para produção de anticorpos monoclonais. Os hibridomas de células T criados por fusão de uma célula T normal de especificidade definida com uma linhagem tumoral de célula T são comumente usados na pesquisa.

**Hipermutação somática** Mutações pontuais de alta frequência nas cadeias pesada e leve de Ig e que ocorrem nas células B do centro germinativo em resposta aos sinais das células T<sub>FH</sub>. As mutações que resultam em afinidade aumentada dos anticorpos pelos antígenos fornecem uma vantagem na sobrevivência seletiva às células B que produzem aqueles anticorpos e levam à maturação da afinidade da resposta imune humoral.

**Hipersensibilidade de contato** Estado de responsividade imune a certos agentes químicos que leva a reações de hipersensibilidade do tipo retardada mediada por células T após contato com a pele. Substâncias que disparam a hipersensibilidade de contato, incluindo íons de níquel e urishiol na erva venenosa, se ligam e modificam as próprias proteínas nas superfícies das APCs, que são então reconhecidas pelas células CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>.

**Hipersensibilidade do tipo retardada (DTH, do inglês *delayed-type hypersensitivity*)** Uma reação imune na qual a ativação de macrófagos dependente de célula T e a inflamação causam lesão tecidual. Uma reação DTH à injeção subcutânea de antígeno frequentemente é usada como um ensaio para a imunidade mediada por célula (p. ex., teste cutâneo com derivado de proteína purificada para a imunidade ao *Mycobacterium tuberculosis*).

**Hipersensibilidade imediata** Tipo de reação imune responsável pelas doenças alérgicas, que é dependente da ativação mediada por antígeno de mastócitos teciduais recobertos por IgE. Os mastócitos liberam mediadores que induzem aumento na permeabilidade vascular, vasodilatação, contração de músculo liso bronquial e visceral e inflamação local.

**Hipótese da seleção clonal** Um dogma fundamental do sistema imune (não mais uma hipótese) afirmando que cada indivíduo possui numerosos linfócitos derivados clonalmente, cada clone tendo surgido a partir de precursor único, expressando um receptor de antígeno e capaz de reconhecimento e respondendo a um determinante antigênico distinto. Quando um antígeno entra, ele seleciona um clone preexistente específico e o ativa.

**Hipótese de dois sinais** Uma hipótese comprovada de que a ativação dos linfócitos necessita de dois sinais distintos, o primeiro sendo o antígeno e o segundo, produtos microbianos ou componentes das respostas imunes inatas aos microrganismos. A necessidade de estímulos adicionais disparados pelos microrganismos ou pelas reações imunes inatas (sinal 2) garante que as respostas imunes são induzidas quando necessário, ou seja, contra microrganismos e outras substâncias tóxicas e não contra substâncias inofensivas,



incluindo os próprios antígenos. O sinal 2 é referido como coestimulador, sendo frequentemente mediado por moléculas de membrana nas APCs profissionais, tais como proteínas B7.

**Histamina** Uma amina biogênica armazenada nos grânulos dos mastócito e um importante mediador da hipersensibilidade imediata. A histamina liga-se a receptores específicos em vários tecidos e induz aumento na permeabilidade vascular e contração da musculatura brônquica e do músculo liso intestinal.

**Hit letal** Termo usado para descrever os eventos que resultam de dano irreversível a uma célula-alvo quando a CTL se liga a ela. O *hit* letal inclui exocitose de grânulo de CTL e liberação dependente de perforina de enzimas indutoras de apoptose (granzimas) no citoplasma da célula-alvo.

**HLA** Ver **antígenos de leucócito humano**.

**HLA-DM** Uma molécula de troca de peptídeo que desempenha papel crucial na via do MHC de classe II na apresentação de antígeno. O HLA-DM é encontrado no compartimento endossomal de MHC especializado e facilita a remoção do peptídeo CLIP derivado de cadeia invariante e a ligação de outros peptídeos às moléculas de MHC de classe II. A HLA-DM é codificada por um gene no MHC e é estruturalmente similar às moléculas de MHC de classe II, mas não é polimórfico.

**Homeostasia** No sistema imune adaptativo, a manutenção do número constante e o repertório diverso de linfócitos, apesar do surgimento de novos linfócitos e da tremenda expansão de clones individuais que podem ocorrer durante as exposições aos antígenos imunogênicos. A homeostasia é alcançada por meio de várias vias reguladas de morte e inativação de linfócitos.

**Idiótipo** Propriedade de um grupo de anticorpos ou TCRs definida pela partilha de um idiotopo particular, ou seja, anticorpos que compartilham um idiotopo particular pertencem ao mesmo *idiotipo*. *Idiotipo* também é usado para descrever uma coleção de idiotopos expressos por uma molécula Ig, tendo frequentemente sinonímia com *idiotopo*.

**Ignorância clonal** Uma forma de irresponsividade do linfócito na qual autoantígenos são ignorados pelo sistema imune mesmo quando linfócitos específicos para aqueles antígenos permanecem viáveis e funcionais.

**Immunoblot** Uma técnica analítica na qual anticorpos são usados para detectar a presença de um antígeno ligado (i.e., ligados) a uma matriz sólida, como papel de filtro (também conhecida como *Western blot*).

**Imunidade** Proteção contra doença, normalmente doença infecciosa, mediada por células e tecidos que são coletivamente chamados de sistema imune. De maneira geral, a imunidade se refere à habilidade de responder às substâncias estranhas, incluindo microrganismos e moléculas não infecciosas.

**Imunidade adaptativa** Forma de imunidade que é mediada por linfócitos e estimulada pela exposição a agentes infecciosos. Contrapondo-se à imunidade inata, a imunidade adaptativa é caracterizada por uma requintada especificidade para macromoléculas distintas e por memória, que é a habilidade de responder mais vigorosamente a exposições repetidas ao mesmo microrganismo. A imunidade adaptativa é também chamada de imunidade específica ou imunidade adquirida.

**Imunidade ativa** Forma da imunidade adaptativa que é induzida pela exposição a um antígeno estranho e ativação de linfócitos e na qual o indivíduo imunizado tem papel central na resposta ao antígeno. Este tipo contrasta com a imunidade passiva, na qual o indivíduo recebe os anticorpos ou linfócitos de outro indivíduo que foi previamente ativamente imunizado.

**Imunidade humoral** Tipo de resposta imune adaptativa mediada por anticorpos produzidos pelos linfócitos B. A imunidade humoral é o principal mecanismo de defesa contra microrganismos extracelulares e suas toxinas.

**Imunidade inata** Proteção contra infecção que se baseia em mecanismos que existiam antes da infecção, são capazes de uma rápida resposta aos microrganismos e reagem essencialmente da mesma maneira a repetidas infecções. O sistema imune inato inclui barreiras epiteliais, células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células NK e sistema complemento e citocinas, amplamente sintetizadas por células dendríticas e fagócitos mononucleares, que regulam e coordenam muitas atividades das células da imunidade inata.

**Imunidade mediada por célula (CMI, do inglês *cell-mediated immunity*)** Forma de imunidade adaptativa que é mediada por linfócitos T e serve como mecanismo de defesa contra vários tipos de microrganismos que são fagocitados pelos fagócitos ou por células não fagocíticas infectadas. As respostas imunes mediadas por célula incluem ativação de fagócitos mediada por célula T CD4<sup>+</sup> e morte de células infectadas mediada por CTL CD8<sup>+</sup>.

**Imunidade neonatal** Imunidade humoral passiva às infecções em mamíferos nos primeiros meses de vida, antes do completo desenvolvimento do sistema imune. A imunidade neonatal é mediada por anticorpos produzidos pela mãe e transportados através da placenta para a circulação fetal antes do nascimento ou no leite ingerido e transportado através do epitélio intestinal.

**Imunidade passiva** Forma de imunidade a um antígeno que é estabelecida em um indivíduo por meio da transferência de anticorpos ou linfócitos de um indivíduo que está imunizado aos antígenos. O receptor de tal transferência pode se tornar imune ao antígeno sem nunca ter sido exposto ou ter respondido ao antígeno. Um exemplo de imunidade passiva é a transferência de soro humano contendo

anticorpos específicos para certas toxinas microbianas ou veneno de cobra a um indivíduo previamente imunizado.

**Imunidade tumoral** Proteção contra o desenvolvimento ou progressão de tumores pelo sistema imune. Embora as respostas imunes aos tumores de ocorrência natural possam ser frequentemente demonstradas, tumores escapam com frequência a essas respostas. Novas terapias que têm como alvo moléculas inibitórias da célula T, como PD-1, vêm mostrando-se efetivas no aumento da imunidade antitumoral mediada por célula T.

**Imunocomplexos** Um complexo multimolecular de moléculas de anticorpo com antígeno ligado. Pelo fato de cada molécula de anticorpo ter um mínimo de dois locais de ligação ao antígeno e muitos antígenos serem multivalentes, os imunocomplexos podem variar grandemente em tamanho. Os imunocomplexos ativam mecanismos efetores da imunidade humoral, tais como a via clássica do complemento e a ativação da fagocitose mediada por receptor Fc. A deposição de imunocomplexos circulantes nas paredes dos vasos sanguíneos ou o glomérulo renal podem levar a inflamação e doença.

**Imunodeficiência** Ver **imunodeficiência adquirida e imunodeficiência congênita**.

**Imunodeficiência adquirida** Deficiência no sistema imune que é adquirida após o nascimento, normalmente por causa de infecção (p. ex., AIDS) e não está relacionada com defeito genético. Sinônimo de **imunodeficiência secundária**.

**Imunodeficiência combinada grave (SCID, do inglês *severe combined immunodeficiency*)** Doenças de imunodeficiência nas quais ambos os linfócitos B e T não se desenvolvem ou não funcionam apropriadamente e, assim, ambas as imunidade humoral e imunidade mediada por célula são prejudicadas. Crianças com SCID normalmente têm infecções durante o primeiro ano de vida e sucumbem a essas infecções a menos que a imunodeficiência seja tratada. A SCID tem várias causas genéticas.

**Imunodeficiência congênita** Um defeito genético no qual uma deficiência herdada em algum aspecto do sistema imune inato ou adaptativo leva a uma suscetibilidade a infecções. A imunodeficiência congênita é frequentemente manifestada precocemente na infância e adolescência, mas algumas vezes é detectada tardiamente na vida. Sinônimo de **imunodeficiência primária**.

**Imunodeficiência primária** Ver **imunodeficiência congênita**.

**Imunodeficiência secundária** Ver **imunodeficiência adquirida**.

**Imunofluorescência** Técnica na qual uma molécula é detectada pelo uso de um anticorpo marcado com um indicador fluorescente. Por exemplo, na microscopia de imunofluorescência, células que expressam um antígeno de superfície em

particular podem ser coradas com anticorpo conjugado à fluoresceína específico para o antígeno e, então, visualizado com o microscópio de fluorescência.

**Imunógeno** Antígeno que induz uma resposta imune. Nem todos os antígenos são imunógenos. Por exemplo, compostos de baixo peso molecular (haptens) podem se ligar aos anticorpos, mas não estimularão uma resposta imune a menos que estejam ligados a macromoléculas (carreadores).

**Imunoglobulina (Ig)** Sinonímia com anticorpo (ver [anticorpo](#)).

**Imuno-histoquímica** Uma técnica para detectar a presença de um antígeno em seções histológicas de tecidos por meio do uso de um anticorpo acoplado a uma enzima que é específica para o antígeno. A enzima converte um substrato incolor em uma substância insolúvel colorida que precipita no local onde o anticorpo, e assim o antígeno, estão localizados. A posição do precipitado colorido e, portanto, do antígeno na seção do tecido é observada em microscópio de luz convencional. A imuno-histoquímica é uma técnica de rotina na patologia diagnóstica e em vários campos de pesquisa.

**Imunoprecipitação** Uma técnica para o isolamento de uma molécula a partir de uma solução através de sua ligação a um anticorpo e, então, tornando o complexo antígeno-anticorpo insolúvel, por precipitação com um segundo anticorpo ou acoplamento do primeiro anticorpo a uma partícula isolada.

**Imunossupressão** Inibição de um ou mais componentes do sistema imune adaptativo como resultado de uma doença subjacente ou intencionalmente induzida por fármacos com o propósito de prevenção ou tratamento de rejeição a enxerto ou doença autoimune. Um fármaco imunossupressor comumente utilizado é a ciclosporina, que bloqueia a produção de citocina pela célula T.

**Imunoterapia** Tratamento de uma doença com agentes terapêuticos que promovem ou inibem as respostas imunes. Imunoterapia do câncer, por exemplo, envolve a promoção das respostas imunes ativas aos antígenos tumorais ou administração de anticorpos antitumorais ou células T para estabelecer a imunidade passiva.

**Imunotoxinas** Reagentes que podem ser usados no tratamento do câncer e consistem em conjugados covalentes de uma potente toxina células, tais como ricina ou toxina diférica, com anticorpos específicos para antígenos expressos na superfície das células tumorais. Espera-se que esses reagentes possam atingir especificamente e matar as células tumorais sem danificar as células normais, mas imunotoxinas seguras e efetivas ainda precisam ser desenvolvidas.

**Inflamação** Uma reação complexa de tecidos vascularizados à infecção ou lesão celular e que envolve acúmulo extravascular de proteínas plasmáticas e leucócitos. A inflamação aguda é um resultado comum das respostas imunes inatas, e a resposta imune adaptativa local também pode promover inflamação. Embora a

inflamação sirva com função protetora no controle de infecções e na promoção de reparo tecidual, ela também pode causar dano aos tecidos e doença.

**Inflamação imune** Inflamação que é o resultado de resposta imune adaptativa ao antígeno. O infiltrado celular no local inflamatório pode incluir células do sistema imune inato (p. ex., neutrófilos e macrófagos), que são recrutados como resultado das ações de citocinas de célula T.

**Inflamossoma** Um complexo multiproteico no citosol de fagócitos mononucleares, células dendríticas e outros tipos celulares que gera proteoliticamente a forma ativa da IL-1 $\beta$  a partir de um precursor pró-IL-1 $\beta$ . A formação do complexo inflamossoma, que inclui NLRP3 (um receptor de padrão de reconhecimento do tipo NOD) e caspase-1, é estimulada por uma variedade de produtos microbianos, moléculas associadas a dano celular e cristais.

**Inibidor de C1 (C1-INH)** Um inibidor proteico plasmático da via clássica da ativação do complemento. O C1-INH é um inibidor serinoprotease (serpina) que mimetiza o substrato normal nos componentes C1r e C1s de C1. Uma deficiência genética em C1-INH causa a doença hereditária edema angioneurótico.

**Integrinas** Proteínas heterodiméricas da superfície celular cuja principal função é mediar a adesão de células a células ou à matriz extracelular. As integrinas são importantes para as interações de células T com APCs e para a migração de leucócitos do sangue para os tecidos. A atividade de ligação ao ligante das integrinas de leucócitos depende de sinais induzidos por quimiocinas ligadas aos receptores de quimiocinas. Duas integrinas importantes no sistema imune são VLA-4 (antígeno tardio 4) e LFA-1 (antígeno associado à função de leucócito 1).

**Interferons** Um subgrupo de citocinas originalmente denominadas pelas suas habilidades em interferir nas infecções virais, mas que têm outras importantes funções imunomodulatórias. Os interferons de tipo I incluem o interferon- $\alpha$  e o interferon- $\beta$ , cuja principal função é prevenir a replicação viral celular; interferon tipo II, também denominado interferon- $\gamma$ , ativa macrófagos e vários outros tipos celulares (ver [Apêndice II](#)).

**Interleucinas** Qualquer uma de um grande número de citocinas denominadas com um sufixo numérico sequencial de acordo com a ordem de descoberta ou caracterização molecular (p. ex., interleucina-1, interleucina-2). Algumas citocinas foram originalmente denominadas pelas suas atividades biológicas e não têm a designação citocina (ver [Apêndice II](#)).

**Isotipo** Um de cinco tipos de anticorpo, determinado pela presença de uma entre cinco formas diferentes de cadeia pesada. Os isotipos de anticorpo incluem IgM, IgD, IgA e IgE, e cada isotipo realiza um grupo diferente de funções efetoras. Variações estruturais adicionais caracterizam subtipos distintos de IgG e IgA.

**Janus quinases (JAKs)** Uma família de tirosinoquinases que estão associadas a porções citoplasmáticas de diversos receptores de citocinas, incluindo receptores para IL-2, IL-3, IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-12 e outras. Em resposta à ligação da citocina e dimerização do receptor, as JAKs fosforilam os receptores de citocinas para permitir a ligação de STATs e, então, as JAKs fosforilam e ativam as STATs. Diferentes JAK quinases estão associadas a diferentes receptores de citocinas.

**Lâmina própria** Camada de tecido conjuntivo frouxo abaixo do epitélio dos tecidos mucosos, como intestinos e vias aéreas, onde células dendríticas, mastócitos, linfócitos e macrófagos medeiam respostas imunes aos patógenos invasores.

**Lck** Uma família Src sem receptor de tirosinoquinase que se associa não covalentemente às porções citoplasmáticas de moléculas de CD4 e CD8 nas células T e está envolvida nos eventos iniciais de sinalização da ativação da célula T induzida pelo antígeno. A Lck medeia a fosforilação da tirosina da porção citoplasmática das proteínas CD3 e  $\zeta$  do complexo TCR.

**Lectina ligante de manose (MBL, do inglês *manose-binding lectin*)** Uma proteína plasmática que se liga a resíduos de manose nas paredes celulares bacterianas e age como uma opsonina promovendo a fagocitose da bactéria pelos macrófagos. Os macrófagos expressam um receptor de superfície para C1q que também pode se ligar à MBL e medeia a captação de organismos opsonizados.

**Lectina tipo C** Membro de uma grande família de proteínas de ligação de carboidratos e dependente de cálcio, muitas das quais têm papel importante na imunidade inata e adaptativa. Por exemplo, lectinas solúveis tipo C ligam-se às estruturas de carboidratos do microrganismo e medeiam fagocitose ou ativação do complemento (p. ex., lectina ligante de manose, dectinas, colectinas e ficolinas).

**Leishmania** Um parasita protozoário intracelular obrigatório que infecta macrófagos e pode causar uma doença inflamatória crônica envolvendo muitos tecidos. A infecção por *Leishmania* em camundongos pode servir como um modelo para o estudo das funções efetoras de várias citocinas e subgrupos de células T auxiliares que as produzem. As respostas T<sub>H</sub>1 à *Leishmania major* e a produção de IFN- $\gamma$  associada controlam a infecção, ao passo que as respostas T<sub>H</sub>2 com produção de IL-4 levam à doença disseminada letal.

**Leucemia** Doença maligna de precursores da medula óssea de células sanguíneas na qual grande número de células leucêmicas normalmente ocupa a medula óssea e frequentemente circula na corrente sanguínea. Leucemias linfocíticas são derivadas de precursores de célula B ou T, leucemias mielogênicas são provenientes de precursores de granulócitos ou monócitos e leucemias eritroides originam-se de precursores de hemácias.



**Leucotrienos** Uma classe de mediadores inflamatórios lipídicos derivados do ácido araquidônico produzidos pela via das lipo-oxigenases em vários tipos celulares. Mastócitos produzem muito leucotrieno C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) e os produtos da sua degradação LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub>, os quais se ligam a receptores específicos nas células musculares lisas e causam broncoconstrição prolongada. Os leucotrienos contribuem para os processos patológicos da asma brônquica. Coletivamente, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub> constituem o que uma vez foram denominadas substâncias lentas de anafilaxia.

**Ligação cruzada** Teste realizado para minimizar a chance de reações adversas na transfusão ou rejeição a transplantes, no qual um paciente que requer transfusão de sangue ou transplante de órgão é testado para a presença de anticorpos pré-formados contra antígenos de superfície celular do doador (normalmente antígenos de grupo sanguíneo ou antígenos de MHC). O teste envolve a mistura de soro do receptor com leucócitos ou hemácias do potencial doador e a análise para aglutinação ou lise das células dependente do complemento.

**Ligante c-kit (fator de célula-tronco)** Uma proteína necessária para a hematopoese, fases iniciais no desenvolvimento da célula T no timo e desenvolvimento de mastócitos. O ligante c-kit é produzido em formas ligadas à membrana e solúveis pelas células estromais na medula óssea e no timo; liga-se ao receptor membranar tirosinoquinase c-kit das células-tronco multipotentes.

**Ligante Fas (ligante CD95)** Uma proteína de membrana que é um membro da família de proteínas do TNF expressas nas células T ativadas. O ligante Fas liga-se ao receptor de morte Fas, estimulando a via de sinalização que leva à morte celular por apoptose da célula que expressa Fas. Mutações no gene do ligante Fas causam doenças autoimunes sistêmicas em camundongos.

**Linfocina** Um nome antigo para citocina (mediador proteico das respostas imunes) produzida pelos linfócitos.

**Linfócito B** O único tipo celular capaz de produzir moléculas de anticorpo e, assim, o mediador das respostas imunes humorais. Os linfócitos B, ou células B, desenvolvem-se na medula óssea, e as células B maduras são encontradas principalmente nos folículos linfoides dos tecidos linfoides secundários, na medula óssea e, em baixo número, na circulação.

**Linfócito B imaturo** Uma célula B com IgM<sup>+</sup> e IgD<sup>-</sup>, recentemente derivada de precursores da medula, que não prolifera ou se diferencia em resposta aos antígenos, mas pode sofrer morte apoptótica ou se tornar funcionalmente irresponsiva. Esta propriedade é importante para a seleção negativa das células B que são específicas para autoantígenos presentes na medula óssea.

**Linfócito B inativo** Um linfócito B ou T maduro que não encontrou previamente o

antígeno. Quando os linfócitos inativos são estimulados pelo antígeno, eles se diferenciam em linfócitos efetores, como células B secretoras de anticorpo ou células T auxiliares e CTLs. Os linfócitos inativos têm marcadores de superfície e padrões de recirculação que são distintos daqueles linfócitos previamente ativados (“nativo” ou *naïve* também se refere a um indivíduo não imunizado).\*

**Linfócito granular grande** Outro nome para célula NK baseado na aparência morfológica deste tipo celular no sangue.

**Linfócito T** O componente-chave das respostas imunes mediadas por células no sistema imune adaptativo. Os linfócitos T amadurecem no timo, circulam no sangue, populam os tecidos linfoides secundários e são recrutados para os locais periféricos de exposição do antígeno. Eles expressam os receptores de antígenos (TCRs) que reconhecem fragmentos de peptídeos de proteínas estranhas ligados às próprias moléculas de MHC. Os subgrupos funcionais de linfócitos incluem células T auxiliares CD4<sup>+</sup> e CTLs CD8<sup>+</sup>.

**Linfócito T citotóxico (ou citolítico) (CTL, do inglês *cytotoxic T lymphocyte*)**

Um tipo de linfócito T cuja principal função efetora é reconhecer e matar células do hospedeiro infectadas com vírus ou outros microrganismos intracelulares. Os CTLs normalmente expressam CD8 e reconhecem peptídeos microbianos expostos pelas moléculas de MHC de classe I. A morte das células infectadas pelo CTL envolve a liberação dos conteúdos dos grânulos citoplasmáticos para o citosol das células infectadas, levando à morte apoptótica.

**Linfócitos B da zona marginal** Um subgrupo de linfócitos B, encontrados exclusivamente na zona marginal do baço, que responde rapidamente a antígenos microbianos oriundos do sangue produzindo anticorpos IgM com diversidade limitada.

**Linfócitos B-1** Um subgrupo de linfócitos B que se desenvolvem mais cedo durante a ontogenia do que o fazem as células B convencionais, expressam um repertório limitado de genes V com pouca diversidade juncional e secretam anticorpos IgM que se ligam aos antígenos independentes de T. Muitas células B-1 expressam a molécula CD5 (Ly-1).

**Linfócitos de memória** Células B e T de memória são produzidas pela estimulação do antígeno em linfócitos inativos e sobrevivem em um estado funcionalmente quiescente por muitos anos após o antígeno ser eliminado. Os linfócitos de memória medeiam respostas rápidas e aumentadas a subseqüentes exposições aos antígenos.

**Linfócitos infiltrantes de tumores (TILs, do inglês *tumor-infiltrating***

***lymphocytes*)** Linfócitos isolados de infiltrados inflamatórios presentes dentro e em torno de amostras de ressecção cirúrgica de tumores sólidos que são

enriquecidas com CTLs e células NK específicas do tumor. Em um modo experimental de tratamento do câncer, os TILs proliferam *in vitro* na presença de altas doses de IL-2 e são, então, transferidos de volta para os pacientes com o tumor.

**Linfócitos T intraepiteliais** Linfócitos T presentes na epiderme da pele e no epitélio mucoso que tipicamente expressam uma diversidade limitada de receptores para antígenos. Alguns desses linfócitos, chamados de células NKT invariantes, podem reconhecer produtos microbianos, tais como glicolipídios, associados a moléculas tipo MHC classe I não polimórficas. Outros, denominados células T  $\gamma\delta$ , reconhecem vários antígenos não peptídicos, não ligados às moléculas de MHC. Os linfócitos T intraepiteliais podem ser considerados células efetoras da imunidade inata e atuam na defesa do hospedeiro secretando citocinas, ativando fagócitos e matando células infectadas.

**Linfoma** Um tumor maligno de linfócitos B ou T geralmente proveniente de e espalhando-se entre os tecidos linfoides, mas podendo disseminar-se a outros tecidos. Os linfomas frequentemente expressam características fenotípicas de linfócitos normais dos quais eles foram derivados.

**Linfoma de Burkitt** Tumor maligno de célula B que é diagnosticado por características histológicas, mas quase sempre carrega uma translocação cromossômica recíproca envolvendo o locus do gene *Ig* e o gene celular *MYC* no cromossoma 8. Muitos casos de linfoma de Burkitt na África estão associados à infecção pelo vírus Epstein-Barr.

**Linfonodos** Pequenos órgãos nodulares, encapsulados e ricos em linfócitos, situados ao longo dos canais linfáticos e distribuídos por todo o corpo, onde as respostas imunes adaptativas aos antígenos surgidos na linfa se iniciam. Os linfonodos têm uma arquitetura anatômica especializada que regula as interações das células B, células T, células dendríticas e antígenos, para maximizar a indução das respostas imunes protetoras.

**Linfotoxina (LT, TNF- $\beta$ )** Uma citocina produzida pelas células T que é homóloga e se liga aos mesmos receptores do TNF. Assim como o TNF, a LT tem efeitos pró-inflamatórios, incluindo ativação endotelial e de neutrófilos. A LT também é crítica para o desenvolvimento normal dos órgãos linfoides.

**Linhagem pura de camundongo** Uma linhagem de camundongos criada pelo casamento repetitivo de irmãos e que é caracterizada pela homozigocitose em todos os loci genéticos. Cada camundongo de uma linhagem pura é geneticamente idêntico (singênico) a todos os outros camundongos da mesma linhagem.

**Lipopolissacarídeo** Sinônimo de **endotoxina**.

**Lisossoma** Uma organela ácida, ligada à membrana e abundante em células fagocíticas, que contém enzimas proteolíticas que degradam proteínas derivadas de ambos os compartimentos extracelular e intracelular. Os lisossomas estão envolvidos na via do MHC de classe II do processamento de antígeno.

**Local imunologicamente privilegiado** Um local no corpo que é inacessível à ou é constitutivamente suprimido de resposta imune. A câmara anterior do olho, os testículos e o cérebro são exemplos de locais imunologicamente privilegiados.

**Lúpus eritematoso sistêmico (SLE, do inglês *systemic lupus erythematosus*)** Doença autoimune sistêmica crônica que afeta predominantemente mulheres e é caracterizada por *rash*, artrite, glomerulonefrite, anemia hemolítica, trombocitopenia e envolvimento do sistema nervoso central. Muitos anticorpos diferentes são encontrados em pacientes com SLE, particularmente anticorpos anti-DNA. Muitas das manifestações do SLE são decorrentes da formação de imunocomplexos compostos de autoanticorpos e seus antígenos específicos, com deposição destes complexos nos pequenos vasos sanguíneos em vários tecidos. O mecanismo para a quebra da autotolerância no SLE não é compreendido.

**Macrófago** Célula fagocítica baseada no tecido e derivada de órgãos hematopoéticos fetais ou monócitos sanguíneos e que desempenham papel importante nas respostas imunes inata e adaptativa. Os macrófagos são ativados por produtos microbianos, como endotoxina, e citocinas de célula T, como IFN- $\gamma$ . Macrófagos ativados fagocitam e matam microrganismos, secretam citocinas pró-inflamatórias e apresentam antígenos para as células T auxiliares. Os macrófagos podem assumir diferentes formas morfológicas em diferentes tecidos, incluindo microglia do sistema nervoso central, células de Kupfer no fígado, macrófagos alveolares nos pulmões e osteoclastos no osso.

**Macrófagos M1** Ver [ativação clássica de macrófagos](#).

**Macrófagos M2** Ver [ativação alternativa de macrófagos](#).

**Mastócito** Principal célula efetora das reações de hipersensibilidade imediata (alérgica). Os mastócitos são derivados da medula, residem na maioria dos tecidos adjacentes aos vasos sanguíneos, expressam receptor de Fc de alta afinidade para IgE e contêm numerosos grânulos contendo mediador. A ligação cruzada induzida por antígeno da IgE ligada aos receptores de Fc dos mastócitos causa a liberação de seu conteúdo granular, bem como nova síntese e secreção de outros mediadores, levando a uma reação de hipersensibilidade imediata.

**Maturação de afinidade** Processo que leva a um aumento na afinidade dos anticorpos por um antígeno em particular à medida que a resposta ao anticorpo mediada por célula T progride. A maturação de afinidade ocorre nos centros germinativos dos tecidos linfoides e é o resultado de mutação somática dos genes *Ig*, seguida por sobrevivência seletiva das células B produtoras dos anticorpos de

maior afinidade.

**Maturação de linfócitos** Processo pelo qual células-tronco pluripotentes da medula óssea se desenvolvem em linfócitos B ou T inativos, maduros e expressando receptor para antígeno e que povoam os tecidos linfoides periféricos. Este processo ocorre nos ambientes especializados da medula óssea (para células B) e no timo (para células T). Sinônimo de desenvolvimento de linfócito.

**Medula óssea** Tecido dentro da cavidade óssea central que é o local de geração de todas as células sanguíneas circulantes em adultos, incluindo linfócitos imaturos e o local da maturação da célula B.

**Memória** Propriedade do sistema imune adaptativo em responder mais rapidamente, com maior magnitude e mais efetivamente a exposições repetidas a um antígeno, quando comparado com a resposta à primeira exposição.

**Micobacterium** Um gênero de bactéria aeróbica, muitas espécies das quais podem sobreviver dentro de fagócitos e causar doença. A principal defesa do hospedeiro contra a micobactéria, como *Mycobacterium tuberculosis*, é a imunidade mediada por célula.

**Microglobulina  $\beta_2$**  Cadeia leve da molécula de MHC de classe I. A microglobulina  $\beta_2$  é uma proteína extracelular codificada por um gene não polimórfico externo ao MHC, sendo estruturalmente homóloga ao domínio Ig e invariante dentre todas as moléculas de classe I.

**Mieloma múltiplo** Tumor maligno de células B produtoras de anticorpo que, com frequência, secretam Igs ou partes de moléculas de Ig. Os anticorpos monoclonais produzidos pelos mielomas múltiplos foram críticos para as análises bioquímicas iniciais sobre a estrutura do anticorpo.

**Migração de linfócitos** Movimento de linfócitos da corrente sanguínea para os tecidos periféricos.

**Mimetismo molecular** Um mecanismo postulado de autoimunidade disparado por infecção com um microrganismo contendo antígenos que fazem reação cruzada com os próprios antígenos. As respostas imunes ao microrganismo resultam em reações contra os próprios tecidos.

**Molécula de adesão** Uma molécula da superfície celular cuja função é promover as interações de adesão com outras células ou matriz extracelular. Leucócitos expressam vários tipos de moléculas de adesão, como selectinas, integrinas e membros da superfamília da Ig, as quais têm papel crucial na migração celular e ativação celular nas respostas imunes inata e adaptativa.

**Molécula do complexo maior de histocompatibilidade (MHC)** Uma proteína heterodimérica membranar codificada no locus MHC que serve como uma

molécula apresentadora de peptídeos para o reconhecimento pelos linfócitos T. Existem dois tipos estruturalmente distintos de moléculas de MHC. As moléculas de MHC de classe I estão presentes na maioria das células nucleadas, ligam peptídeos derivados de proteínas citosólicas e são reconhecidas pelas células T CD8<sup>+</sup>. As moléculas de MHC de classe II estão amplamente restritas a células dendríticas, macrófagos e linfócitos B, ligam peptídeos derivados de proteínas endocitadas e são reconhecidas pelas células T CD4<sup>+</sup>.

**Molécula do complexo maior de histocompatibilidade de classe I (MHC I, do inglês *class I major histocompatibility complex molecule*)** Uma de duas classes de proteínas heterodiméricas polimórficas de membrana que se liga e apresenta fragmentos peptídicos de antígenos proteicos na superfície das APCs, para reconhecimento pelos linfócitos T. As moléculas de MHC de classe I normalmente mostram peptídeos derivados de proteínas no citosol celular, para reconhecimento pelas células T CD8<sup>+</sup>.

**Molécula do complexo maior de histocompatibilidade de classe II (MHC II, do inglês *class II major histocompatibility complex molecule*)** Uma de duas classes de proteínas heterodiméricas polimórficas de membrana que se liga e apresenta fragmentos peptídicos de antígenos proteicos na superfície das APCs, para reconhecimento pelos linfócitos T. As moléculas de MHC de classe II normalmente contêm peptídeos derivados de proteínas extracelulares que são internalizadas pelas vesículas endocíticas ou fagocíticas, para reconhecimento pelas células T CD4<sup>+</sup>.

**Molécula H-2** Uma molécula de MHC no camundongo. O MHC do camundongo foi originalmente denominado locus H-2.

**Moléculas CD** Moléculas da superfície celular expressas em vários tipos celulares no sistema imune que são designadas pela “diferenciação de agregados” ou número CD. Ver [Apêndice III](#) para uma lista das moléculas CD.

**Monócito** Um tipo de célula sanguínea circulante derivada da medula óssea que é precursora de macrófagos teciduais. Os monócitos são ativamente recrutados para os locais inflamatórios, onde eles se diferenciam em macrófagos.

**Morte celular induzida por ativação (AICD, do inglês *activation-induced cell death*)** Apoptose de linfócitos ativados; expressão geralmente usada para células T.

**Morte celular programada** Ver [apoptose](#).

**Motivo de ativação baseado em imunorreceptor (ITAM, do inglês *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*)** Um motivo proteico conservado e composto de duas cópias da sequência tirosina-x-x-leucina (onde x



é um aminoácido inespecífico) encontrado nas porções citoplasmáticas de várias proteínas membranares no sistema imune que estão envolvidas na transdução de sinal. As ITAMs estão presentes nas proteínas  $\zeta$  e CD3 do complexo TCR, nas proteínas  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$  no complexo BCR e em vários receptores  $Ig$  Fc. Quando esses receptores se ligam a seus ligantes, os resíduos de tirosina das ITAMs se tornam fosforilados e formam locais de ancoragem para outras moléculas envolvidas nas vias de propagação de sinal de ativação da célula.

**Motivo de inibição baseado em imunorreceptor tirosina (ITIM, do inglês**

*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*) Um motivo de seis aminoácidos (isoleucina-x-tirosina-x-x-leucina) encontrado nas porções citoplasmáticas de vários receptores inibitórios no sistema imune, incluindo  $Fc\gamma RIIb$  nas células B e receptores tipo  $Ig$  nas células *killer* (KIRs) nas células NK. Quando esses receptores se ligam a seus ligantes, as ITIMs se tornam fosforiladas nos seus resíduos de tirosina e formam um local de ancoragem para proteína tirosinofosfatase, que atua para inibir outras vias de transdução de sinal.

**Multivalência** Ver [polivalência](#).

**Neutrófilo (também leucócito polimorfonuclear, PMN)** Uma célula fagocítica caracterizada por um núcleo segmentado lobular e grânulos citoplasmáticos preenchidos com enzimas degradativas. Os PMNs consistem no tipo mais abundante de células brancas circulantes e no principal tipo celular que medeia as respostas inflamatórias agudas às infecções bacterianas.

**N-formilmetionina** Um aminoácido que inicia todas as proteínas bacterianas e nenhuma proteína de mamífero (exceto aquelas sintetizadas dentro da mitocôndria) e serve como sinal para o sistema imune da infecção. Receptores específicos para peptídeos contendo a N-formilmetionina são expressos nos neutrófilos e medeiam a ativação dos neutrófilos.

**Notch 1** Um receptor de sinalização celular de superfície que é proteoliticamente clivado após a ligação do ligante, e a porção intracelular clivada transloca para o núcleo e regula a expressão de gene. A sinalização do Notch 1 é necessária para o comprometimento dos precursores da célula T em desenvolvimento para a linhagem de célula T alfa beta.

**Nucleotídeos CpG** Sequências não metiladas de citidina-guanina encontradas no DNA microbiano que estimulam as respostas imunes inatas. Os nucleotídeos CpG são reconhecidos pelos receptores do tipo Toll-9 e têm propriedades adjuvantes no sistema imune de mamíferos.

**Nucleotídeos N** O mesmo nome dado aos nucleotídeos randomicamente adicionados às junções entre genes *Ig* ou *TCR* durante o desenvolvimento do linfócito. A adição de até 20 destes nucleotídeos, que é mediada por uma enzima deoxiribonucleotídeo transferase terminal, contribui para a diversidade do anticorpo e dos repertórios

TCR.

**Nucleotídios P** Pequenas sequências invertidas de nucleotídios repetidos nas junções VDJ de genes *Ig* e *TCR* que são reorganizados e que são gerados pela quebra assimétrica mediada por RAG-1 e RAG-2 de intermediários de NA durante um evento de recombinação somática. Os nucleotídios P contribuem para a diversidade juncional de receptores de antígenos.

**Opsonina** Uma molécula que se torna ligada à superfície do microrganismo e pode ser reconhecida pelos receptores de superfície de neutrófilos e macrófagos e que aumenta a eficiência da fagocitose do microrganismo. As opsoninas incluem anticorpos IgG, que são reconhecidos pelo receptor Fcγ nos fagócitos, e fragmentos de proteínas do complemento, que são reconhecidos por CR1 (CD35) e pela integrina Mac-1 de leucócito.

**Opsonização** Processo de ligação de opsoninas, como IgG ou fragmentos do complemento, às superfícies microbianas para marcarem os microrganismos para a fagocitose.

**Organização de linha germinativa** Arranjo herdado de variável, diversidade, união e região constante de segmentos de gene de locus de receptor de antígeno em células não linfoides ou em linfócitos imaturos. Nos linfócitos B ou T em desenvolvimento, a organização de linha germinativa é modificada por recombinação somática para formar genes *Ig* ou *TCR* funcionais.

**Órgão linfoide produtor** Órgão no qual os linfócitos se desenvolvem a partir de precursores inativos. A medula óssea e o timo são os principais órgãos linfoides produtores nos quais as células B e células T se desenvolvem, respectivamente.

**Órgão linfoide terciário** Uma coleção de linfócitos e células apresentadoras de antígenos organizada dentro dos folículos das células B e zonas de células T que se desenvolve em locais de inflamação crônica imunomediadas, como sinóvia das articulações de pacientes com artrite reumatoide.

**Órgãos linfoides periféricos e teciduais** Coleções organizadas de linfócitos e células acessórias, incluindo baço, linfonodo e tecidos linfoides, associadas à mucosa, nas quais as respostas imunes adaptativas são iniciadas.

**Óxido nítrico sintase** Um membro da família de enzimas que sintetizam o composto vasoativo e microbicida óxido nítrico a partir da L-arginina. Macrófagos expressam a forma induzida desta enzima após ativação com vários estímulos microbianos ou citocina.

**Óxido nítrico** Uma molécula efetora biológica com uma grande variedade de atividades que, em macrófagos, atua como um potente agente microbicida para matar organismos ingeridos.

**Padrões moleculares associados ao dano (DAMPs, do inglês *damage-***

**associated molecular patterns)** Moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas por células lesionadas ou morrendo e que se ligam a receptores de reconhecimento padrão e estimulam as respostas imunes inatas. Exemplos incluem proteínas do grupo de alta mobilidade-1 (HMGB1, do inglês *high-mobility group box 1*), ATP extracelular e ácido úrico.

**Padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*)** Estruturas produzidas por microrganismos, mas não por células de mamíferos (hospedeiro), que são reconhecidas pelo sistema imune inato estimulado. Exemplos incluem lipopolissacarídeo bacteriano e RNA viral de fita dupla.

**Patogenicidade** Habilidade de um microrganismo em causar doença. Vários mecanismos podem contribuir para a patogenicidade, incluindo produção de toxinas, estimulação de respostas inflamatórias do hospedeiro e perturbação do metabolismo celular do hospedeiro.

**PD-1** Um receptor inibitório homólogo ao CD28 que é expresso em células T ativadas e se liga ao PD-L1 ou PD-L2, membros da família de proteína B7 expressa em vários tipos celulares. A PD-1 é regulada positivamente nas células T e no quadro de uma infecção crônica ou tumores, e o bloqueio da PD-1 com anticorpos monoclonais aumenta as respostas imunes antitumorais.

**Pentraxinas** Família que contém cinco subunidades globulares idênticas; inclui a proteína C-reativa de fase aguda.

**Peptídeo de cadeia invariável associado à classe II (CLIP, do inglês *class II-associated invariant chain peptide*)** Um peptídeo remanescente da cadeia invariável que se situa na fenda de ligação do peptídeo de MHC de classe II e é removido pela ação da molécula de HLA-DM antes que a fenda se torne acessível aos peptídeos produzidos por antígenos proteicos extracelulares.

**Perforina** Uma proteína que é homóloga à proteína C9 do complemento e está presente nos grânulos de CTLs e células NK. Quando a perforina é liberada dos grânulos de CTLs ou células NK ativadas, ela promove a entrada de granzimas nas células-alvo, levando à morte apoptótica da célula.

**Placas de Peyer** Tecido linfóide organizado na lâmina própria de intestino delgado na qual as respostas imunes aos patógenos intestinais ou outros antígenos ingeridos podem ser iniciadas. As placas de Peyer são compostas principalmente de células B, com pequenos números de células T e células acessórias, todas organizadas nos folículos, similarmente às encontrados nos linfonodos, frequentemente com centros germinativos.

**Plasmablastos** Células circulantes, secretoras de anticorpos que podem ser precursores de plasmócitos que residem na medula óssea e em outros tecidos.

**Plasmócito** Um linfócito B secretor de anticorpo, terminalmente diferenciado com uma aparência histológica característica, incluindo formato oval, núcleo excêntrico e halo perinuclear.

**Polimorfismo** A existência de duas ou mais formas alternativas, ou variantes, de um gene que estão presentes em frequências estáveis em uma população. Cada variante comum do gene polimórfico é denominada alelo, e um indivíduo pode carrear dois alelos diferentes de um gene, cada um herdado de um pai diferente. Os genes de MHC são os mais polimórficos no genoma de mamíferos, alguns dos quais têm milhares de alelos.

**Polivalência** Presença de múltiplas cópias idênticas de um epítopo em uma única molécula de antígeno, superfície celular ou partícula. Antígenos polivalentes, como polissacarídeos bacterianos capsulares, são frequentemente capazes de ativar linfócitos B independentes de células T auxiliares. Termo usado como sinônimo de **multivalência**.

**Polpa branca** Parte do baço que é composta predominantemente de linfócitos, organizados em folhas linfoides periarteriolas e folículos e outros leucócitos. O restante do baço contém linhas sinusoides com células fagocíticas e sangue, denominado **polpa vermelha**.

**Polpa vermelha** Um compartimento anatômico e funcional do baço composto de sinusoides vasculares, dispersos e dentre os quais existe grande número de eritrócitos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos esparsos e plasmócitos. Os macrófagos da polpa vermelha limpam o sangue de microrganismos, outras partículas estranhas e hemácias danificadas.

**Potenciadores** Sequência regulatória de nucleotídeo em um gene que está localizado acima ou abaixo do promotor, se liga a fatores de transcrição e aumenta a atividade do promotor. Nas células do sistema imune, os potenciadores são responsáveis pela integração dos sinais da superfície celular que levam à transcrição induzida dos genes que codificam muitas das proteínas efetoras de um sistema imune, como as citocinas.

**Pré-T $\alpha$**  Uma proteína invariável transmembranar com um único domínio extracelular do tipo Ig que se associa à cadeia TCR $\beta$  nas células pré-T para formar o receptor da célula pré-T.

**Processamento antigênico** Conversão intracelular de antígenos proteicos derivados do espaço extracelular ou do citosol em peptídeos e transformação desses peptídeos em moléculas de MHC para serem disponibilizadas aos linfócitos T.

**Promotor** Uma sequência de DNA imediatamente 5' ao local de início da transcrição do gene onde as proteínas que iniciam a transcrição se ligam. O termo *promotor*

frequentemente é usado para significar toda a região 5' regulatória de um gene, incluindo os amplificadores, que são sequências adicionais que se ligam aos fatores de transcrição e interagem com o complexo basal de transcrição para aumentar a taxa de iniciação transcricional. Outros amplificadores podem estar localizados em uma distância significativa do promotor, ou 5' do gene, em íntrons, ou 3' do gene.

**Prostaglandinas** Uma classe de mediadores inflamatórios lipídicos que são derivados do ácido araquidônico em muitos tipos celulares através da via da ciclo-oxigenase e que têm atividades vasodilatadora, broncoconstritora e quimiotática. As prostaglandinas produzidas pelos mastócitos são importantes mediadores das reações alérgicas.

**Proteassoma** Um grande complexo enzimático multiproteico com uma ampla variedade de atividade proteolítica e que é encontrado no citoplasma da maioria das células e gera, a partir de proteínas citosólicas, peptídeos que se ligam às moléculas de MHC de classe I. As proteínas são alvo para degradação proteassomal através de ligação covalente de moléculas de ubiquitina.

**Proteína 1 de ativação (AP-1)** Família de fatores de transcrição ligados ao DNA composta de dímeros de duas proteínas que se ligam uma a outra através de região estrutural compartilhada denominada zíper de leucina. O fator AP-1 mais bem caracterizado é composto das proteínas Fos e Jun. A AP-1 está envolvida na regulação transcricional de muitos genes diferentes que são importantes no sistema imune, tais como os genes das citocinas.

**Proteína adaptadora** Proteínas envolvidas nas vias intracelulares de transdução de sinal por servirem como moléculas ponte ou base para o recrutamento de outras moléculas sinalizadoras. Durante a sinalização do receptor de antígeno em linfócito ou receptor de citocina, as moléculas adaptadoras podem ser fosforiladas nos resíduos de tirosina para permitir que elas se liguem a outras moléculas que contenham domínios de homologia 2 Src (SH2). As moléculas adaptadoras envolvidas na ativação da célula T incluem LAT, SLP-76 e Grb-2.

**Proteína C-reativa (CRP, do inglês *C-reactive protein*)** Um membro da família pentraxina de proteínas plasmáticas envolvido nas respostas imunes inatas às infecções bacterianas. A CRP é um reagente de fase aguda e se liga à cápsula da bactéria pneumococal. A CRP também se liga e pode, assim, ativar o complemento ou agir como uma opsonina, interagindo com receptores C1q nos fagócitos.

**Proteína de 70 kD associada a zeta (ZAP-70, do inglês *zeta-associated protein of 70 kD*)** Uma proteína tirosinoquinase citosólica, similar ao Syk nas células B, que é crucial para as etapas da sinalização inicial na ativação da célula T induzida por antígeno. A ZAP-70 liga-se às tirosinas fosforiladas nas caudas citoplasmáticas da cadeia  $\zeta$  e cadeias CD3 do complexo TCR e, assim, fosforila as proteínas

adaptadoras que recrutam outros componentes da cascata de sinalização.

**Proteína tirosinoquinase (PTKs, do inglês *protein tyrosine kinase*)** Enzimas que medeiam a fosforilação de resíduos de tirosina em proteínas e, assim, promovem interações proteína-proteína dependentes de fosfotirosina. As PTKs estão envolvidas em numerosas vias de tradução do sinal em células do sistema imune.

**Proteínas G** Proteínas que se ligam a nucleotídeos guanilil e agem como trocadores de moléculas catalisando a substituição de guanosina difosfato ligada (GDP) por guanosina trifosfato (GTP). As proteínas G com GTP ligado podem ativar uma variedade de enzimas celulares em diferentes cascatas de sinalização. As proteínas triméricas ligadas ao GTP estão associadas a porções citoplasmáticas de muitos receptores de superfície celular, tais como os receptores de quimiocinas. Outras pequenas proteínas G solúveis, como Ras e Rac, são recrutadas para as vias de sinalização por proteínas adaptadoras.

**Proteínas I $\alpha$  e I $\beta$**  Proteínas que são necessárias para a expressão na superfície e funções de sinalização de Ig de membrana nas células B. Os pares I $\alpha$  e I $\beta$  são ligados um ao outro por pontes dissulfeto, associadas não covalentemente à cauda citoplasmática da Ig da membrana, formando complexos BCR. Os domínios citoplasmáticos da I $\alpha$  e I $\beta$  contêm ITAMs que estão envolvidas nos eventos iniciais durante a ativação da célula B induzida pelo antígeno.

**Proteinoquinase C (PKC, do inglês *protein kinase C*)** Qualquer uma de várias isoformas de uma enzima que medeia a fosforilação de resíduos de serina e treonina em muitos substratos proteicos diferentes e, assim, serve para propagar várias vias de transdução do sinal, levando à ativação de fatores de transcrição. Nos linfócitos T e B, a PKC é ativada pelo DAG, que é gerado em resposta à ligação ao receptor do antígeno.

**Protozoa** Organismos eucarióticos de única célula, muitos dos quais são parasitas humanos e causam doença. Exemplos de protozoários patogênicos incluem *Entamoeba histolytica*, que causa disenteria amebíaca; *Plasmodium*, que causa malária; e *Leishmania*, que causa a leishmaniose. O protozoário estimula ambas as respostas imunes inata e adaptativa. Mostrou-se difícil o desenvolvimento de vacinas efetivas contra muitos desses organismos.

**Provírus** Uma cópia de DNA do genoma de um retrovírus que é integrado no genoma da célula do hospedeiro e a partir da qual os genes virais são transcritos e o genoma viral é reproduzido. Os provírus de HIV podem permanecer inativos por longos períodos e, portanto, representam uma forma latente de infecção de HIV que não é acessível à defesa imune.

**Quimiocinas** Uma grande família de citocinas estruturalmente homólogas e de baixo peso molecular que estimulam a quimiotaxia de leucócitos, regulam a migração de leucócitos do sangue para os tecidos mediante ativação de integrinas dos



leucócitos e manutenção da organização espacial de diferentes subtipos de linfócitos e células apresentadoras de antígenos dentro dos órgãos linfoides.

**Quimiotaxia** Movimento das células direcionadas por um gradiente de concentração química. O movimento dos leucócitos dentro dos vários tecidos frequentemente é direcionado por gradientes de citocinas de baixo peso molecular chamadas de quimiocinas.

**Radioimunoensaio** Método imunológico altamente sensível e específico de quantificação da concentração de um antígeno em uma solução que depende de um anticorpo marcado radioativamente e específico para um antígeno. Normalmente, dois anticorpos específicos para o antígeno são usados. O primeiro anticorpo não está marcado, mas ligado a um suporte sólido, onde ele se liga e imobiliza o antígeno cuja concentração é determinada. A quantidade do segundo anticorpo, marcado, que se liga ao antígeno imobilizado, como determinado pelos detectores radioativos, é proporcional à concentração de antígeno na solução em teste.

**Rapamicina** Fármaco imunossupressor (também denominado sirolimus) usado clinicamente para prevenir a rejeição ao enxerto. A rapamicina inibe a ativação de uma proteína chamada de alvo molecular da rapamicina (mTOR), que é a molécula-chave da sinalização em uma variedade de vias metabólicas e de crescimento, incluindo a via necessária para a proliferação de célula T mediada por interleucina-2.

**Ras** Um membro da família de proteínas ligantes de nucleotídeo guanina de 21 kD com atividade GTPásica intrínseca que está envolvido em diversas vias de transdução de sinal e em diversos tipos celulares. Os genes *ras* mutados estão associados à transformação neoplásica. Na ativação da célula T, Ras é recrutado para a membrana plasmática por proteínas adaptadoras tirosina-fosforiladas, onde é ativado por fatores de aumento GDP-GTP. GTPRas inicia então a cascata da MAP quinase, que leva à expressão do gene *fas* e montagem do fator AP-1 de transcrição.

**Reação de Arthus** Uma forma localizada de vasculite experimental mediada por imunocomplexos e induzida pela injeção subcutânea de um antígeno em um animal previamente imunizado ou em um animal que tenha recebido intravenosamente o anticorpo específico para o antígeno. Os anticorpos circulantes ligam-se ao antígeno injetado e formam imunocomplexos que são depositados nas paredes das pequenas artérias do local da injeção e iniciam uma vasculite cutânea local com necrose.

**Reação de fase tardia** Um componente da reação de hipersensibilidade imediata que ocorre 2 a 4 horas após a desgranulação do mastócito e que se caracteriza por um infiltrado inflamatório de eosinófilos, basófilos, neutrófilos e linfócitos.

Ataques repetidos desta reação inflamatória de fase tardia podem causar dano tecidual.

**Reação de máculas e pápulas** Inchaço e vermelhidão local na pele no local de uma reação de hipersensibilidade imediata. A mácula reflete aumento na permeabilidade vascular e a pápula decorre de maior fluxo sanguíneo local, ambas as alterações resultantes de mediadores como liberação de histamina dos mastócitos dérmicos ativados.

**Reação de Shwartzman** Um modelo experimental de efeitos patológicos de LS e TNF no qual duas injeções intravenosas de LPS são administradas ao coelho em um intervalo de 24 horas. Após a segunda injeção, o coelho sofre coagulação intravascular disseminada e coágulo de neutrófilo e plaquetas nos pequenos vasos sanguíneos.

**Reação em cadeia de polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*)** Um método rápido de se copiar e amplificar sequências específicas de DNA em até 1 kb de comprimento e que é amplamente usado como técnica preparativa e analítica em todas as áreas da biologia molecular. O método se baseia no uso de pequenos *primers* de oligonucleotídeos complementares às sequências nas terminações do DNA a serem amplificadas e envolve ciclos repetidos de fusão, realinhamento e síntese do DNA.

**Reação mista de leucócito (MLR, do inglês *mixed leukocyte reaction*)** Uma reação *in vitro* de células T alorreativas de um indivíduo contra antígenos de MHC nas células sanguíneas de outro indivíduo. O MLR envolve a proliferação e a secreção de citocina por ambas as células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>.

**Reações de transfusão** Uma reação imunológica contra produtos sanguíneos transfundidos, normalmente mediada por anticorpos pré-formados no recebedor e que se ligam aos antígenos das células sanguíneas do doador, tais como antígenos de grupo sanguíneo ABO ou antígenos de histocompatibilidade. As reações de transfusão podem causar lise intravascular de hemácias e, em casos graves, dano renal, febre, choque e coagulação intravascular disseminada.

**Reagentes de fase aguda** Proteínas, a maioria sintetizada no fígado em resposta às citocinas inflamatórias, tais como IL-6 e IL-1, cujas concentrações plasmáticas aumentam lentamente após infecções como parte da síndrome da resposta inflamatória sistêmica. Exemplos incluem proteína C-reativa, fibrinogênio e proteína A amiloide sérica. Os reagentes de fase aguda desempenham vários papéis na resposta imune inata aos microrganismos.

**Reagina** Anticorpo IgE que medeia uma reação de hipersensibilidade imediata.

**Receptor  $\alpha\beta$  de célula T (TCR  $\alpha\beta$ , do inglês *T cell receptor*)** Forma mais comum de TCR, expresso em ambas as células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. O TCR  $\alpha\beta$  reconhece

antígenos peptídicos ligados a uma molécula de MGC. Ambas as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  contêm regiões altamente variáveis (V) que juntas formam os locais de ligação ao antígeno, assim como regiões constantes (C). As regiões V e C do TCR são estruturalmente homólogas às regiões V e C das moléculas de Ig.

**Receptor de célula pré-B** Receptor expresso em linfócitos B em desenvolvimento no estágio de célula pré-B que é constituído por cadeias pesadas  $\mu$  de Ig e cadeias leves, invariáveis e substituídas. O receptor de célula pré-B associa-se a proteínas Ig $\alpha$  e Ig $\beta$  de transdução de sinal para formar o complexo do receptor de célula pré-B. Esses receptores são necessários para a estimulação da proliferação e maturação continuada da célula B em desenvolvimento, atuando como um ponto de avaliação para o rearranjo VDJ da cadeia pesada  $\mu$ . Não é conhecido se o receptor da célula pré-B se liga a um ligante específico.

**Receptor de célula pré-T** Receptor expresso na superfície das células pré-T que é composto de cadeias TCR  $\beta$  e proteína invariável pré-T $\alpha$ . Esse receptor associa-se a CD3 e moléculas  $\zeta$  para formar o complexo do receptor de célula pré-T. A função deste complexo é similar àquela do receptor de célula pré-B na célula B em desenvolvimento, ou seja, disparo de sinais que estimulam proliferação, reorganização do gene do receptor de antígeno e outros eventos maturacionais. Não é conhecido se o receptor de célula pré-T se liga a um ligante específico.

**Receptor de célula T (TCR, do inglês *T cell receptor*)** Receptor de antígeno clonalmente distribuído nos linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> que reconhecem complexos de peptídios estranhos ligados às próprias moléculas de MHC na superfície das APCs. A forma mais comum de TCR é composta de um heterodímero de duas cadeias polipeptídicas transmembranares ligadas por dissulfeto, designadas como  $\alpha$  e  $\beta$ , cada uma contendo um domínio variável (V) do tipo N-terminal de Ig, um domínio constante tipo Ig (C), uma região transmembranar hidrofóbica e uma pequena região citoplasmática. (Outro tipo menos comum de TCR, composto de cadeias  $\gamma$  e  $\delta$ , é encontrado em um pequeno subgrupo de células T que reconhece diferentes formas de antígeno.)

**Receptor de complemento tipo 1 (CR1, do inglês *complemente receptor 1*)** Um receptor de alta afinidade para os fragmentos C3b e C4b do complemento. Os fagócitos utilizam CR1 para mediar a internalização das partículas recobertas por C3b ou C4b. O CR1 nos eritrócitos atua na eliminação de imunocomplexos da circulação. O CR1 também é um regulador da ativação do complemento.

**Receptor de complemento tipo 2 (CR2, do inglês *complemente receptor 2*)** Um receptor expresso nas células B e células dendríticas foliculares que se ligam aos fragmentos proteolíticos da proteína C3 do complemento, incluindo C3d, C3dg e iC3b. O CR2 atua para estimular as respostas imunes humorais mediante aumento

na ativação da célula B pelo antígeno e promoção do sequestro dos complexos antígeno-anticorpo nos centros germinais. O CR2 é também o receptor para o vírus Epstein-Barr.

**Receptor de *homing*** Moléculas de adesão expressas na superfície dos linfócitos que são responsáveis pelas diferentes vias de recirculação de linfócitos e *homing* tecidual. Os receptores *homing* ligam-se a ligantes (adressinas) expressos nas células endoteliais em leitos vasculares particulares.

**Receptor de manose** Um receptor ligante de carboidrato (lectina) expresso pelos macrófagos que se liga a resíduos de manose e fucose nas paredes celulares bacterianas e medeia a fagocitose dos organismos.

**Receptor Fc neonatal (FcRn)** Um receptor Fc IgG específico que medeia o transporte de IgG materna através da placenta e epitélio intestinal neonatal e, em adultos, promove a meia-vida longa das moléculas de IgG no sangue, protegendo-as do catabolismo pelos fagócitos ou células endoteliais.

**Receptor Fc** Um receptor da superfície celular específico para a região constante carboxiterminal da uma molécula de Ig. Os receptores Fc são tipicamente complexos proteicos multicadeia que incluem componentes da sinalização e componentes ligantes de Ig. Existem vários tipos de receptores Fc, incluindo aqueles específicos para diferentes isotipos de IgG, IgE e IgA. Os receptores Fc medeiam muitas das funções efetoras dependentes de células dos anticorpos, incluindo fagocitose de antígenos ligados a anticorpo, ativação de mastócitos induzida por antígeno e ligação e ativação de células NK.

**Receptor Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ R)** Um receptor específico da superfície celular para a região constante carboxiterminal das moléculas de IgG. Existem diferentes tipos de receptores de Fc $\gamma$ , incluindo Fc $\gamma$ RI de alta afinidade que medeia a fagocitose pelos macrófagos e neutrófilos, um Fc $\gamma$ RIIB de baixa afinidade que traduz sinais inibitórios nas células B e um Fc $\gamma$ RIIA de baixa afinidade que medeia a ativação das células NK.

**Receptor  $\gamma\delta$  de célula T ( $\gamma\delta$  TCR, do inglês *T cell receptor*)** Uma forma de TCR que é distinta do mais comum  $\alpha\beta$  TCR e é expressa em subclasse de células T encontrada principalmente nos tecidos das barreiras epiteliais. Embora o  $\gamma\delta$  TCR seja estruturalmente similar ao  $\alpha\beta$  TCR, as formas de antígenos reconhecidas pelos  $\gamma\delta$  TCRs são pouco compreendidas; elas não reconhecem complexos peptídicos ligados às moléculas de MHC polimórficas.

**Receptor poli-Ig** Um receptor Fc expresso pelas células da mucosa epitelial que medeiam o transporte de IgA e IgM através das células epiteliais para dentro do lúmen intestinal.

**Receptores de morte** Receptores de membrana plasmática expressos em vários

tipos celulares que, sob ligação do ligante, traduzem sinais que levam ao recrutamento da proteína associada ao Fas com proteína adaptadora de domínio de morte (FADD, do inglês *Fas-associated protein with death domain*), a qual ativa a caspase 8, induzindo a morte celular apoptótica. Todos os receptores de morte, incluindo FAS, TRAIL e TNFR, pertencem à superfamília de receptor de TNF.

**Receptores de quimiocina** Receptores da superfície celular para quimiocinas e que traduzem sinais que estimulam a migração de leucócitos. Existem pelo menos 19 diferentes tipos de receptores de quimiocinas. Todos são membros da família de receptores acoplados a proteínas G, com sete  $\alpha$ -hélices transmembranares.

**Receptores de reconhecimento padrão** Receptores de sinalização do sistema imune inato que reconhecem PAMPs e DAMPs e, assim, ativam as respostas imunes inatas. Exemplos incluem receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*) e receptores do tipo Nod (NLRs, do inglês *Nod-like receptors*).

**Receptores do tipo Ig de célula assassina (KIRs, do inglês *killer cell Ig-like receptors*)** Receptores da superfamília Ig expressos pelas células NK que reconhecem diferentes alelos das moléculas de HLA-A, HLA-B e HLA-C. Alguns KIRs possuem componentes de sinalização com ITIMs em suas porções citoplasmáticas, e esses sinais inibitórios inativam as células NK. Alguns membros da família KIR têm regiões citoplasmáticas pequenas sem ITIMs, mas associadas a outros polipeptídios contendo ITAM e função de ativadores de receptores.

**Receptores do tipo NOD (NLRs, do inglês *NOD-like receptors*)** Uma família de proteínas multidomínio e citosólica que possui PAMPs e DAMPS citoplasmáticos e recruta outras proteínas para formar complexos de sinalização que promovem a inflamação.

**Receptores do tipo RIG (RLRs, do inglês *RIG-like receptors*)** Receptores citosólicos do sistema imune inato que reconhece o RNA viral e induz a produção de interferons do tipo I. Os dois RLRs mais bem caracterizados são o RIG-I (gene 1 induzível de ácido retinoico) e o MDA5 (gene 5 associado à diferenciação de melanoma).

**Receptores do tipo Toll** Uma família de receptores de padrão de reconhecimento do sistema imune inato que são expressos na superfície e nos endossomas de muitos tipos celulares, bem como reconhecem as estruturas microbianas, como endotoxina e RNA viral, e transduzem sinais que levam à expressão de genes inflamatórios e antivirais.

**Receptores scavenger** Uma família de receptores da superfície celular expressos em macrófagos, originalmente definidos como receptores que medeiam a endocitose de partículas de lipoproteína oxidada ou acetilada de baixa densidade, mas também se ligam e medeiam a fagocitose de uma variedade de microrganismos.

**Recirculação de linfócitos** Movimento contínuo de linfócitos inativos da corrente sanguínea para órgãos linfoides secundários e seu retorno para o sangue.

**Recombinação somática** Processo de recombinação de DNA pelo qual os genes funcionais que codificam as regiões variáveis de receptores de antígenos são formados durante o desenvolvimento do linfócito. Um quadro relativamente limitado de herança ou linha germinativa, sequências de DNA que são iniciadas separadamente umas das outras são mantidas juntas por deleção enzimática das sequências intervenientes e religação. Este processo ocorre somente nos linfócitos B ou T em desenvolvimento e é mediado pelas proteínas RAG-1 e RAG-2. Também recebe a denominação de recombinação V(D)J ou rearranjo somático.

**Recombinase V(D)J** Um complexo de proteínas RAG1 e RAG2 que catalisa a recombinação do gene do receptor do antígeno de um linfócito.

**Região constante (C)** Porção da cadeia polipeptídica da Ig ou TCR que não varia na sequência entre diferentes clones e não está envolvida na ligação do antígeno.

**Região de dobradiça** Uma região das cadeias pesadas de Ig entre os dois primeiros domínios constantes que podem assumir múltiplas conformações, conferindo, assim, flexibilidade na orientação dos dois locais de ligação do antígeno. Por causa da região de dobradiça, uma molécula de anticorpo pode se ligar simultaneamente a dois epítomos que estão em qualquer local dentro de uma gama de distância uma da outra.

**Região determinante de complementariedade (CDR, do inglês**

*complementarity-determining region*) Pequenos segmentos de proteínas de Ig e TCR que contêm a maior parte das diferenças na sequência entre os distintos anticorpos ou TCRs e fazem contato com o antígeno; também recebem a denominação de **regiões hipervariáveis**. Três CDRs estão presentes no domínio variável de cada cadeia polipeptídica do receptor de antígeno e seis CDRs estão presentes em uma molécula de Ig ou TCR intacta. Esses segmentos hipervariáveis assumem estruturas em alça que juntas formam uma superfície complementar às estruturas tridimensionais dos antígenos ligados.

**Região hipervariável (alça hipervariável)** Segmentos curtos de cerca de 10 resíduos de aminoácidos dentro das regiões variáveis de anticorpo ou proteínas TCR que formam estruturas em alça que entram em contato com o antígeno. Três alças hipervariáveis, também chamadas CDRs, estão presentes em cada cadeia pesada e cadeia leve de anticorpo e em cada cadeia TCR. A maior parte da variabilidade entre os diferentes anticorpos ou TCRs está localizada dentro destas alças.

**Região variável** Região N-terminal extracelular de uma cadeia de Ig pesada ou leve ou um TCR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou cadeia  $\delta$  que contém sequências variáveis de aminoácidos que diferenciam entre cada clone de linfócitos e que são responsáveis pela



especificidade para o antígeno. As sequências variáveis de ligação ao antígeno estão localizadas para estender as estruturas das alças ou segmentos hipervariáveis.

**Regulador autoimune (AIRE, do inglês *autoimmune regulator*)** Uma proteína cuja função é estimular a expressão de antígenos proteicos de tecidos periféricos nas células epiteliais medulares tímicas. Mutações no gene *AIRE* em humanos e camundongos levam à doença autoimune específica ao tecido resultante de uma expressão defeituosa dos antígenos teciduais no timo e falha em deletar as células T específicas para esses antígenos.

**Rejeição a enxerto** Uma resposta imune específica a um órgão ou tecido enxertado que leva a inflamação, dano e, possivelmente, falha no enxerto.

**Rejeição aguda** Forma de rejeição a enxerto envolvendo lesão vascular e parenquimal mediada por células T, macrófagos e anticorpos que normalmente se manifesta dias ou semanas após o transplante, mas pode ocorrer tardiamente se a imunossupressão farmacológica se tornar inadequada.

**Rejeição crônica** Uma forma de rejeição a enxerto caracterizada por fibrose com perda das estruturas normais dos órgãos e ocorrendo durante um período prolongado. Em muitos casos, o principal evento patológico na rejeição crônica é a oclusão arterial causada por proliferação das células musculares lisas da íntima, o que é denominado enxerto de arteriosclerose.

**Rejeição de primeira fase** Rejeição a enxerto em um indivíduo que não havia recebido previamente um enxerto ou de outro modo sido exposto a aloantígenos teciduais do mesmo doador. A rejeição de primeira fase normalmente demora cerca de 7 a 14 dias.

**Rejeição hiperaguda** Uma forma de rejeição a enxerto ou xenotransplante que se inicia dentro de minutos a horas após o transplante e que é caracterizada pela oclusão trombótica dos vasos do enxerto. A rejeição hiperaguda é mediada por anticorpos preexistentes na circulação do hospedeiro que se ligam aos antígenos endoteliais do doador, tais como antígenos de grupo sanguíneo ou moléculas de MHC, e ativam o sistema complemento.

**Repertório de anticorpo** Coleção de diferentes especificidades de anticorpos expressos em um indivíduo.

**Repertório de linfócitos** Coleção completa de receptores de antígenos e, portanto, especificidades de antígenos expressos pelos linfócitos B e T de um indivíduo.

**Resíduos de ancoragem** Resíduos de aminoácidos de um peptídeo cujas cadeias cabem dentro de uma bolsa na fenda de ligação ao peptídeo na molécula de MHC. A cadeia lateral liga-se aos aminoácidos complementares na molécula de MHC, servindo, assim, como âncora para o peptídeo na fenda da molécula de MHC.

**Resposta de fase aguda** Aumento nas concentrações plasmáticas de várias proteínas, denominadas reagentes de fase aguda, que ocorre como parte da fase inicial da resposta imune inata às infecções.

**Resposta imune** Uma resposta coletiva e coordenada à introdução de substâncias estranhas em um indivíduo mediada pelas células e moléculas do sistema imune.

**Resposta imune primária** Resposta imune adaptativa que ocorre após a primeira exposição de um indivíduo a um antígeno estranho. As respostas primárias são caracterizadas por cinética relativamente lenta e de pequena magnitude quando comparadas às respostas após uma segunda ou subsequente exposição.

**Resposta imune secundária** Uma resposta imune adaptativa que ocorre em uma segunda exposição a um antígeno. Uma resposta secundária é caracterizada por uma cinética mais rápida e maior magnitude em relação à resposta imune primária, que ocorre na primeira exposição.

**Restrição de MHC** Característica de linfócitos T de que reconhecem um antígeno peptídico estranho somente quando estão ligados a uma forma alélica particular de uma molécula de MHC.

**Retorno de linfócitos** Migração direcionada de subgrupos de linfócitos circulantes para locais teciduais em particular. O retorno de linfócitos é regulado pela expressão seletiva de moléculas de adesão endotelial e quimiocinas, em diferentes tecidos. Por exemplo, alguns linfócitos direcionam-se preferencialmente para a mucosa intestinal, o que é regulado pela quimiocina CCL25 e moléculas de adesão endotelial MadCAM, ambas expressas no intestino, e ligam-se respectivamente ao receptores de quimiocina CCR9 e à integrina  $\alpha\beta_1$  em linfócitos que retornam ao intestino.

**Retroalimentação de anticorpo** Regulação negativa da produção de anticorpo pelos anticorpos IgG secretados e que ocorre quando os complexos antígeno-anticorpo atingem simultaneamente a Ig da membrana da célula B e um tipo de receptor Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ RIIb). Sob essas condições, a cauda citoplasmática do Fc $\gamma$ RIIb traduz os sinais inibitórios para dentro da célula B.

**ROR $\gamma$ T (receptor orfão  $\gamma$  T relacionado com o ácido retinoico, do inglês *retinoid-related orphan receptor gamma; T*)** Um fator de transcrição expresso nas células e necessário para a diferenciação das células T<sub>H</sub>17 e células linfoides inatas tipo 3.

**Sarcoma de Kaposi** Um tumor maligno de células vasculares que frequentemente surge em pacientes com AIDS. O sarcoma de Kaposi está associado à infecção pelo herpes-vírus relacionada com sarcoma de Kaposi (herpes-vírus humano 8).

**Segmentos de diversidade (D)** Pequenas sequências de codificação entre os segmentos variáveis (V) e constantes (C) de genes na cadeia pesada de Ig e

locus de TCR $\beta$  e  $\gamma$ , que, juntos com os segmentos J, são somaticamente recombinados com os segmentos V durante o desenvolvimento do linfócito. O DNA VDJ recombinante resultante codifica para os terminais carboxil das regiões V do receptor de antígeno, incluindo as terceiras regiões hipervariáveis. O uso randômico dos segmentos D contribui para a diversidade do repertório do receptor de antígeno.

**Segmentos de gene C (região constante)** Sequências de DNA nos *loci* do gene *Ig* e *TCR* que codificam as porções não variáveis das cadeias pesada e leve de *Ig* e *TCR* e cadeias  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ .

**Segmentos de gene V** Sequência de DNA que codifica o domínio variável de uma cadeia de *Ig* pesada ou leve ou um TCR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ou cadeia  $\delta$ . Cada locus do receptor do antígeno contém muitos segmentos diferentes do gene V, qualquer um podendo se recombinar com segmentos D ou J durante a maturação do linfócito para formar genes de receptor de antígeno funcionais.

**Segmentos de ligação (J)** Pequenas sequências de codificação entre os segmentos dos genes variável (V) e constante (C) em todos os *locis* *Ig* e *TCR* que, juntamente aos segmentos D, são somaticamente recombinados com segmentos V durante o desenvolvimento do linfócito. O DNA VDJ recombinante resultante codifica para as porções carboxiterminais das regiões V do receptor do antígeno, incluindo as terceiras regiões hipervariáveis (CDR). O uso randômico de diferentes segmentos J contribui para a diversidade do repertório de receptores para antígenos.

**Segundo quadro de rejeição** Rejeição a enxerto em um indivíduo que foi previamente sensibilizado aos aloantígenos teciduais do doador pelo fato de ter recebido outro enxerto ou transfusão deste doador. Contrapondo-se ao primeiro quadro de rejeição, que ocorre em um indivíduo que não foi previamente sensibilizado com os aloantígenos do doador, o segundo quadro de rejeição é rápido e ocorre em 3 a 7 dias como resultado da memória imunológica.

**Seleção negativa** Processo pelo qual os linfócitos em desenvolvimento que expressam os receptores de antígenos autorreativos são eliminados, contribuindo, assim, para a manutenção da autotolerância. A seleção negativa dos linfócitos T em desenvolvimento (timócitos) é mais bem compreendida e envolve ligação de alta afinidade do timócito às próprias moléculas de MHC com peptídeos ligados nas APCs tímicas, levando à morte apoptótica do timócitos.

**Seleção positiva** Processo pelo qual células T em desenvolvimento no timo (timócitos) cujos TCRs se ligam às próprias moléculas de MHC são salvas da morte celular programada, ao passo que os timócitos cujos receptores não reconhecem as próprias moléculas de MHC morrem. A seleção positiva garante que as células T maduras são restritas ao próprio MHC e as células T CD8<sup>+</sup> são

específicas para complexos de peptídios com moléculas de MHC de classe I e células T CD4<sup>+</sup> para complexos de peptídios com moléculas de MHC de classe II.

**Selectina** Qualquer uma de três independentes, mas proximamente relacionadas proteínas ligantes de carboidratos que medeiam a adesão de leucócitos às células endoteliais. Cada uma das moléculas de selectina é uma glicoproteína transmembranar de cadeia simples com uma estrutura similar, incluindo um domínio lectina extracelular e cálcio dependente. As selectinas incluem a L-selectina (CD62L), expressa nos leucócitos; a P-selectina (CD62P), expressa nas plaquetas e no endotélio ativado; e a E-selectina (CD62E), expressa no endotélio ativado.

**Sequências de recombinação de sinal** Sequências específicas de DNA encontradas adjacentes aos segmentos V, D e J no locus do receptor do antígeno e reconhecidas pelo complexo RAG-1/RAG-2 durante a recombinação V(D)J. As sequências de reconhecimento consistem em uma extensão de 7 nucleotídios altamente conservados, chamada de heptâmero, localizada adjacente à sequência de codificação V, D, J, seguida por um espaçador de exatamente 12 ou 23 nucleotídios não conservados e uma extensão altamente conservada de 9 nucleotídios, denominada nonâmero.

**Sinal transdutor e ativador de transcrição (STAT, do inglês *signal transducer and activator of transcription*)** Um membro de uma família de proteínas que atua como molécula de sinalização e fator de transcrição em resposta à ligação de citocinas aos receptores de citocinas dos tipos I e II. Os STATs estão presentes como monômeros inativos no citosol das células e são recrutados para as caudas citoplasmáticas dos receptores de citocina, onde eles são fosforilados na tirosina pelas JAKs. As proteínas STAT fosforiladas dimerizam e movem-se para o núcleo, onde se ligam a sequências específicas nas regiões promotoras de vários genes e estimulam sua transcrição. Diferentes STATs são ativados por citocinas distintas.

**Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês *acquired immunodeficiency disease syndrome*)** Doença causada por infecção com vírus da imunodeficiência humana (HIV) que é caracterizada por depleção das células T CD4<sup>+</sup>, levando a um profundo defeito na imunidade mediada por células. Clinicamente, a AIDS inclui infecções oportunistas, tumores malignos e encefalopatia.

**Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS, do inglês *systemic inflammatory response syndrome*)** Alterações sistêmicas observadas em pacientes que têm infecções bacterianas disseminadas. Na forma moderada, a SIRS consiste em neutrofilia, febre e aumento nos reagentes de fase aguda no plasma. Essas alterações são estimuladas pelos produtos bacterianos (p. ex., LPS) e mediadas por citocinas do sistema imune inato. Em casos graves, a SIRS

pode incluir coagulação intravascular disseminada, síndrome do desconforto respiratório do adulto e choque séptico.

**Síndrome de Chédiak-Higashi** Uma rara imunodeficiência recessiva autossômica causada por um defeito nos grânulos citoplasmáticos de vários tipos celulares que afetam os lisossomos de neutrófilos e macrófagos, assim como os grânulos de células CTLs e NK. Pacientes mostram resistência reduzida à infecção com bactéria piogênica.

**Síndrome de DiGeorge** Deficiência seletiva de célula T causada por malformação congênita que resulta em defeito no desenvolvimento do timo, das glândulas paratiroides e de outras estruturas que emergem das 3ª e 4ª bolsas faríngeas.

**Síndrome de hiper-IgM ligada ao X** Uma rara imunodeficiência causada por mutações no gene do ligante CD40 e caracterizada por falha na troca de isotipo da cadeia pesada da célula B e na imunidade mediada por célula. Os pacientes sofrem de ambas as infecções bacteriana piogênica e por protozoário.

**Síndrome de Wiskott-Aldrich** Doença ligada ao X caracterizada por eczema, trombocitopenia (reduzidas plaquetas sanguíneas) e imunodeficiência, manifestada como suscetibilidade a infecções bacterianas. O gene defeituoso codifica uma proteína citosólica envolvida nas cascatas de sinalização e regulação da actina do citoesqueleto.

**Síndrome do choque tóxico** Doença aguda caracterizada por choque, esfoliação cutânea, conjuntivite e diarreia e que está associada ao uso de tampão, sendo causada por superantígeno de *Staphylococcus aureus*.

**Síndrome do linfócito nu** Uma síndrome de imunodeficiência caracterizada pela perda da expressão das moléculas de MHC de classe II que leva a defeitos na apresentação de antígenos e na imunidade mediada por células. A doença é causada por mutações nos genes que codificam fatores que regulam a transcrição dos genes do MHC de classe II.

**Singênico** Geneticamente idêntico. Todos os animais de uma linhagem pura e gêmeos monozigóticos são singênicos.

**Sistema imune** Moléculas, células, tecidos e órgãos que atuam coletivamente para fornecer imunidade ou proteção, contra organismos estranhos.

**Sistema imune cutâneo** Componentes dos sistemas imunes inato e adaptativo encontrados na pele e que atuam juntos de forma especializada para detectar e responder aos patógenos na pele e manter a homeostasia com microrganismos comensais. Componentes do sistema imune cutâneo incluem queratinócitos, células de Langerhans, células dendríticas dérmicas, linfócitos intraepiteliais e linfócitos dérmicos.

**Sistema imune mucoso** Parte do sistema imune que responde e protege contra

microrganismos que entram no corpo através de superfícies mucosas, tais como os tratos gastrointestinal e respiratório, mas também mantém a tolerância aos organismos comensais que vivem no lado de fora do epitélio mucoso. O sistema imune mucoso é constituído por tecido linfóide associado à mucosa, tais como as placas de Peyer, bem como células difusamente distribuídas dentro da lâmina própria.

**Sistema linfático** Um sistema de vasos distribuídos pelo corpo e que coleta fluidos teciduais denominados linfa, originalmente derivada do sangue, e retorna, através do ducto torácico, para a circulação. Os linfonodos são intercalados ao longo desses vasos e recebem e retêm antígenos presentes na linfa.

**Soro** Fluido livre de célula que permanece quando sangue ou plasma formam um coágulo. Os anticorpos sanguíneos são encontrados na fração sérica.

**Soroconversão** Produção de anticorpos detectáveis no soro e específicos para um microrganismo durante o curso de uma infecção ou na resposta à imunização.

**Sorologia** Estudo dos anticorpos sanguíneos (soro) e suas reações com antígenos. O termo *sorologia* frequentemente é utilizado para o diagnóstico de doenças infecciosas pela detecção de anticorpos específicos para o microrganismo no soro.

**Sorotipo** Um subgrupo antígenicamente distinto de uma espécie de um organismo infeccioso que é diferenciado de outros subgrupos por testes sorológicos (i.e., anticorpo sérico). As respostas imunes humorais a um sorotipo de microrganismo (p. ex., vírus da influenza) podem não ser protetoras contra outro sorotipo.

**Superantígenos** Proteínas que se ligam e ativam todas as células T em um indivíduo que expressa um quadro ou família particular de genes  $V\beta$ TCR. Os superantígenos são apresentados pelas células T através da ligação a regiões não polimórficas das moléculas de MHC de classe II nas APCs e interagem com regiões conservadas dos domínios TCR  $V\beta$ . Várias enterotoxinas estafilocócicas são superantígenos. Sua importância reside na habilidade de ativar muitas células T, o que resulta em grandes quantidades de citocinas produzidas e uma síndrome clínica que é similar ao choque séptico.

**Superfamília de imunoglobulina** Uma grande família de proteínas que contêm uma região globular estrutural denominada domínio Ig, ou dobra Ig, originalmente descrita em anticorpos. Muitas proteínas de importância no sistema imune, incluindo anticorpos, TCRs, moléculas de MHC, CD4 e CD8, são membros desta superfamília.

**Superfamília do fator de necrose tumoral (TNFSF, do inglês *tumor necrosis factor superfamily*)** Uma grande família de proteínas transmembranares estruturalmente homólogas que regulam diversas funções nas células, incluindo



proliferação, diferenciação, apoptose e expressão de gene inflamatório. Os membros TNFSF tipicamente formam homotrímeros, dentro da membrana plasmática ou após liberação proteolítica pela membrana, e se ligam a moléculas da superfamília homotrimérica do receptor de TNF (TNFRSF), que então inicia uma variedade de vias de sinalização (ver [Apêndice II](#)).

**Superfamília do receptor do fator de necrose tumoral (TNFRSF, do inglês *tumor necrosis factor receptor superfamily*)** Uma grande família de proteínas transmembranares estruturalmente homólogas que se ligam às proteínas do TNFRSF e geram sinais que regulam a proliferação, diferenciação, apoptose e expressão de gene inflamatório (ver [Apêndice II](#)).

**Syk** Uma proteína tirosinoquinase citoplasmática, similar ao ZAP-70 nas células T, que é crucial para os passos iniciais da sinalização na ativação da célula B induzida pelo antígeno. O Syk liga-se às tirosinas fosforiladas nas caudas citoplasmáticas das cadeias de  $I\alpha$  e  $I\beta$  do complexo BCR e, assim, fosforila as proteínas adaptadoras que recrutam outros componentes da cascata de sinalização.

**Tecido linfoide associado à mucosa (MALT, do inglês *mucosa-associated lymphoid tissue*)** Coleção de linfócitos, células dendríticas e outros tipos celulares dentro da mucosa dos trato gastrintestinal e respiratório, locais das respostas imunes adaptativas aos antígenos. Os tecidos linfoides associados à mucosa contêm linfócitos intraepiteliais, principalmente células T, e coleções organizadas de linfócitos, frequentemente ricos em células B, abaixo do epitélio da mucosa, tais como as placas de Peyer no intestino ou amígdalas faríngeas.

**Tecido linfoide associado ao intestino (GALT, do inglês *gut-associated lymphoid tissue*)** Coleções de linfócitos e APCs dentro da mucosa do trato gastrintestinal onde são iniciadas as respostas imunes adaptativas à flora microbiana intestinal e antígenos ingeridos (ver também [tecido linfoide associado à mucosa](#)).

**Técnica de imunoperoxidase** Uma técnica de imuno-histoquímica comum na qual um anticorpo acoplado a *horsehadish peroxidase* é usado para identificar a presença de um antígeno em uma seção de tecido. A enzima peroxidase converte o substrato incolor a um produto marrom insolúvel que é observável em microscópio de luz.

**Terapia antirretroviral (ART, do inglês *antiretroviral therapy*)** Quimioterapia combinada para infecção por HIV, normalmente consistindo em dois inibidores de nucleosídeo transcriptase reversa e um inibidor de protease viral ou um inibidor de transcriptase reversa não nucleotídica. A ART pode reduzir o título viral plasmático para níveis abaixo dos detectáveis por mais de 1 ano e retardar a progressão da doença HIV.

**Tetrâmero MHC** Reagente usado para identificar e enumerar células T que reconhecem especificamente um complexo MHC-peptídeo particular. O reagente consiste em quatro moléculas de MHC recombinantes, biotinizadas (normalmente de classe I) ligadas à molécula de avidina marcada com um fluorocromo e carregada com um peptídeo. As células T que se ligam ao tetrâmero MHC podem ser detectadas por citometria de fluxo.

**Timo** Um órgão bilobado, situado no mediastino anterior, que é o local de maturação dos linfócitos T oriundos de precursores derivados da medula óssea. O tecido tímico é dividido em um córtex externo e uma medula interna e contém células epiteliais tímicas, macrófagos, células dendríticas e numerosos precursores de células T (timócitos) em vários estágios de maturação.

**Timócito** Um precursor do linfócito T maduro presente no timo.

**Timócito simples positivo** Um precursor de célula T em maturação no timo e que expressa moléculas de CD4 ou CD8, mas não ambas. Os timócitos simples positivos são principalmente encontrados na medula e maturaram a partir do estágio duplo-positivo, durante o qual os timócitos expressam ambas as moléculas CD4 e CD8.

**Timócitos duplo-negativos** Um subgrupo de células T em desenvolvimento no timo (timócitos) que não expressa CD4 nem CD8. A maioria dos timócitos duplo-negativos está em um estágio inicial de desenvolvimento e não expressa receptores de antígenos. Eles expressarão tardiamente ambos os CD4 e CD8 durante o estágio intermediário duplo-positivo antes da maturação a células T positivas que expressam somente CD4 ou CD8.

**Timócitos duplo-positivos** Um subgrupo de células T em desenvolvimento no timo (timócitos) que expressa ambos CD4 e CD8 e está em um estágio intermediário de desenvolvimento. Os timócitos duplo-positivos também expressam TCRs e estão sujeitos aos processos de seleção, maturando as células T positivas e expressando somente CD4 ou CD8.

**Tipagem tecidual** Determinação de alelos de MHC particulares, expressos por um indivíduo, para fins de combinação de doadores e receptores de enxertos. A tipagem tecidual, também denominada tipagem de HLA, normalmente é realizada por sequenciamento molecular (baseado em PCR) dos alelos HLA ou por métodos sorológicos (lise de células individuais por painéis de anticorpos anti-HLA).

**Tirosinoquinase de Bruton (Btk, do inglês *Bruton's tyrosine kinase*)** Uma família Tec de tirosinoquinase que é essencial para a maturação da célula B. Mutações no gene que codifica a Btk causam agamaglobulinemia ligada ao X, uma doença caracterizada por falha das células B em maturarem além do estágio de célula pré-B.

**Tolerância** Irresponsividade do sistema imune adaptativo aos antígenos, como resultado da inativação ou morte de linfócitos específicos para antígeno, induzida pela exposição aos antígenos. A tolerância aos próprios antígenos é uma característica normal do sistema imune adaptativo, mas a tolerância aos antígenos estranhos pode ser induzida sob certas condições de exposição ao antígeno.

**Tolerância central** Uma forma de autotolerância induzida nos órgãos linfoides germinativos (centrais) como consequência do reconhecimento, pelos linfócitos imaturos autorreativos, dos próprios antígenos e levando subsequentemente à sua morte ou inativação. A tolerância central previne a emergência dos linfócitos com receptores de alta afinidade para os próprios antígenos que são expressos na medula óssea e no timo.

**Tolerância imunológica** Ver [tolerância](#).

**Tolerância oral** Supressão das respostas imunes sistêmica humoral e mediada por célula a um antígeno após a administração oral daquele antígeno como resultado de anergia de células T antígeno-específicas ou produção de citocinas imunossupressoras, tais como fator de transformação de crescimento- $\beta$ . A tolerância oral é um possível mecanismo para a prevenção das respostas imunes aos antígenos alimentares e a bactérias que normalmente residem como comensais no lúmen intestinal.

**Tolerância periférica** Irresponsividade aos próprios antígenos que estão presentes nos tecidos periféricos e não nos órgãos linfoides geradores. A tolerância periférica é induzida pelo reconhecimento de antígenos sem níveis adequados de coestimuladores necessários para a ativação do linfócito ou pela estimulação persistente ou repetida por esses autoantígenos.

**Tolerógeno** Antígeno que induz tolerância imunológica, contrapondo-se a um imunógeno, que induz resposta imune. Muitos antígenos podem ser tolerógenos ou imunógenos, dependendo de como eles são administrados. As formas tolerogênicas dos antígenos incluem grandes doses de proteínas administradas sem adjuvantes e antígenos oralmente administrados.

**Transcriptase reversa** Uma enzima codificada por retrovírus, como HIV, que sintetiza uma cópia de DNA do genoma viral a partir de um template genômico de RNA. A transcriptase reversa purificada é muito usada na pesquisa em biologia molecular para fins de clonagem de DNAs complementares que codificam um gene de interesse a partir do RNA mensageiro. Os inibidores da transcriptase reversa são utilizados como fármacos para tratar a infecção por HIV-1.

**Transferência adaptativa** Processo de transferência de células de um indivíduo para outro ou de volta ao mesmo indivíduo após expansão e ativação *in vitro*. A transferência adaptativa é usada na pesquisa para se definir o papel de uma população células particular (p. ex., células T) na resposta imune. Clinicamente, a

transferência adaptativa de linfócitos T reativos a tumores e células dendríticas apresentadoras de antígenos é usada na terapia experimental do câncer e pesquisas de transferência adaptativa de células T regulatórias estão em desenvolvimento.

**Transfusão** Transplante de células sanguíneas circulantes, plaquetas ou plasma, de um indivíduo para outro. As transfusões são realizadas para tratar a perda sanguínea ocorrida por hemorragia ou a deficiência de um ou mais tipos celulares sanguíneos resultante de produção inadequada ou destruição excessiva.

**Translocação cromossômica** Anormalidade cromossômica na qual um segmento de um cromossoma é transferido para outro. Muitas doenças malignas de linfócitos estão associadas a translocações cromossômicas envolvendo o locus de Ig ou TCR e um segmento cromossômico contendo um oncogene celular.

**Transplante alogênico** Transplante de um órgão ou tecido de um doador que é da mesma espécie, mas geneticamente não idêntico ao receptor (também chamado de alotransplante).

**Transplante autólogo** Transplante de tecido ou órgão no qual o doador e o receptor são o mesmo indivíduo. Transplantes autólogos de medula óssea e pele são realizados na clínica médica.

**Transplante de célula-tronco hematopoética** Transplante de célula-tronco hematopoética coletada do sangue ou medula óssea. É clinicamente realizado para tratar distúrbios hematopoéticos ou linfopoéticos e doenças malignas e também é usado em vários experimentos imunológicos em animais.

**Transplante de medula óssea** Ver [transplante de célula-tronco hematopoética](#).

**Transplante** Processo de transferência de células, tecidos ou órgãos (i.e., enxertos) de um indivíduo para outro ou de um local para outro no mesmo indivíduo. O transplante é usado para o tratamento de uma variedade de doenças nas quais existe um distúrbio funcional de um tecido ou órgão. A principal barreira para o sucesso no transplante entre indivíduos é a reação imunológica (rejeição) ao enxerto transplantado.

**Transportador associado ao processamento de antígeno (TAP, do inglês *transporter associates with antigen processing*)** Um transportador peptídico dependente de trifosfato de adenosina (ATP) que medeia o transporte ativo de peptídeos do citosol para o local de ligação das moléculas de MHC de classe I dentro do retículo endoplasmático. O TAP é uma molécula heterodimérica composta de polipeptídeos TAP-1 e TAP-2, ambos codificados por genes no MHC. Pelo fato de os peptídeos serem necessários para a montagem estável das moléculas de MHC de classe I, os animais deficientes em TAP expressam poucas moléculas de MHC de classe I de superfície celular, o que resulta em

desenvolvimento e ativação de células T CD8<sup>+</sup> reduzidos.

**Troca de classe de cadeia pesada (isotipo)** Processo pelo qual um linfócito B troca de classe, ou isotipo, de anticorpo que ele produz, de IgM para IgG, IgE ou IgA, sem trocar a especificidade do antígeno do anticorpo. A troca de classe de cadeia pesada é estimulada por citocinas e ligantes CD40 expressos pelas células T auxiliares e envolve a recombinação de segmentos VDJ de células B com redução de segmentos de genes de cadeia pesada.

**Troca de recombinação** O mecanismo molecular da troca de isotipo Ig no qual o rearranjo do segmento do gene VDJ em uma célula B produtora de anticorpo se recombina com um gene C e o gene ou genes C intervenientes são deletados. Os eventos de recombinação de DNA na troca de recombinação são disparados por CD40 ou citocinas e envolvem sequências de nucleotídeos denominadas como regiões de troca, localizadas nos introns da terminação 5' de cada locus C<sub>H</sub>.

**Ubiquitinação** Ligação covalente de uma ou várias cópias de um pequeno polipeptídio denominado ubiquitina a uma proteína. A ubiquitina o frequentemente serve para marcar proteínas para a degrada o proteolítica pelos lisossomas ou proteassomas, este último sendo o passo crítico na via de MHC de classe I do processamento e apresenta o de antígeno.

**Urticária** Inchaço e vermelhidão transientes e localizados da pele, causados pelo extravasamento de fluido e proteínas plasmáticas de pequenos vasos para a derme e durante uma rea o de hipersensibilidade imediata.

**Vacina** Uma prepara o de antígeno microbiano, frequentemente combinada com adjuvantes, que   administrada aos indivíduos para induzir imunidade protetora contra infec es microbianas. O antígeno pode ser na forma viva, mas microrganismos avirulentos, microrganismos mortos, componentes macromoleculares purificados de um microrganismo ou um plasmídio que contenha um DNA complementar que codifica um antígeno microbiano também podem ser utilizados.

**Vacina com vírus vivo** Uma vacina composta com a forma de um vírus vivo, mas não patogênico (atenuado). Os vírus atenuados carregam muta es que interferem no ciclo de vida viral ou sua patogênese. Como as vacinas de vírus vivos normalmente infectam as células receptoras, elas podem estimular efetivamente as respostas imunes, tais como a resposta CTL, que   ótima para prote o contra infec o viral selvagem. Uma vacina de vírus vivo comumente utilizada   a vacina Sabin com poliovírus.

**Vacina de antígeno purificado (subunidade)** Uma vacina composta de antígenos purificados ou subunidades de microrganismos. Exemplos deste tipo de vacina incluem os toxoides de difteria e tetânico, vacinas de polissacar dio de

pneumococcus e *Haemophilus influenzae* e vacinas de polipeptídios purificados contra vírus da hepatite B e vírus da influenza. Vacinas de antígenos purificados podem estimular anticorpos e respostas de células T auxiliares, mas elas tipicamente não geram respostas CTL.

**Vacina de DNA** Vacina composta de plasmídeo bacteriano contendo um DNA complementar codificando um antígeno proteico. As vacinas de DNA presumivelmente funcionam porque as APCs profissionais são transfectadas *in vivo* pelo plasmídeo e expressam peptídios imunogênicos que elicitam respostas específicas. Além disso, o DNA do plasmídeo contém nucleotídeos CpG que agem como potentes adjuvantes.

**Vacina sintética** Vacinas compostas de antígenos derivados de DNA recombinante. As vacinas sintéticas para vírus da hepatite B e vírus herpes simples estão atualmente em uso.

**Varição antigênica** Processo pelo qual antígenos expressos pelos microrganismos podem se alterar em razão de vários mecanismos genéticos e, assim, permitir aos microrganismos evadirem das respostas imunes. Um exemplo de variação antigênica é a mudança nas proteínas da superfície do vírus da influenza, hemaglutinina e neuraminidase, que requer uso de novas vacinas a cada ano.

**Variola** Doença causada pelo vírus da variola. A variola foi a primeira doença infecciosa prevenida pela vacinação e a primeira doença a ser completamente erradicada após um programa mundial de vacinação.

**Vesícula de classe II (CIIV, do inglês *class II vesicle*)** Uma organela ligada à membrana e identificada nas células B murinas que é importante na via de MHC de classe II na apresentação de antígenos. A CIIV é similar ao compartimento de MHC de classe II (MIIC) identificado em outras células e contém todos os componentes necessários para a formação de complexos de antígenos peptídicos e moléculas de MHC de classe II, incluindo enzimas que degradam os antígenos proteicos, moléculas de classe II, cadeia invariável e HLA-DM.

**Via alternativa de ativação do complemento** Uma via de ativação do sistema complemento independente de anticorpo que ocorre quando a proteína C3b se liga às superfícies da célula microbiana. A via alternativa é um componente do sistema imune inato e medeia as respostas inflamatórias à infecção, bem como a lise direta de microrganismos.

**Via da lectina da ativação do complemento** Uma via da ativação do complemento ativada pela ligação de polissacarídeos microbianos às lectinas circulantes, tais como MBL. A MBL é estruturalmente similar à C1q e ativa o complexo de enzima C1r-C1s (tipo C1q) ou outra serino-esterase, denominada serino-esterase associada à proteína de ligação à manose. Os passos restantes da via da lectina, iniciando-se com a clivagem de C4, são os mesmos da via clássica.



**Via de sinalização JAK-STAT** Uma via de sinalização iniciada pela ligação de citocina aos receptores de citocina de tipo I e tipo II. Esta via envolve sequencialmente a ativação de receptor associado a Janus quinase (JAK) tirosinoquinase, fosforilação de tirosina mediada por JAK das porções citoplasmáticas dos receptores de citocina, acoplamento de transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs) às cadeias fosforiladas do receptor, fosforilação de tirosina mediada por JAK das STATs associadas, dimerização e translocação nuclear das STATs e ligação da STAT às regiões regulatórias de genes-alvo, causando ativação transcricional daqueles genes.

**Vigilância imune** Conceito de que as funções do sistema imune são a de reconhecer e destruir clones de células transformadas antes de estes crescerem em tumores e a de matar tumores após eles se formarem. O termo *vigilância imune* algumas vezes é usado de modo genérico para descrever a função de linfócitos T em detectar e destruir qualquer célula, não necessariamente uma célula tumoral, que está expressando antígenos estranhos (p. ex., microbiano).

**Vírus** Um organismo parasita intracelular obrigatório, primitivo ou partícula infecciosa que consiste em um genoma de ácido nucleico simples empacotado em um capsídeo proteico, algumas vezes circundado por um envelope membranar. Muitos vírus animais patogênicos causam uma grande variedade de doenças. As respostas imunes humorais aos vírus podem ser efetivas no bloqueio da infecção das células. As células NK e CTLs são necessárias para matar as células ainda infectadas.

**Vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *human immunodeficiency virus*)** O agente etiológico da AIDS. O HIV é um retrovírus que infecta uma variedade de tipos celulares, incluindo células T auxiliares expressando CD4, macrófagos e células dendríticas, e causa destruição crônica e progressiva do sistema imune.

**Vírus da imunodeficiência símia** Um lentivírus intimamente relacionado com o HIV-1 que causa doença similar à AIDS em macacos.

**Vírus Epstein-Barr (EBV, do inglês *Epstein-Barr virus*)** Um vírus de dupla hélice de DNA da família do herpes-vírus que é o agente etiológico da mononucleose infecciosa e está associado a alguns tumores malignos de célula B e carcinoma nasofaríngeo. O EBV infecta linfócitos B e algumas células epiteliais por ligação específica a CR2 (CD21).

**Western blot** Uma técnica imunológica para determinar a presença de uma proteína em amostra biológica. O método envolve separação de proteínas na amostra por eletroforese, transferência da proteína do gel de eletroforese para a membrana de suporte, por meio de ação capilar (*blotting*), e, finalmente, a detecção da proteína pela ligação de um anticorpo específico para aquela proteína e marcado

enzimaticamente ou radioativamente.

**XBP-1** Um fator de transcrição que é necessário para a resposta da proteína desenovelada e o desenvolvimento do plasmócitos.

**Xenoantígeno** Antígeno em um enxerto de outra espécie.

**Xenoenxerto (enxerto xenogênico)** Órgão ou tecido do enxerto derivado de uma espécie diferente da do recebedor. O transplante de enxertos xenogênicos (p. ex., de um porco) para humanos não é uma prática devido a problemas especiais relacionados com a rejeição imunológica.

**Xenorreativo** Descrição de uma célula T ou anticorpo que reconhece e responde a um antígeno em um enxerto de outra espécie (um xenoantígeno). A célula T pode reconhecer uma molécula de MHC xenogênica intacta ou um peptídeo derivado de uma proteína xenogênica ligada à própria molécula de MHC.

**Zona marginal** Uma região periférica dos folículos linfoides esplênicos contendo macrófagos que são particularmente eficientes na retenção de antígenos polissacarídicos. Tais antígenos podem persistir por prolongados períodos nas superfícies dos macrófagos da zona marginal, onde eles são reconhecidos pelas células B específicas, ou podem ser transportados para dentro dos folículos.

---

\* Nota da Revisão Científica: Significa o mesmo que “virgem”, “imaturo ou “inativo”.

---

## APÊNDICE II

### Citocinas

Citocina e Subunidade	Principal Fonte Celular	Receptor da Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
<b>Membros da Família de Citocina Tipo I</b>			
Interleucina-2 (IL-2)	Células T	CD25 (IL-2R $\alpha$ ) CD122 (IL-2R $\beta$ ) CD132 ( $\gamma$ c)	Células T: proliferação e diferenciação em células efetoras e de memória; promove o desenvolvimento, sobrevivência e função de célula T regulatória Células NK: proliferação, ativação Células B: proliferação, síntese de anticorpo ( <i>in vitro</i> )
Interleucina-3 (IL-3)	Células T	CD123 (IL-3R $\alpha$ ) CD131 ( $\beta$ c)	Progenitores hematopoéticos imaturos: induz maturação de todas as linhagens hematopoéticas
Interleucina-4 (IL-4)	Células T CD4 <sup>+</sup> (T <sub>H</sub> 2), mastócitos	CD124 (IL-4R $\alpha$ ) CD132 ( $\gamma$ c)	Células B: troca de isotipo para IgE Células T: diferenciação de T <sub>H</sub> 2, proliferação Macrófagos: ativação alternativa e inibição da ativação clássica mediada por IFN- $\gamma$ Mastócitos: proliferação ( <i>in vitro</i> )
Interleucina-5 (IL-5)	Células T CD4 <sup>+</sup> (T <sub>H</sub> 2), células linfóides inatas do grupo 2	CD125 (IL-5R $\alpha$ ) CD131 ( $\beta$ c)	Eosinófilos: ativação, geração aumentada Células B: proliferação, produção de IgA ( <i>in vitro</i> )
Interleucina-6 (IL-6)	Macrófagos, células endoteliais, células T	CD126 (IL-6R $\alpha$ ) CD130 (gp130)	Fígado: síntese de proteína de fase aguda Células B: proliferação de células produtoras de anticorpos
Interleucina-7 (IL-7)	Fibroblasto, células estromais da medula óssea	CD127 (IL-7R) CD132 ( $\gamma$ c)	Progenitores linfóides imaturos: proliferação de progenitores de células T e B Linfócitos T: sobrevivência de células inativas e de memória
Interleucina-9 (IL-9)	Células T CD4 <sup>+</sup>	CD129 (IL-9R) CD132 ( $\gamma$ c)	Mastócitos, células B, células T e células teciduais: sobrevivência e ativação
Interleucina-11 (IL-11)	Células estromais da medula óssea	IL-11R $\alpha$ CD130 (gp130)	Produção de plaquetas
Interleucina-12 (IL-12): IL-12A (p35) IL-12B (p40)	Macrófagos, células dendríticas	CD212 (IL-12R $\beta$ 1) IL-12R $\beta$ 2	Células T: diferenciação de T <sub>H</sub> 1 Células NK e células T: síntese de IFN- $\gamma$ , atividade citotóxica aumentada
Interleucina-13 (IL-13)	Células T CD4 <sup>+</sup> (T <sub>H</sub> 2), células NKT, células linfóides inatas do grupo 2, mastócitos	CD213a1 (IL-13R $\alpha$ 1) CD213a2 (IL-13R $\alpha$ 2) CD132 ( $\gamma$ c)	Células B: troca de isotipo de IgE Células epiteliais: produção de muco aumentada Fibroblastos: síntese aumentada de colágeno Macrófagos: ativação alternativa
Interleucina-15 (IL-15)	Macrófagos, outros tipos celulares	IL-15R $\alpha$ CD122 (IL-2R $\beta$ ) CD132 ( $\gamma$ c)	Células NK: proliferação Células T: sobrevivência e proliferação de células CD8 <sup>+</sup> de memória
Interleucina-16 (IL-16)	Células T, mastócitos, eosinófilos, células epiteliais	CD4	Células T CD4 <sup>+</sup> , monócitos e eosinófilos: quimioatraente
Interleucina-17A (IL-17A) Interleucina-17F (IL-17F)	Células T CD4 <sup>+</sup> (T <sub>H</sub> 17), células linfóides inatas do grupo 3	CD217 (IL-17RA) IL-17RC	Células endoteliais: produção aumentada de citocina Macrófagos: produção aumentada de quimioquina e citocina Células epiteliais: produção de GM-CSF e G-CSF
Interleucina-21 (IL-21)	Células T <sub>H</sub> 2, células T <sub>H</sub> 17, células T <sub>H</sub> 1	CD360 (IL-21R) CD132 ( $\gamma$ c)	Células B: ativação, proliferação, diferenciação Células T <sub>H</sub> 1: desenvolvimento Células T <sub>H</sub> 17: geração aumentada Células NK: maturação funcional
Interleucina-23 (IL-23): IL-23A (p19) IL-12B (p40)	Macrófagos, células dendríticas	IL-23R CD212 (IL-12R $\beta$ 1)	Células T: diferenciação e expansão de células T <sub>H</sub> 17
Interleucina-25 (IL-25; IL-17E)	Células T, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células epiteliais de mucosa	IL-17RB	Células T e vários outros tipos celulares: expressão de IL-4, IL-5, IL-13
Interleucina-27 (IL-27): IL-27 (p28) EBB (IL-27B)	Macrófagos, células dendríticas	IL-27R $\alpha$ CD130 (gp130)	Células T: inibição de células T <sub>H</sub> 1 Células NK: síntese de IFN- $\gamma$ ?
Interleucina-31 (IL-31)	Células T <sub>H</sub> 2	IL-31RA OSMR CD130 (gp130)	Não estabelecido
Fator de célula-tronco (ligante c-Kit)	Células estromais de medula óssea	CD117 (KIT)	Células-tronco hematopoéticas pluripotentes: maturação induzida de todas as linhagens hematopoéticas
CSF granulócito-monócito (GM-CSF)	Células T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos	CD116 (GM-CSFR $\alpha$ ) CD131 ( $\beta$ c)	Progenitores imaturos e comprometidos, macrófagos maduros: maturação induzida de granulócitos e monócitos, ativação de macrófagos
CSF de monócito (M-CSF, CSF1)	Macrófagos, células endoteliais, células da medula óssea, fibroblastos	CD115 (CSF1R)	Progenitores hematopoéticos comprometidos: maturação induzida de monócitos
CSF de granulócitos (G-CSF, CSF3)	Macrófagos, fibroblastos, células endoteliais	CD114 (CSF3R)	Progenitores hematopoéticos comprometidos: maturação induzida de granulócitos
<b>Membros da Família de Citocina Tipo II</b>			

Citocina e Subunidade	Principal Fonte Celular	Receptor da Citocina e Subunidades	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
IFN- $\alpha$ (proteínas múltiplas)	Células dendríticas plasmocitoides, macrófagos	IFNAR1 CD118 (IFNAR2)	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC de classe I Células NK: ativação
IFN- $\beta$	Fibroblastos, células dendríticas plasmocitoides	IFNAR1 CD118 (IFNAR2)	Todas as células: estado antiviral, expressão aumentada de MHC de classe I Células NK: ativação
Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )	Células T (células T <sub>H</sub> 1, CD8 <sup>+</sup> ), células NK	CD119 (IFNGR1) IFNGR2	Macrófagos: ativação clássica (funções microbicidas aumentadas) Células B: troca de isotipo para opsonizar e fixar subclasses de IgG (estabelecido em camundongos) Células T: diferenciação de T <sub>H</sub> 1 Várias células: expressão aumentada de moléculas de MHC de classe I e classe II, processamento e apresentação aumentados de antígeno para as células T
Interleucina-10 (IL-10)	Macrófagos, células T (principalmente células T regulatórias)	CD210 (IL-10R $\alpha$ ) IL-10R $\beta$	Macrófagos, células dendríticas: inibição da expressão de IL-12, coestimuladores e MHC de classe II
Interleucina-19 (IL-19)	Macrófagos	IL-20R $\alpha$ IL-10R $\beta$	Macrófagos: estimula secreção de IL-1 e TNF Queratinócitos: proliferação
Interleucina-22 (IL-22)	Células TH17	IL-22R $\alpha$ 1 IL-10R $\beta$ 2 ou IL-22 $\alpha$ 2 IL-10R $\beta$ 2	Células epiteliais: produção de defesas, função aumentada da barreira Hepatócitos: sobrevivência
Interleucina-26 (IL-26)	Células T, monócitos	IL-20R1 IL-10R2	Não estabelecido
Interferon- $\lambda$ s (interferon tipo III)	Células dendríticas	IFNLR1 (IL-28R $\alpha$ ) CD210B (IL-10R $\beta$ 2)	Células epiteliais: estado antiviral
Fator inibitório de leucemia (LIF)	Trofoectodermo embrionário Células estromais da medula óssea	CD118 (LIFR) CD130 (gp130)	Células-tronco: bloqueio na diferenciação
Oncostatina M	Células estromais da medula óssea	OSMR CD130 (gp130)	Células endoteliais: regulação da produção hematopoética de citocina Células cancerosas: inibição da proliferação
Citocinas da Superfamília TNF <sup>®</sup>			
Fator de necrose tumoral (TNF, TNFSF1)	Macrófagos, células NK, células T	CD120a (TNFRSF1) ou CD120b (TNFRSF2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Neutrófilos: ativação Hipotálamo: febre Músculo, gordura: catabolismo (caquexia)
Linfotossina- $\alpha$ (LT $\alpha$ , TNFSF1)	Células T, células B	CD120a (TNFRSF1) ou CD120b (TNFRSF2)	O mesmo do TNF
Linfotossina- $\alpha\beta$ (LT $\alpha\beta$ )	Células T, células NK, células B foliculares, células indutoras linfóides	LT $\beta$ R ou HVEM	Células estromais de tecido linfóide e células dendríticas foliculares: expressão de quimiocina e organogênese linfóide
BAFF (CD257, TNFSF13B)	Células dendríticas, monócitos, células dendríticas foliculares Células B	BAFF-R (TNFRSF13C) ou TACI (TNFRSF13B) ou BCMA (TNFRSF17)	Células B: sobrevivência, proliferação
APRIL (CD256, TNFSF13)	Células T, células dendríticas, monócitos, células dendríticas foliculares	TACI (TNFRSF13B) ou BCMA (TNFRSF17)	Células B: sobrevivência, proliferação
Osteoprotegrina (OPG, TNFRSF11B)	osteoblastos	RANKL	Células precursoras de osteoclastos: inibe a diferenciação de osteoclastos
Citocinas da Família IL-1			
Interleucina-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )	Macrófagos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, hepatócitos	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP ou CD121b (IL-1R2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre Fígado: síntese de proteínas de fase aguda
Interleucina-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )	Macrófagos, células dendríticas, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, hepatócitos	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP ou CD121b (IL-1R2)	Células endoteliais: ativação (inflamação, coagulação) Hipotálamo: febre Fígado: síntese de proteínas de fase aguda Células T: diferenciação de T <sub>H</sub> 17
Antagonista de receptor de interleucina-1 (IL-1Ra)	Macrófagos	CD121a (IL-1R1) IL-1RAP	Várias células: antagonismo competitivo de IL-1

Citocina e Subunidade	Principal Fonte Celular	Receptor da Citocina e Subunidades*	Principais Alvos Celulares e Efeitos Biológicos
Interleucina-18 (IL-18)	Monócitos, macrófagos, células dendríticas, células de Kupfer, queratinócitos, condrócitos, fibroblastos sinoviais, osteoblastos	CD218a (IL-18R $\alpha$ ) CD218b (IL-18R $\beta$ )	Células NK e células T: síntese de IFN- $\gamma$ Monócitos: expressão de GM-CSF, TNF, IL1 $\beta$ Neutrófilos: ativação, liberação de citocina
Interleucina-33 (IL-33)	Células endoteliais, células musculares lisas, queratinócitos, fibroblastos	ST2 (IL1RL1); proteína acessória de receptor (IL1RAP)	Células T: desenvolvimento de T <sub>H</sub> 2 ILCs: ativação de ILCs do grupo 2
Outras Citocinas			
Fator transformador de crescimento- $\beta$ (TGF- $\beta$ )	Células T (principalmente Tregs), macrófagos, outros tipos celulares	TGF- $\beta$ R1 TGF- $\beta$ R2 TGF- $\beta$ R3	Células T: inibição da proliferação e funções efetoras; diferenciação de T <sub>H</sub> 17 e Treg Células B: inibição da proliferação; produção de IgA Macrófagos: inibição da ativação; estimulação dos fatores angiogênicos Fibroblastos: síntese aumentada de colágeno

*APRIL*, ligante indutor de proliferação; *BAFF*, fator ativador de célula B pertencente à família do TNF; *BCMA*, proteína de maturação de célula B; *CSF*, fator estimulador de colônia; *HVEM*, mediador de entrada de HIV; *INF*, interferon; *MHC*, complexo maior de histocompatibilidade; célula *NK*, célula assassina natural; *OSMR*, receptor M de oncostatina; *RANK*, receptor ativador para ligante do fator nuclear  $\kappa$ B; *RANKL*, ligante RANK; *TACI*, ativador transmembranas e modulador de cálcio e interador do ligante de ciclofilina; *TNF*, fator de necrose tumoral; *TNFSF*, superfamília do TNF; *TNFRSF*, superfamília do receptor do TNF.

\* A maioria dos receptores de citocinas consiste em dímeros ou trímeros compostos de diferentes cadeias polipeptídicas, algumas das quais são compartilhadas entre os receptores para diferentes citocinas. O quadro de polipeptídios que compõem um receptor funcional (ligação da citocina mais sinalização) para cada citocina é listado. As funções de cada subunidade do polipeptídio não são listadas.

§ Todos os membros da superfamília do TNF (TNFSF) são expressos como proteínas transmembranas na superfície das células, mas somente os subgrupos que são predominantemente ativos como citocinas solúveis proteoliticamente liberadas são listados na tabela. Outros membros TNFSF que funcionam predominantemente na forma ligada à membrana – e não são, estritamente falando, citocinas – não são listados na tabela. Estas proteínas ligadas à membrana e os receptores TNFRSF que elas ligam incluem: OX40L (CD252, TNFSF4):OX40 (CD134, TNFRSF4); CD40L (CD154, TNFSF5):CD40 (TNFRSF5); FasL (CD178, TNFSF6):Fas (CD95, TNFRSF6); CD70 (TNFSF7):CD27 (TNFRSF27); CD153 (TNFSF8):CD30 (TNFRSF8); TRAIL (CD253, TNFSF10):TRAIL-R (TNFRSF10A-D); RANKL (TNFSF11):RANK (TNFRSF11); TWEAK (CD257, TNFSF12):TWEAKR (CD266, TNFRSF12); LIGHT (CD258, TNFSF14):HVEM (TNFRSF14); GITRL (TNFSF18):GITR (TNFRSF18); 4-IBBL:4-IBB (CD137).



---

## APÊNDICE III

### Principais características das moléculas de cd selecionadas

A lista a seguir inclui moléculas de CD selecionadas e que são mencionadas no texto. Muitas citocinas e receptores de citocinas foram designados com números CD, mas nos referimos a estes pela melhor designação descritiva da citocina. Uma listagem completa e atualizada das moléculas de CD pode ser encontrada no site <http://www.hcdm.org>.

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Funções Conhecidas ou Propostas
CD1a/d	49 kD; superfamília de Ig do tipo molécula de MHC de classe I associado à $\beta_2$ -microglobulina	Timócitos, células dendríticas (incluindo células de Langerhans)	Apresentação de antígenos não peptídicos (lípidio e glicolípido) a algumas células T
CD1e	28 kD; tipo molécula de MHC de classe I associado à $\beta_2$ -microglobulina	Células dendríticas	O mesmo de CD1a
CD2 (LFA-2)	50 kD; superfamília Ig	Células T, células NK	Molécula de adesão (ligase a CD58); ativação de célula T; lise mediada por célula CTL e NK
CD3 $\gamma$	25-28 kD; associado a CD3 $\delta$ e CD3 $\epsilon$ no complexo TCR; superfamília Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular de transdução de sinal pelo receptor de antígeno da célula T
CD3 $\delta$	20 kD; associado a CD3 $\gamma$ e CD3 $\epsilon$ no complexo TCR; superfamília Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular de transdução de sinal pelo receptor de antígeno da célula T
CD3 $\epsilon$	20 kD; associado a CD3 $\delta$ e CD3 $\gamma$ no complexo TCR; superfamília Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células T	Expressão na superfície celular de transdução de sinal pelo receptor de antígeno da célula T
CD4	55 kD; superfamília Ig	Células T com MHC de classe II restrita; alguns macrófagos	Coeceptor na ativação da célula T induzida por restrição de antígeno em MHC de classe II (ligase a moléculas de MHC de classe II); desenvolvimento do timócito; receptor para HIV
CD5	67 kD; família de receptor scavenger	Células T; subgrupo de célula B B-1	Molécula de sinalização; ligase a CD72
CD8 $\alpha$	34 kD; expresso como homodímero com CD8 $\beta$	Células T com MHC de classe I restrita; subgrupo de células dendríticas	Coeceptor na ativação da célula T induzida por restrição de antígeno em MHC de classe II (ligase a moléculas de MHC de classe II); desenvolvimento do timócito
CD8 $\beta$	Expresso como um heterodímero com CD8 $\alpha$ ; superfamília Ig	Células T com MHC de classe I restrita	O mesmo de CD8 $\alpha$
CD10	100 kD; proteína de membrana tipo II	Células B imaturas e algumas madaras; progenitores linfóides, granulócitos	Metalo proteinases; função desconhecida no sistema imune
CD11a (cadeia LFA-1 $\alpha$ )	180 kD; ligado não covalentemente a CD18 para formar integrina LFA-1	Leucócitos	Adesão célula-célula; ligase a ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) e ICAM-3 (CD50)
CD11b (Mac-1; CR3)	165 kD; ligado não covalentemente a CD18 para formar integrina Mac-1	Granulócitos, monócitos, macrófagos, células dendríticas, células NK	Fagocitose de partículas recobertas com C3b; adesão de neutrófilo e monócito ao endotélio (ligase a CD54) e proteínas da matriz extracelular
CD11c (p150,95; cadeia CD84 $\alpha$ )	145 kD; ligado não covalentemente a CD18 para formar integrina p150,95	Monócitos, macrófagos, granulócitos, células NK	Funções similares a CD11b
CD14	53 kD; ligado a GPI	Células dendríticas, monócitos, macrófagos, granulócitos	Ligase ao complexo LPS-proteína ligante de LPS e apresenta o LPS ao TLR4; necessário para a ativação de macrófago induzido por LPS
CD16a (Fc $\gamma$ RIIA)	50-70 kD; proteína transmembrana, superfamília Ig	Células NK, macrófagos	Ligase à região Fc da IgG; fagocitose e citotoxicidade celular dependente de anticorpo
CD16b (Fc $\gamma$ RIIB)	50-70 kD; ligado a GPI, superfamília Ig	Neutrófilos	Ligase à região Fc da IgG; sinergismo com Fc $\gamma$ RII na ativação de neutrófilo mediada por imunocomplexo
CD18	95 kD; ligado não covalentemente a CD11a, CD11b ou CD11c para formar integrinas $\beta_1$	Leucócitos	Ver CD11a, CD11b, CD11c
CD19	95 kD, superfamília Ig	Maioria das células B	Ativação da célula B; forma um complexo co-receptor com CD21 e CD81 que dispersa sinais que sinergizam com sinais do complexo do receptor de antígeno da célula B
CD20	35-37 kD, família tetraspan (TM4SF)	Células B	? Papel na ativação ou regulação da célula B; canal iônico de cálcio
CD21 (CR2; receptor C3d)	145 kD; reguladores da ativação do complemento	Células B maduras, células dendríticas folliculares	Receptor para fragmento C3d do complemento; forma um complexo co-receptor com CD19 e CD81 que dispersa sinais de ativação nas células B; receptor para vírus Epstein-Barr
CD22	130-140 kD; superfamília Ig; sialoadesinas na família ITIM na cauda citoplasmática	Células B	Regulação da ativação das células B; adesão de molécula
CD23 (Fc $\gamma$ RIIB)	45 kD; lectina tipo C	Células B ativadas; monócitos, macrófagos	Receptor FC de baixa afinidade, induzido por IL-4; funções não esclarecidas
CD25 (cadeia $\alpha$ de receptor de IL-2)	55 kD; associado não covalentemente a cadeias do IL-2R $\beta$ (CD122) e IL-2R $\gamma$ (CD132) para formar um receptor de IL-2 de alta afinidade	Células T e B ativadas, células T regulatórias (Treg)	Ligase a IL-2 e promove respostas a baixas concentrações de IL-2
CD28	Homodímero de cadeias de 44 kD; superfamília Ig	Células T (todas CD4 $^{+}$ e > 50% das células CD8 $^{+}$ em humanos; todas as células T maduras em camundongos)	Receptor de célula T para as moléculas coestimulatórias CD80 (B7-1 e CD86 (B7-2)
CD29	130 kD; ligado não covalentemente a cadeias de CD49 ad para formar integrinas VLA ( $\beta_1$ )	Células T, células B, monócitos, granulócitos	Adesão de leucócitos às proteínas da matriz extracelular e endotélio (ver CD49)

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD30 (TNFRSF8)	120 kD; superfamília TNFR	Células T e B ativadas; células NK, monócitos, células Reed-Stemberg na doença de Hodgkin	Não estabelecido
CD31 (plaqueta/molécula 1 de adesão endotelial, PECAM-1)	130-140 kD; superfamília Ig	Plaquetas, monócitos, granulócitos, células B, células endoteliais	Molécula de adesão envolvida na transmigração de leucócito através do endotélio
CD32 (FcγRII)	40 kD; superfamília Ig, ITIM na cauda citoplasmática; formas A, B e C são produtos de genes diferentes, mas homólogos	Células B, macrófagos, células dendríticas, granulócitos	Receptor Fc para IgG agregada; age como receptor inibitório que bloqueia sinais de ativação nas células B e outras células
CD34	105-120 kD; sialomucina	Precursoras das células hematopoiéticas; células endoteliais nas vértulas endoteliais altas	? Papel na adesão célula-célula
CD35 (receptor de complemento tipo 1, CR1)	190-285 kD (quatro produtos de alelos polimórficos); regulador da família de ativação do complemento	Granulócitos, monócitos, eritrócitos, células B, células dendríticas foliculares, algumas células T	Ligase a C3b e C4b; promove a fagocitose de partículas e imunocomplexos recobertos com C3b ou C4b; regula a ativação do complemento
CD36	85-90 kD	Plaquetas, monócitos, macrófagos, células endoteliais	Receptor scavenger para lipoproteína oxidada de baixa densidade; adesão de plaqueta; fagocitose de células apoptóticas
CD40	Homodímero das cadeias 44 e 48 kD; superfamília TNFR	Células B, macrófagos, células dendríticas, células endoteliais	Ligase a CD154 (ligante CD40); papel na ativação de células B, macrófagos e células dendríticas mediada por célula T
CD43	95-135 kD, sialomucina	Leucócitos (exceto células B circulantes)	? Papel na adesão célula-célula
CD44	80 > 100 kD, altamente glicosilada	Leucócitos, eritrócitos	Ligase a hialuronan; envolvido na adesão de leucócito às células endoteliais e matriz extracelular
CD45 (antígeno comum de leucócito [LCA])	Múltiplas isoformas, 180-220 kD (ver CD45R); família do receptor da proteína tirosinofosfatase; família de fibronectina tipo III	Células hematopoiéticas	Tirosinofosfatase que regula ativação de células T e B
CD45R	CD45RO: 180 kD CD45RA: 220 kD CD45RB: 190, 205 e isoformas 220 kD	CD45RO: células de memória, subgrupo de células B, monócitos, macrófagos CD45RA: células T inativas, células B, monócitos CD45RB: células B, subgrupo de células T	Ver CD45
CD46 (cofator proteico de membrana [MCP])	52-58 kD; reguladores da família de ativação do complemento	Leucócitos, células epiteliais, fibroblastos	Regulação da ativação do complemento
CD47	47-52 kD; superfamília Ig	Todas as células hematopoiéticas, células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos	Adesão de leucócito, migração, ativação; sinal de "não me coma" aos fagócitos
CD49d	150 kD; ligado não covalentemente a CD29 para formar VLA-4 (integrina α <sub>4</sub> β <sub>1</sub> )	Células T, monócitos, células B, células NK, eosinófilos, células dendríticas, tímócitos	Adesão de leucócito ao endotélio e matriz extracelular; ligase a VCAM-1 e MadCAM-1; ligase a fibronectina e colágenos
CD54 (ICAM-1)	75-114 kD; superfamília Ig	Células T, células B, monócitos, células endoteliais (citocina induzível)	Adesão célula-célula; ligante para CD11a/CD18 (LFA-1) e CD11b/CD18 (Mac-1); receptor para rinovírus
CD55 (fator de aceleração de decaimento [DAF])	55-70 kD; ligado a GPI; reguladores da família de ativação do complemento	Ampla	Regulação da ativação do complemento
CD58 (antígeno 3 associado à função de leucócito [LFA-3])	55-70 kD; ligado a GPI ou proteína integral de membrana	Ampla	Adesão de leucócito, ligase a CD2
CD59	18-20 kD; ligado a GPI	Ampla	Ligase a C9; inibe a formação do complexo de ataque à membrana
CD62E (E-selectina)	1150 kD; família da selectina	Células endoteliais	Adesão leucócito-endotélio
CD62L (L-selectina)	74-95 kD; família da selectina	Células B, células T, monócitos, granulócitos, algumas células NK	Adesão leucócito-endotélio; chegada de células T inativas aos linfonodos periféricos
CD62P (P-selectina)	140 kD; família da selectina	Plaquetas, células endoteliais (presentes nos grânulos, translocadas para a superfície da célula durante a ativação)	Adesão de leucócitos ao endotélio, plaquetas; ligase a CD162 (PSGL-1)
CD64 (FcγRI)	72 kD; superfamília Ig; associado não covalentemente à cadeia comum de FcR γ	Monócitos, macrófagos, neutrófilos ativados	Receptor Fcγ de alta afinidade; papel na fagocitose, ADCC, ativação de macrófago

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(s) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD66 (antígeno carcinoembrionário [CEA])	180-220 kD; superfamília Ig; família do antígeno carcinoembrionário (CEA)	Colórico e outras células epiteliais	? Adesão; marcador clínico do carcinoma
CD69	23 kD; lectina tipo C	Células B ativadas, células T, células NK, neutrófilos	Ligase e prejudica expressão de S1PR1 de superfície, promovendo, assim, a retenção de linfócitos recentemente ativados nos tecidos linfoides
CD74 (cadeia invariante de MHC de classe II [I])	Isôformas 33, 35 e 41 kD	Células B, células dendríticas, monócitos, macrófagos; outras células expressando MHC de classe II	Ligase e direciona moléculas de MHC de classe II recentemente sintetizadas
CD79a (Iga)	33, 45 kD; forma dímeros com CD79b; superfamília Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células B maduras	Necessário para a expressão na superfície células e transdução de sinal pelo complexo do receptor de antígeno na célula B
CD79b (Igb)	37-39 kD; forma dímeros com CD79a; superfamília Ig; ITAM na cauda citoplasmática	Células B maduras	Necessário para a expressão na superfície células e transdução de sinal pelo complexo do receptor de antígeno na célula B
CD80 (B7-1)	60 kD; superfamília Ig	Células dendríticas, células B ativadas e macrófagos	Coestimulador para ativação de linfócito T; ligante para CD28 e CD152 (CTLA-4)
CD81 (alvo para antígeno 1 antiproliferativo [TAPA-1])	26 kD; tetraspan (TM4SF)	Células T, células B, células NK, células dendríticas, tímocitos, células endoteliais	Ativação da célula B; forma um complexo coreceptor com CD19 e CD21 que dispara sinais que sinergizam com sinais do complexo do receptor de antígeno da célula B
CD86 (B7-2)	80 kD; superfamília Ig	Células B, monócitos, células dendríticas, algumas células T	Coestimulador para ativação de linfócito T; ligante para CD28 e CD152 (CTLA-4)
CD88 (receptor C5a)	43 kD; família de receptor de 7 domínios transmembranas, acoplado à proteína G	Granulócitos, monócitos, células dendríticas, mastócitos	Receptor para fragmento C5a do complemento; papel na inflamação induzida pelo complemento
CD89 (receptor Fca [FcR])	55-75 kD; superfamília Ig; associado não covalentemente à cadeia comum FcR $\gamma$	Granulócitos, monócitos, macrófagos, subgrupo de célula T, subgrupo de célula B	Ligase à IgA; media citotoxicidade celular dependente de IgA
CD90 (Thy-1)	25-35 kD; ligado a GPI; superfamília Ig	Tímocitos, células T periféricas (camundongos), células progenitoras hematopoiéticas CD34 <sup>+</sup> , neurônios	Marcador para células T; função desconhecida
CD94	43 kD; lectina tipo C; nas células NK, ligase covalentemente a outras moléculas de lectina tipo C (NKG2)	Células NK; subgrupo de células T CD8 <sup>+</sup>	Complexo CD94/NKG2 funciona como um receptor inibitório da célula NK; ligase a moléculas de MHC de classe I HLA-E
CD95 (Fas)	Homotrîmero de cadeias de 45 kD; superfamília TNFR	Ampla	Ligase a ligante Fas; dispara sinais levando à morte apoptótica
CD102 (ICAM-2)	55-65 kD; superfamília Ig	Células endoteliais, linfócitos, monócitos, plaquetas	Ligante para CD11 a CD18 (LFA-1); adesão célula-célula
CD103 (subunidade $\alpha_4$ da integrina)	Dímero de subunidades de 150 e 25 kD; ligado não covalentemente à subunidade $\beta_1$ da integrina para formar a integrina $\alpha_4\beta_1$	Linfócitos intraepiteliais, outros tipos celulares	Papel na chegada de célula T e retenção na mucosa; ligase à cadherina
CD106 (molécula 1 de adesão celular vascular [VCAM-1])	100-110 kD; superfamília Ig	Células endoteliais, macrófagos, células dendríticas foliculares, células estromais da medula	Adesão das células ao endotélio; receptor para integrina CD49/CD29 (VLA-4); papel no trânsito de linfócitos, ativação
CD134 (OX40, TNFRSF4)	29 kD; superfamília TNFR	Células T ativadas	Receptor para célula T CD252; coestimulação da célula T
CD150 (molécula de sinalização da ativação do linfócito [SLAM])	37 kD; superfamília Ig	Tímocitos, linfócitos ativados, células dendríticas, células endoteliais	Regulação das interações célula B-célula T e ativação do linfócito
CD152 (proteína 4 associada a linfócito T citotóxico [CTLA-4])	33, 50 kD; superfamília Ig	Linfócitos T ativados, células T regulatórias	Medeia função supressora das células T regulatórias; inibe as respostas da célula T; ligase a CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) nas células apresentadoras de antígeno
CD154 (ligante CD40 [CD40L])	Homotrîmero de cadeias de 32 a 39 kD; superfamília de TNFR	Células T CD4 <sup>+</sup> ativadas	Ativação de células B, macrófagos e células endoteliais; ligante para CD40
CD158 (receptor de morte do tipo Ig [KIR])	50, 58 kD; superfamília Ig; família de receptor de morte do tipo Ig (KIR); ITIMs ou ITAMs na cauda citoplasmática	Células NK, subgrupo de célula T	Inibição ou ativação de células NK na interação com moléculas apropriadas de HLA de classe I
CD159a (NKG2A)	43 kD; lectina tipo C; forma heterodímero com CD94	Células NK, subgrupo de célula T	Inibição ou ativação de células NK na interação com moléculas de HLA de classe I
CD159c (NKG2C)	40 kD; lectina tipo C; forma heterodímero com CD94	Células NK	Ativação de células NK na interação com as moléculas apropriadas de HLA de classe I

Número CD (Outros Nomes)	Estrutura Molecular, Família	Principal Expressão Celular	Função(ões) Conhecida(s) ou Proposta(s)
CD162 (ligante 1 de glicoproteína P-selectina [PSGL-1])	Homodímero de cadeias de 120 kD; sialomucina	Células T, monócitos, granulócitos, algumas células B	Ligante para selectinas (CD262P, CD62L); adesão de leucócitos ao endotélio
CD178 (ligante Fas [FasL])	Homotrímero de subunidades de 31 kD; superfamília TNF	Células T ativadas	Ligante para CD95 (Fas); dispara morte apoptótica
CD206 (receptor manose)	166 kD; lectina tipo C	Macrófagos	Liga-se a glicoproteínas contendo manose nos patógenos; media endocitose de glicoproteínas pelos macrófagos e fagocitose de bactérias, fungos e outros patógenos
CD244 (2B4)	41 kD; superfamília Ig; família de CD2/CD48/CD58; família SLAM	Células NK, células T CD8, células T $\gamma\delta$	Receptor para CD148; modula atividade citotóxica de célula NK
CD247 (cadeia TCR $\zeta$ )	18 kD; ITAMs na cauda citoplasmática	Células T; células NK	Sinalização da cadeia de receptores de ativação de TCR e célula NK
CD252 (ligante OX40)	21 kD; superfamília TNF	Células dendríticas, macrófagos, células B	Ligante para CD134 (OX40, TNFRSF4); coestimula células T
CD267 (TACI)	31 kD; superfamília TNF	Células B	Receptor para citocinas BAFF e APRIL; media sobrevivência de célula B
CD268 (receptor BAFF)	19 kD; superfamília TNF	Células B	Receptor para BAFF; media sobrevivência de célula B
CD269 (BCMA [antígeno de maturação da célula B])	20 kD; superfamília TNF	Células B	Receptor para citocinas BAFF e APRIL; media sobrevivência de célula B
CD273 (PD-L2)	25 kD; superfamília Ig; estruturalmente homóloga ao B7	Células dendríticas, monócitos, macrófagos	Ligante para PD-1; inibe ativação da célula T
CD274 (PD-L1)	33 kD; superfamília Ig; estruturalmente homóloga ao B7	Leucócitos, outras células	Ligante para PD-1; inibe ativação da célula T
CD275 (ligante ICOS)	60 kD; superfamília Ig; estruturalmente homóloga ao B7	Células B, células dendríticas, monócitos	Liga-se a ICOS-L (CD278); coestimulação de célula T
CD278 (ICOS [coestimulador induzível])	55-60 kD; superfamília Ig; estruturalmente homóloga a CD28	Células T ativadas	Liga-se a ICOS-L (CD275); coestimulação de célula T
CD279 (PD1)	55 kD; superfamília Ig; estruturalmente homóloga a CD28	Células T e B ativadas	Liga-se a PD-L1 e PD-L2; inibe ativação de célula T
CD314 (NKG2D)	42 kD; lectina tipo C	Células NK, células T CD8 <sup>+</sup> ativadas, células T NK, algumas células mielóides	Liga-se a moléculas de MHC de classe I e moléculas MIC-A, MIC-B, Rae1 e ULBP4 do tipo classe I; papel na ativação da célula NK e CTL
CD357 (GITR)	26 kD; superfamília TNFR	Células T CD4 <sup>+</sup> e CD8 <sup>+</sup> , Treg	? Papel na tolerância da célula T/função de Treg
CD363 (S1PR1 [receptor 1 de esfingosina tipo 1-fosfato-1])	42,8 kD; família de receptor de 7 domínios transmembranas, acoplado a proteína G	Linfócitos células endoteliais	Liga-se a esfingosina 1-fosfato e media quimiotaxia de linfócitos para fora dos órgãos linfóides

*ADCC*, citotoxicidade mediada por célula e dependente de anticorpo; *APRIL*, um ligante indutor de proliferação; *BAFF*, fator ativador de célula B pertencente à família TNF; *CTL*, linfócito T citotóxico; *gp*, glicoproteína; *GPI*, glicofosfatidilinositol; *ICAM*, molécula de adesão intercelular; *Ig*, imunoglobulina; *IL*, interleucina; *ITAM*, motivo de ativação baseado em imunorreceptor de tirosina; *ITIM*, motivo de inibição baseado em imunorreceptor de tirosina; *LFA*, antígeno associado à função de linfócito; *LPS*, lipopolissacarídeo; *MadCAM*, molécula de adesão celular de adressina de mucosa; *MHC*, complexo maior de histocompatibilidade; células *NK*, células assassinas naturais; *PAMPs*, padrões moleculares associados a patógenos; *TACI*, interador CAML e ativador transmembrana; *TCR*, receptor de célula T; *TNF*, fator de necrose tumoral; *TNFR*, receptor de TNF; *VCAM*, molécula de adesão celular vascular; *VLA*, ativação tardia.

\*As letras afixadas a alguns números CD referem-se às moléculas CD que estão codificadas por múltiplos genes ou que pertencem a famílias de proteínas estruturalmente relacionadas.





---

## APÊNDICE IV

### Técnicas laboratoriais comumente utilizadas em imunologia

#### MÉTODOS LABORATORIAIS UTILIZANDO ANTICORPOS, 503

Quantificação de Antígeno por Imunoensaios, 503

Identificação e Purificação de Proteínas, 505

Imunoprecipitação e Cromatografia por Imunoafinidade, 505

*Western blotting*, 506

Marcação e Detecção de Antígenos em Células e Tecidos, 506

Citometria de Fluxo e Separação de Células Ativadas por Fluorescência, 506

Purificação de Células, 509

Imunofluorescência e Imuno-Histoquímica, 509

Medida de Interações Antígeno-Anticorpo, 509

#### CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS E ALVO EM GENE, 510

#### MÉTODOS PARA O ESTUDO DAS RESPOSTAS DE LINFÓCITOS T, 513

Ativação Policlonal de Células T, 513

Ativação Induzida por Antígeno de Populações Policlonais de Célula T, 514

Ativação Induzida por Antígeno de Populações de Células T com Especificidade Antigênica Simples, 514

Métodos para Enumeração e Estudo de Respostas Funcionais de Células T, 514

#### MÉTODOS PARA O ESTUDO DAS RESPOSTAS DE LINFÓCITOS B, 515

Ativação de Populações de Células B Policlonais, 515

Ativação Antígeno-Anticorpo de Populações de Células B com Especificidade Antigênica Simples, 515

Métodos para Medidas da Proliferação das Células B e Produção de Anticorpo, 515

Muitas técnicas laboratoriais rotineiras em pesquisas e quadros clínicos se baseiam no uso de anticorpos. Além disso, várias técnicas da biologia molecular moderna têm fornecido valiosas informações sobre o sistema imune. Frequentemente mencionamos essas técnicas ao longo deste livro. Neste apêndice, descreveremos os princípios de alguns dos métodos laboratoriais mais comumente utilizados em Imunologia. Resumiremos também como as respostas de linfócitos B e T são estudadas com o uso de técnicas laboratoriais. Detalhes de como vários ensaios são realizados podem ser encontrados nos manuais de laboratório.

### Métodos laboratoriais utilizando anticorpos

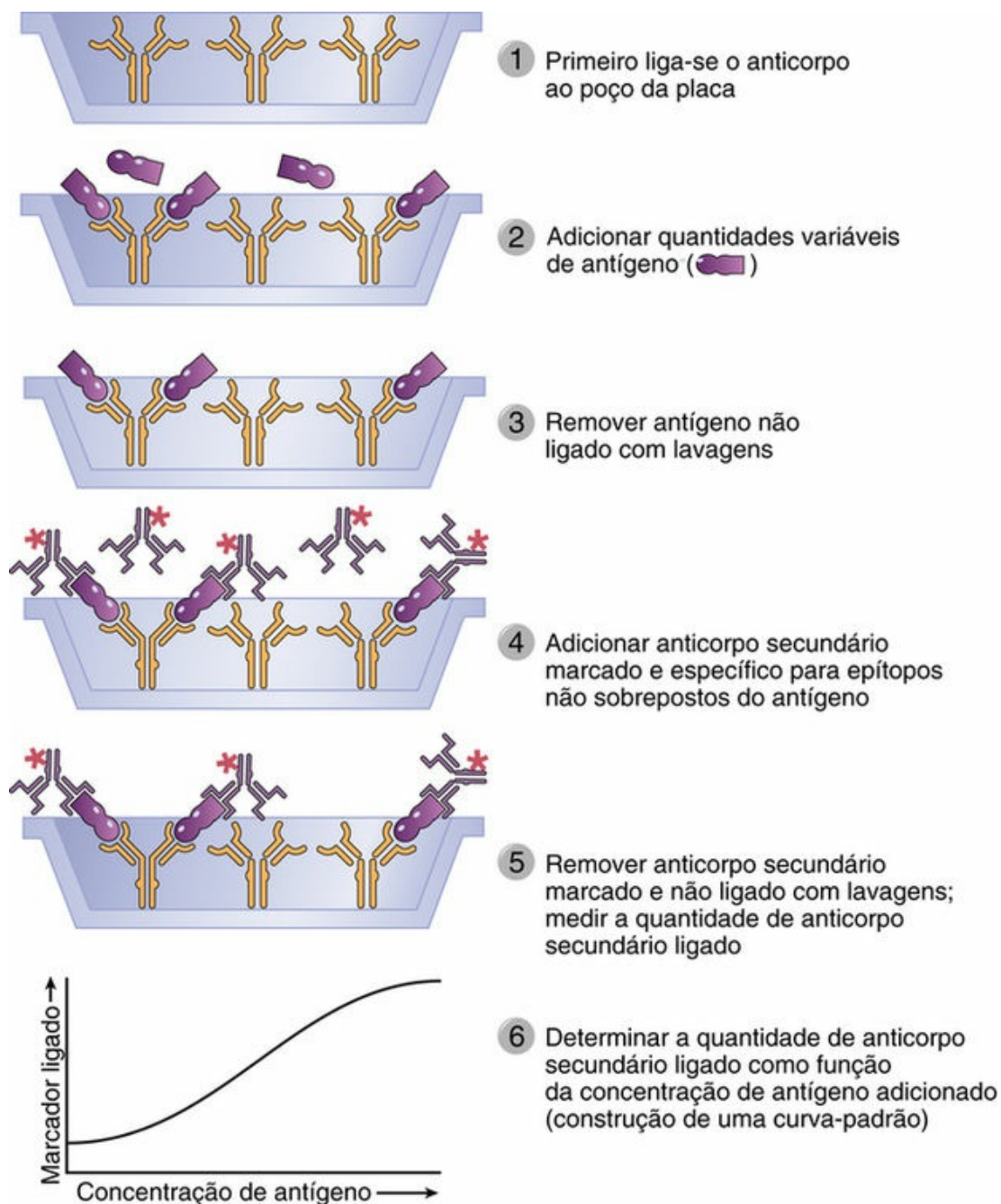
A requintada especificidade dos anticorpos para antígenos particulares torna os

anticorpos valiosos reagentes para a detecção, purificação e quantificação dos antígenos. Pelo fato de os anticorpos poderem ser produzidos contra virtualmente qualquer tipo de macromoléculas e pequenas moléculas químicas, as técnicas baseadas em anticorpos podem ser usadas para estudar virtualmente qualquer tipo de molécula em solução ou nas células. O método para a produção de anticorpos monoclonais (Cap. 5) aumentou significativamente nossa habilidade em gerar anticorpos de quase qualquer especificidade desejada. Historicamente, muitos dos usos dos anticorpos dependiam da habilidade do anticorpo e da especificidade do antígeno em formar grandes imunocomplexos, ou em solução ou em géis, que pudessem ser detectados por vários métodos óticos. Estes métodos foram de grande importância nos estudos iniciais, mas atualmente foram substituídos quase que completamente por métodos mais simples baseados em anticorpos ou antígenos imobilizados.

## Quantificação de Antígeno por Imunoensaios

Métodos imunológicos de quantificação da concentração de antígeno fornecem sensibilidade e especificidade extraordinárias e se tornaram técnicas-padrão para ambas as pesquisas e aplicações clínicas. Todos os métodos imunoquímicos de quantificação são baseados em ter um antígeno ou anticorpo puro cujas quantidades podem ser medidas por uma molécula indicadora (ou um marcador). Quando o antígeno ou anticorpo é marcado com um radioisótopo, como primeiramente introduzido por Rosalyn Yalow *et al.*, ele pode ser quantificado por instrumentos que detectam os eventos de decaimento radioativo; o ensaio é denominado **radioimunoensaio (RIA, do inglês *radioimmunoassay*)**. Quando o antígeno ou anticorpo é acoplado covalentemente a uma enzima, ele pode ser quantificado pela determinação, com um espectrofotômetro, da taxa na qual a enzima converte um substrato límpido em um produto colorido; o ensaio é denominado **ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent*)**. Existem várias variações no RIA e no ELISA, porém a versão mais comumente utilizada é o ensaio em sanduíche (Fig. A-1). Este ensaio usa dois anticorpos diferentes reativos com diferentes epítopos em um antígeno cuja concentração necessita ser determinada. Uma quantidade fixa de um anticorpo é ligada a uma série de réplicas em suporte sólido, tais como placas plásticas de micropoços. As soluções de teste contendo o antígeno em concentração desconhecida ou uma série de soluções-padrão com concentrações conhecidas do anticorpo são adicionadas aos poços e deixadas aderir. O antígeno não ligado é removido por lavagem, e um anticorpo secundário, que é uma enzima ligada ou radiomarcada, é adicionado também para aderir. O antígeno serve como uma ponte, de tal forma que quanto mais antígeno houver em solução ou nas soluções-padrão, mais enzima ligada ou anticorpo secundário radiomarcado irá se ligar. Os resultados

das soluções-padrão são utilizados para construir uma curva de ligação para o anticorpo secundário como uma função da concentração do antígeno, da qual as quantidades de antígeno nas soluções em teste podem ser inferidas. Quando este teste é realizado com dois anticorpos monoclonais, é essencial que esses anticorpos não se sobreponham aos determinantes no antígeno; de outra forma, o anticorpo secundário não poderá se ligar.



**FIGURA A-1** Ensaio do sanduíche imunossorvente ligado à enzima ou radioimunoensaio.

Uma quantidade fixa de um anticorpo imobilizado é utilizada para capturar o antígeno. A ligação de um segundo anticorpo marcado que reconhece um determinante sobreposto no antígeno aumentará à medida que a concentração do antígeno aumenta se eleva e, então, permite a quantificação do antígeno.

Em uma importante variação clínica dos ensaios de imunoligação, amostras de pacientes podem ser detectadas para a presença de anticorpos que são específicos

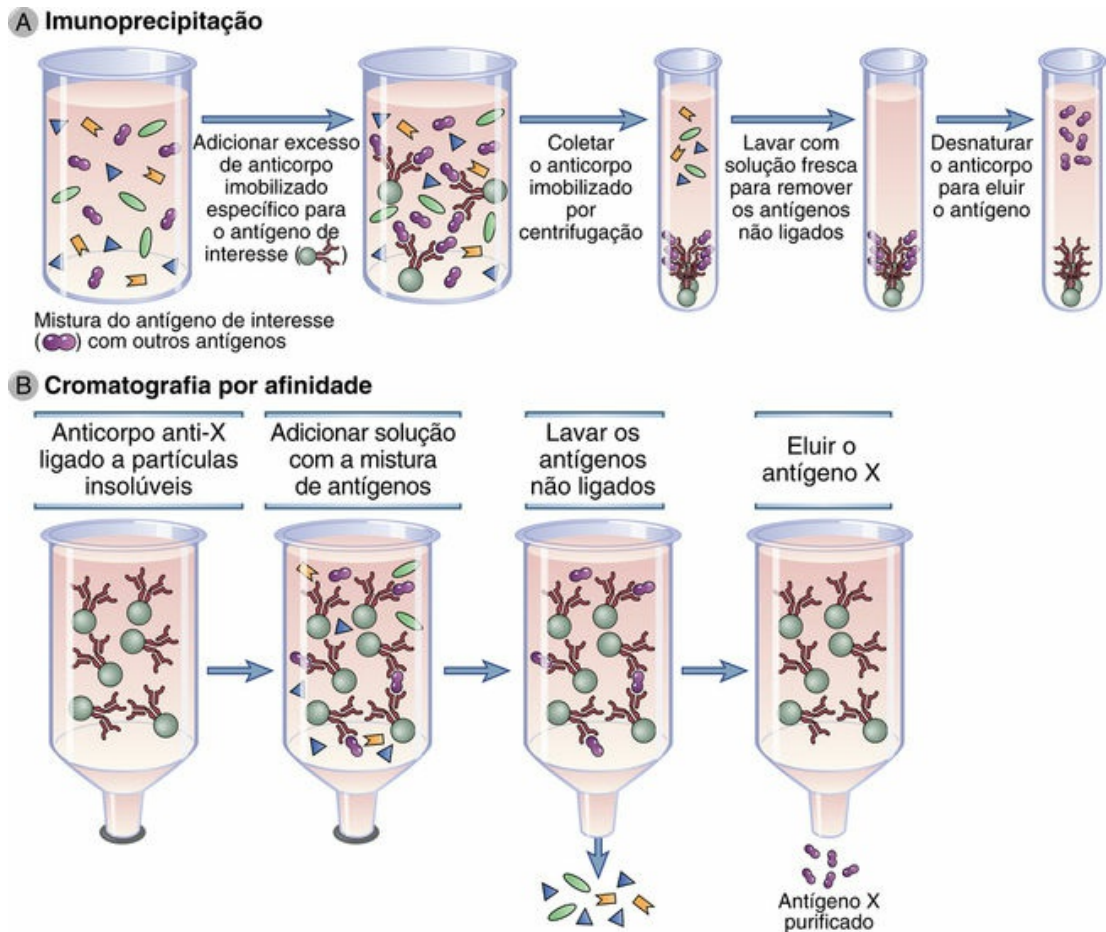
para o antígeno microbiano (p. ex., anticorpos reativos com proteínas do vírus da imunodeficiência humana [HIV] ou vírus da hepatite B) como indicadores da infecção. Nestes casos, uma quantidade saturante de antígeno é adicionada para poços replicados e contendo anticorpo ligado, ou o antígeno é adicionado diretamente na placa, e diluições seriadas do soro do paciente são então adicionadas. A quantidade de anticorpo do paciente que se liga ao antígeno imobilizado é determinada pelo uso de um anticorpo anti-imunoglobulina (Ig) humana ligado à enzima ou radiomarcado.

## Identificação e Purificação de Proteínas

Anticorpos podem ser usados para identificar e caracterizar proteínas e para purificar proteínas específicas em misturas. Dois métodos comumente utilizados para identificar e purificar proteínas são a imunoprecipitação e a cromatografia por imunoafinidade. O *Western blotting* é uma técnica amplamente utilizada para determinar a presença e o tamanho de uma proteína em uma amostra biológica.

## Imunoprecipitação e Cromatografia por Imunoafinidade

A imunoprecipitação é uma técnica na qual um anticorpo específico para um antígeno proteico em uma mistura de proteínas é usado para identificar este antígeno específico (Fig. A-2, A). O anticorpo é tipicamente adicionado à mistura de proteína (normalmente um lisado detergente de células específicas), e uma proteína A estafilocócica (ou proteína G) covalentemente ligada a partículas de agarose é adicionada na mistura. As porções Fab do anticorpo se ligam às proteínas-alvo, e a porção Fc do anticorpo é capturada pela proteína A ou proteína G nas partículas. Proteínas indesejadas que não se ligam ao anticorpo são, então, removidas com lavagens das partículas (por adição repetitiva de detergente e centrifugação). A proteína específica que é reconhecida e agora ligada ao anticorpo pode ser eluída das partículas e dissociada do anticorpo com o uso de uma solução desnaturante (p. ex., sódio dodecil sulfato) e as proteínas são separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida-sódio dodecil sulfato (SDS-PAGE). As proteínas podem ser detectadas após a eletroforese com coloração do gel de poliacrilamida com um corante de proteína ou com análise do *Western blot* (descrito mais adiante). Se a mistura original contiver proteínas marcadas radioativamente, as proteínas específicas imunoprecipitadas pelo anticorpo podem ser reveladas por autofluorografia ou autorradiografia, com as bandas proteicas sendo capturadas em um filme de raios X colocado no gel SDS-poliacrilamida seco e contendo as proteínas separadas.



**FIGURA A-2** Isolamento de um antígeno por imunoprecipitação ou cromatografia por afinidade.

**A**, Um antígeno particular pode ser purificado a partir de uma mistura de antígenos no soro ou em outras soluções através da adição de anticorpos específicos para o antígeno que estão ligados a partículas insolúveis. Os antígenos não ligados são lavados e o antígeno desejado é recuperado por alteração no pH ou força iônica da solução, de tal forma que a afinidade da ligação antígeno-anticorpo é reduzida. A imunoprecipitação pode ser usada como meio de purificação, como meio de quantificação ou como meio de identificação de um antígeno. Antígenos purificados por imunoprecipitação frequentemente são analisados por eletroforese em gel de sódio dodecil sulfato-poliacrilamida. **B**, Cromatografia por afinidade é baseada no mesmo princípio da imunoprecipitação, exceto que o anticorpo é fixado a uma matriz ou partículas insolúveis, normalmente uma coluna. O método frequentemente é usado para isolar antígenos solúveis (mostrado) ou anticorpos específicos para um antígeno imobilizado.

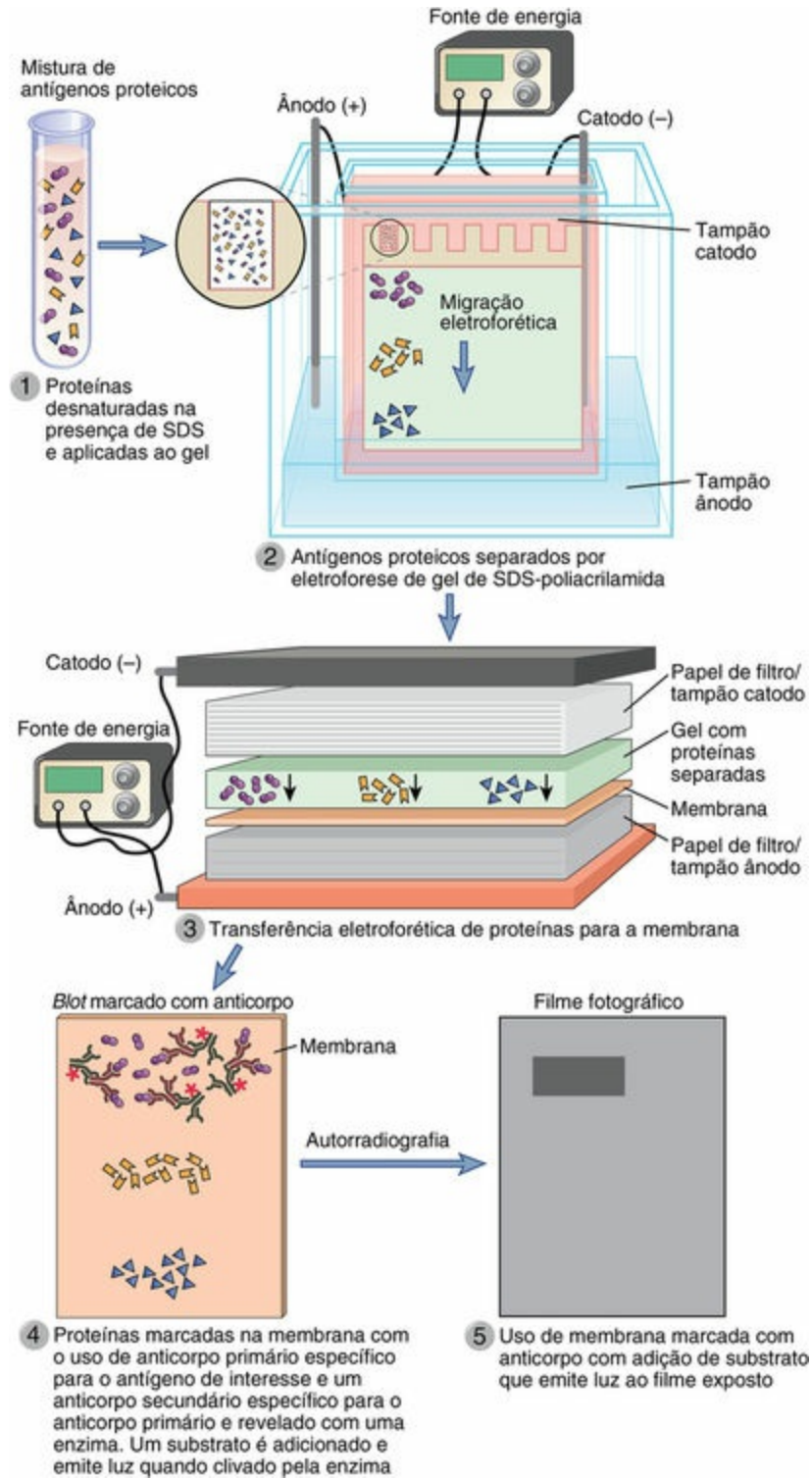


A cromatografia por imunoafinidade, uma variante da cromatografia por afinidade, é um método de purificação que se baseia nos anticorpos ligados a um suporte insolúvel para purificar antígenos a partir da solução (Fig. A-2, B). Anticorpos específicos para um antígeno desejado são tipicamente ligados covalentemente a um suporte sólido, tais como partículas de agarose, e empacotados dentro de uma coluna. Uma complexa mistura de antígenos é passada através das partículas para permitir que o antígeno que é reconhecido pelo anticorpo possa se ligar. Moléculas não ligadas são lavadas, e o antígeno ligado é eluído com a troca do pH ou pela exposição de muito sal ou outras condições caotróficas que quebram as interações antígeno-anticorpo. Um método similar pode ser usado para purificar anticorpos de sobrenadantes de culturas ou fluidos naturais, tais como soro, primeiramente com ligação do antígeno às partículas e passagem dos sobrenadantes ou soro.

## **Western blotting**

O *Western blotting* (Fig. A-3) é usado para identificar e determinar a quantidade relativa e o peso molecular de uma proteína dentro de uma mistura de proteínas ou outras moléculas. A mistura é primeiramente submetida à separação analítica, tipicamente por SDS-PAGE, de tal forma que as posições finais de diferentes proteínas no gel ocorrem em função de seus tamanhos moleculares. A matriz de proteínas separadas é, então, transferida do gel de separação de poliacrilamida para um suporte de membrana por eletroforese, de maneira que a membrana adquire uma réplica do padrão das macromoléculas separadas e presentes no gel. O SDS é deslocado da proteína durante o processo de transferência, e os determinantes antigênicos nativos são frequentemente recuperados como dobras das proteínas. A posição do antígeno proteico na membrana pode, então, ser detectada com a ligação de um anticorpo não marcado específico para aquela proteína (o anticorpo primário) seguido por um anticorpo secundário marcado e que se liga ao anticorpo primário. Este procedimento fornece informações sobre o tamanho do antígeno e sua quantidade. Em geral, os marcadores dos anticorpos secundários são marcados com enzimas que geram sinais de quimioluminescência e deixam imagens em filme fotográfico. Fluoróforos de infravermelho também podem ser usados para marcar os anticorpos, e a luz produzida pela excitação do fluoróforo fornece uma quantificação do anticorpo mais apurada quando comparado com anticorpos secundários ligados à enzima. A sensibilidade e especificidade desta técnica podem ser aumentadas com uso de proteínas imunoprecipitadas em vez de misturas de proteínas brutas. Este procedimento sequencial é especialmente útil para a detecção de interações proteína-proteína. Por exemplo, a associação física de duas proteínas diferentes na membrana de um linfócito pode ser estabelecida pela imunoprecipitação de um extrato de membrana com uso de um anticorpo específico para uma das proteínas e marcação do *Western blot* do imunoprecipitado utilizando um anticorpo específico

para a proteína secundária que pode ser coimunoprecipitada juntamente à primeira proteína.



**FIGURA A-3** Caracterização de antígenos por *Western blotting*.

Antígenos de proteínas, separados por eletroforese em gel de

sódio dodecil sulfato (SDS)-poliacrilamina e transferidos para uma membrana, podem ser detectados por um anticorpo que é revelado por um anticorpo secundário que pode estar conjugado a uma enzima, como a *horseradish* peroxidase, ou a um fluoróforo.

A técnica de transferência das proteínas do gel para a membrana é chamada de *Western blotting* como uma brincadeira do bioquímico. *Southern* é o último nome do cientista que primeiro fez um *blot* de DNA separando um gel para uma membrana por transferência capilar, uma técnica desde então denominada como *Southern blotting*. Por analogia, o *Nothern blotting* foi o termo aplicado à técnica de transferência de RNA de um gel para uma membrana e *Western blotting* é o termo utilizado para descrever a transferência de proteínas para a membrana.

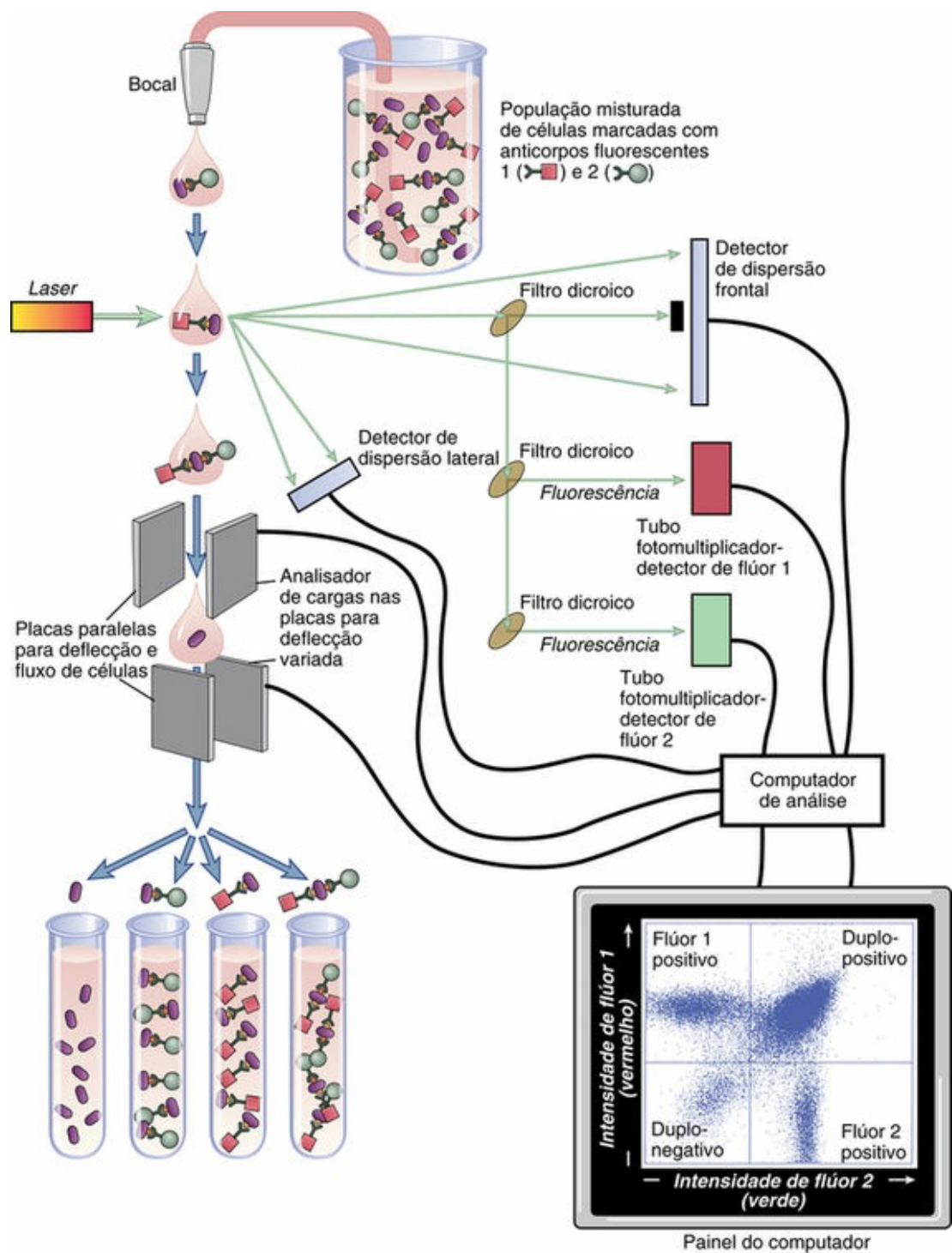
## Marcação e Detecção de Antígenos em Células e Tecidos

Anticorpos específicos para antígenos expressos em tipos celulares particulares são comumente utilizados para identificar essas células em tecidos ou suspensões celulares e para separar estas células de populações misturadas. Nestes métodos, o anticorpo pode ser marcado com radioatividade, ligado à enzima ou, mais comumente, marcado com fluorescência e um sistema de detecção é usado para identificar o anticorpo ligado. Anticorpos ligados a partículas magnéticas podem ser utilizados para isolar fisicamente células que expressam antígenos específicos.

## Citometria de Fluxo e Separação de Células Ativadas por Fluorescência

A linhagem tecidual, o estado de maturação ou o estado de ativação de uma célula frequentemente podem ser determinados pela análise da superfície celular ou expressão intracelular de diferentes moléculas. Esta técnica é comumente usada para coloração da célula com marcadores fluorescentes que são específicos para aquelas moléculas e medida da quantidade de fluorescência emitida pela célula (Fig. A-4). O citômetro de fluxo é um instrumento especializado que pode detectar a fluorescência de células individuais em uma suspensão e, assim, determinar o número de células que expressam a molécula à qual o marcador fluorescente se liga. Suspensões de células são incubadas com marcadores fluorescentes, e a quantidade de marcador ligado a cada célula na população é medida com a passagem das células individuais através do fluorímetro com um feixe incidente de *laser*. As quantidades relativas de uma molécula em particular em diferentes populações de células podem ser comparadas com coloração de cada população

com o mesmo marcador e determinação da quantidade de fluorescência emitida. Na preparação para a análise por citometria de fluxo, as suspensões celulares são coradas com os marcadores fluorescentes de escolha. Mais frequentemente, esses marcadores são anticorpos marcados com fluorocromo específicos para uma molécula da superfície celular. Alternativamente, as moléculas citoplasmáticas podem ser coradas em células temporariamente permeabilizadas, permitindo que os anticorpos marcados entrem através da membrana plasmática. Em adição aos anticorpos, vários indicadores fluorescentes das concentrações citoplasmáticas de íons e potencial de redução-oxidação podem ser detectados por citometria de fluxo. Estudos de ciclo celular podem ser realizados por análise da citometria de fluxo em células coradas com marcadores fluorescentes ligantes do DNA, tais como iodeto de propídeo. As células apoptóticas podem ser identificadas com marcadores fluorescentes, tais como anexina V, que se liga a fosfolipídios anormalmente expostos na superfície das células mortas. Os citômetros de fluxo modernos podem detectar rotineiramente três ou mais diferentes sinais fluorescentes coloridos, cada um ligado a um diferente anticorpo ou marcador. Esta técnica permite a análise simultânea da expressão, pela célula, de muitas combinações diferentes de moléculas. Em adição à detecção de sinais fluorescentes, os citômetros de fluxo também medem as propriedades das células e a dispersão da luz, o que reflete o tamanho celular e a complexidade interna, respectivamente. Essa informação frequentemente é usada para distinguir diferentes tipos celulares. Por exemplo, comparados com os linfócitos, os neutrófilos induzem maior desvio lateral por causa dos seus grânulos citoplasmáticos e os monócitos provocam maior desvio para trás por causa do seu tamanho.



**FIGURA A-4** Princípio da citometria de fluxo e separação celular por fluorescência.

A incidência de feixe de luz é de um comprimento de onda designado e a luz que emerge de volta da amostra e a dispersão lateral são analisadas, assim como a luz fluorescente de dois ou mais comprimentos de onda que depende dos marcadores de fluorocromo ligados aos anticorpos. A separação mostrada aqui é baseada nos dois

marcadores antigênicos (separação de duas cores). Os instrumentos modernos podem analisar rotineiramente e separar populações celulares baseando-se em três ou mais marcadores de diferentes cores.

Uma tecnologia baseada em anticorpo e recentemente desenvolvida, denominada citometria de massa, combina a tecnologia de fluxo de uma única célula, dos citômetros de fluxo, com a espectrometria de massa. O dispositivo comercialmente disponível usado para este fim é denominado **CyTOF**, com “TOF” indicando que ele é um citômetro de massa do tipo tempo de voo. Anticorpos específicos para moléculas de interesse são marcadas com qualquer um de um grande número de metais pesados, usando um metal diferente para cada especificidade de anticorpo. Esses anticorpos são incubados com a população celular em estudo, e as células são analisadas por um instrumento CyTOF que realiza a espectrometria de massa em células individuais. Ao contrário dos marcadores fluorescentes, muitos e diferentes marcadores de metais pesados podem ser resolvidos pela espectrometria de massa sem sobreposição, permitindo a detecção de cerca de 100 moléculas diferentes em uma única célula.

## Purificação de Células

O classificador de células ativado por fluorescência é uma adaptação da citometria de fluxo que permite a separação de populações celulares levando em conta o tipo e a quanto marcador fluorescente elas podem se ligar. Esta técnica é realizada mediante desvio diferencial das células com campos eletromagnéticos cujo comprimento e direção são variados de acordo com a intensidade medida do sinal fluorescente (Fig. A-4). As células podem ser marcadas com anticorpos marcados *ex vivo* com fluorescência ou, em casos de estudos experimentais com animais, a marcação pode ser feita *in vivo* com a expressão de transgenes que codificam proteínas fluorescentes, tais como a proteína verde fluorescente. (A tecnologia transgênica é descrita mais adiante neste apêndice.)

Outra técnica comumente utilizada para purificar células com um fenótipo em particular depende dos anticorpos que estão ligados às partículas magnéticas. Esses “reagentes imunomagnéticos” se ligarão a certas células, dependendo da especificidade do anticorpo utilizado, e as células ligadas podem então ser retiradas da suspensão com uso de um magneto forte.

## Imunofluorescência e Imuno-Histoquímica

Os anticorpos podem ser utilizados para identificar a distribuição anatômica de um antígeno dentro de um tecido ou de compartimentos celulares. Para fazer isso, o tecido ou célula é incubado com um anticorpo que está marcado com um fluorocromo



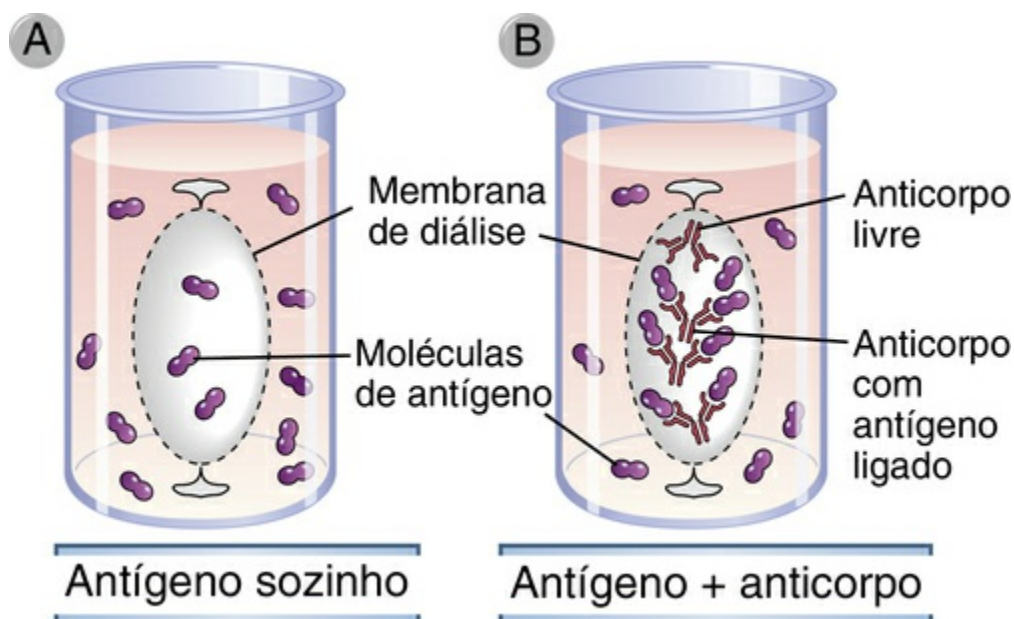
ou enzima e a posição do marcador, determinada com um microscópio apropriado, é usada para inferir a posição do antígeno. Na versão mais antiga deste método, chamada de imunofluorescência, o anticorpo era marcado com um corante fluorescente e incubado para se ligar a uma monocamada de células ou a uma seção congelada de tecido. As células ou tecidos corados eram examinados com um microscópio de fluorescência para localizar o anticorpo. Embora sensível, o microscópio de fluorescência não é uma ferramenta ideal para a identificação de estruturas celulares ou teciduais detalhadas em virtude de uma baixa razão sinal-ruído. Este problema tem sido superado com novas tecnologias, incluindo a microscopia confocal, que utiliza tecnologia de seccionamento ótico para filtrar a luz fluorescente não focalizada; e o microscópio de dois fótons, que impede que se forme luz fora de foco. Alternativamente, anticorpos podem ser acoplados a enzimas que convertem substratos incolores a substâncias coloridas insolúveis que precipitam na posição da enzima. Um microscópio de luz convencional pode, então, ser utilizado para localizar o anticorpo em uma célula ou tecido corados. A variante mais comum deste método utiliza a enzima *horseradish* peroxidase, e o método é comumente nomeado como técnica da imunoperoxidase. Outra enzima comumente utilizada é a fosfatase alcalina. Diferentes anticorpos acoplados a diferentes enzimas podem ser utilizados em conjunto para produzir localizações simultâneas com duas cores para distintos anticorpos. Em outras variações, o anticorpo pode ser acoplado a um marcador eletrodense, como ouro coloidal, e a localização do anticorpo pode ser determinada subcelularmente com o uso de um microscópio eletrônico, uma técnica denominada microscopia imunoeletrônica. Partículas de ouro de diferentes tamanhos têm sido usadas para a localização simultânea de diferentes antígenos em níveis ultraestruturais.

Em todos os métodos imunomicroscópicos, sinais podem ser aumentados com o uso de técnicas de sanduíche. Por exemplo, em vez de se ligar a *horseradish* peroxidase a um anticorpo específico de camundongo direcionado contra o antígeno de interesse, ele pode ser ligado a um segundo anticorpo (p. ex., anticorpo Ig de coelho contra camundongo) que é utilizado para se ligar ao primeiro anticorpo marcado. Quando o marcador é ligado diretamente ao anticorpo primário específico, o método é dito como sendo direto; quando o marcador é ligado a um anticorpo secundário ou mesmo terciário, o método é dito como sendo indireto. Em alguns casos, moléculas diferentes do anticorpo podem ser usadas nos métodos indiretos. Por exemplo, a proteína A estafilocócica, que se liga à IgG, ou avidina, que se liga aos anticorpos primários marcados com biotina, podem ser acopladas a fluorocromo ou enzimas.

## Medida de Interações Antígeno-Anticorpo

Em muitas situações, é importante conhecer a afinidade de um anticorpo pelo

antígeno. Por exemplo, a utilidade de um anticorpo monoclonal como um reagente experimental ou terapêutico depende de sua afinidade. As afinidades do anticorpo por um antígeno podem ser medidas diretamente para pequenos antígenos (p. ex., haptenos) por um método denominado diálise de equilíbrio (Fig. A-5). Neste método, uma solução de anticorpo é confinada dentro de uma membrana “semipermeável” de celulose porosa e imersa em uma solução contendo o antígeno. (*Semipermeável* neste contexto significa que pequenas moléculas, tais como um antígeno, podem passar livremente através dos poros da membrana, mas as macromoléculas, tais como o anticorpo, não passam.) Se nenhum anticorpo estiver presente dentro do compartimento da membrana, o antígeno na solução do banho entra até que a concentração do antígeno dentro do compartimento da membrana se torne exatamente a mesma da do lado externo. Outra maneira de ver o sistema é que, no equilíbrio dinâmico, os antígenos entram e saem do compartimento exatamente na mesma razão. Entretanto, quando o anticorpo está presente dentro da membrana, a quantidade de antígeno dentro da membrana no equilíbrio aumenta pela quantidade que está ligada ao anticorpo. Este fenômeno ocorre porque somente o antígeno não ligado pode difundir através da membrana, e no equilíbrio, esta é a concentração de antígeno não ligado que deve ser idêntica dentro e fora da membrana. A extensão do aumento no antígeno dentro da membrana depende da concentração do antígeno, na concentração de anticorpo, e da constante de dissociação ( $K_D$ ) da interação da ligação. O  $K_D$  pode ser calculado pela medida das concentrações de antígeno e anticorpo, por espectroscopia, ou de outras maneiras.



**FIGURA A-5** Análise de ligação antígeno-anticorpo por diálise de equilíbrio.

Na presença do anticorpo (**B**), a quantidade de antígeno dentro da membrana de diálise é aumentada em comparação com a ausência de anticorpo (**A**). Como descrito no texto, essa diferença, causada pela ligação do anticorpo ao antígeno, pode ser usada para medir a afinidade do anticorpo ao antígeno. Este experimento pode ser realizado somente quando o antígeno é uma molécula pequena (p. ex., um hapteno capaz de cruzar livremente a membrana de diálise).

Uma maneira alternativa de determinar o  $K_D$  é pela medição das taxas de formação e dissociação do complexo antígeno-anticorpo. Estas taxas dependem, em parte, das concentrações de anticorpo e antígeno e da afinidade desta interação. Todos os parâmetros, exceto as concentrações, podem ser resumidos como razões constantes, e ambas razão constante ( $K_{On}$ ) e razão sem constante ( $K_{Off}$ ) podem ser calculadas experimentalmente com a determinação das concentrações e taxas reais de associação ou dissociação, respectivamente. A razão de  $K_{Off}/K_{On}$  permite anular todos os parâmetros não relacionados com a afinidade e é exatamente igual à constante de dissociação  $K_D$ . Assim, pode-se medir  $K_D$  no equilíbrio com a diálise de equilíbrio ou calcular o  $K_D$  a partir de taxas constantes de medidas sob condições sem equilíbrio.

Outro método, mais comumente utilizado, para medir as cinéticas das interações antígeno-anticorpo depende da ressonância do plásmom da superfície. Neste método, um instrumento biossensor especializado (p. ex., Biacore) utiliza um método ótico

para medir a afinidade de um anticorpo que é passado por um antígeno que está imobilizado sobre um filme de metal. Uma fonte de luz é focalizada neste filme através de um prisma e em um ângulo específico (ressonância), e a luz refletida fornece uma leitura da ressonância do plásmon da superfície. A adsorção de um anticorpo a um antígeno altera a leitura da ressonância da superfície, e essa alteração pode fornecer informações sobre a afinidade.

## Camundongos transgênicos e alvo em gene

Três importantes e relacionados métodos para o estudo dos efeitos funcionais de produtos específicos de genes, *in vivo*, são a criação de camundongos transgênicos convencionais que expressam ectopicamente um gene particular em um tecido definido; a criação de camundongos *knockout* para um gene, na qual uma ruptura direcionada é utilizada para interromper a função de um gene particular; e a geração de camundongos *knockin* nos quais um gene existente é substituído por uma versão modificada do mesmo. O procedimento do *knockin* poderia substituir uma versão normal do gene com uma versão mutante ou, a princípio, “corrigir” um gene mutante existente com uma versão “normal”. Estas técnicas envolvendo camundongos geneticamente modificados têm sido muito utilizadas para analisar vários fenômenos biológicos, incluindo desenvolvimento, ativação e tolerância de linfócitos.

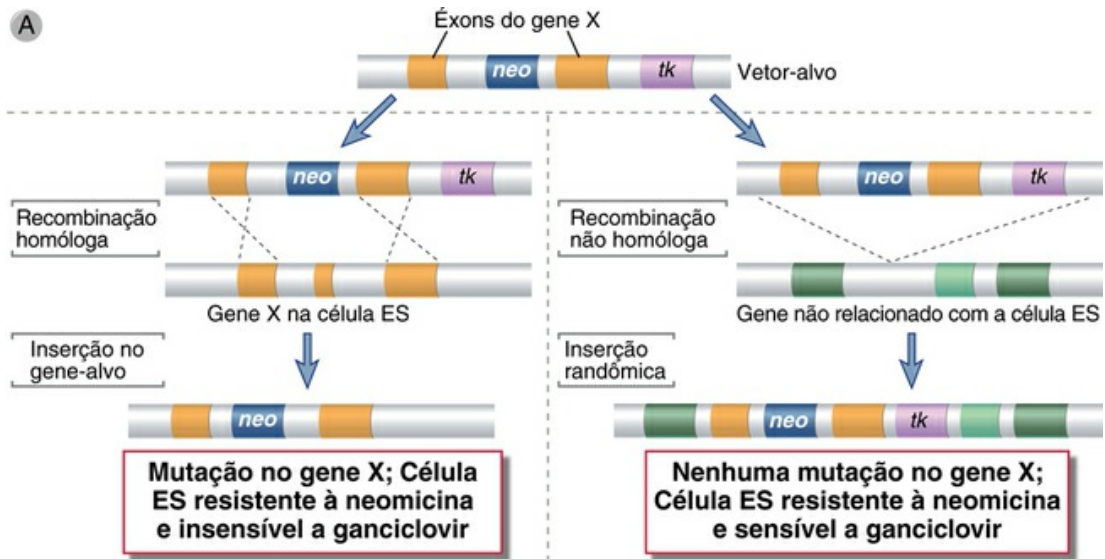
Para a criação de camundongos transgênicos convencionais, sequências estranhas de DNA, denominadas como transgenes, são introduzidas no pró-núcleo de óvulos fertilizados de camundongos, e os óvulos são implantados nos ovidutos de fêmeas pseudogravidas. Normalmente, se uma centena de cópias de um gene for injetada no pró-núcleo, cerca de 25% dos camundongos que nascerem serão transgênicos. Uma a 50 cópias de um transgene são inseridas em conjunto em um local aleatório de quebra no cromossoma e subsequentemente herdadas como traço mendeliano simples. Pelo fato de a integração normalmente ocorrer antes da replicação do DNA, a maioria (cerca de 75%) dos filhos transgênicos carrega o transgene em todas as suas células, incluindo as células germinativas. Na maioria dos casos, a integração do DNA estranho não interrompe o gene endógeno. Além disso, cada camundongo que carrega o transgene é um heterozigoto, do qual linhas homozigóticas podem ser produzidas.

O grande valor da tecnologia transgênica reside no fato de que ela pode ser usada para expressar genes em tecidos em particular por meio da ligação de sequências que codificam o gene das sequências regulatórias que normalmente direcionam a expressão de genes seletivos naquele tecido. Por exemplo, promotores e amplificadores linfoides podem ser usados para superexpressar genes, tais como os genes reorganizados para receptor de antígeno, em linfócitos, e o promotor da insulina pode ser utilizado para expressar genes nas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas. Exemplos da utilidade destes métodos para o estudo do sistema imune

são mencionados em muitos capítulos deste livro. Transgenes também podem ser expressos sob controle de elementos promotores que respondem a fármacos e hormônios, tais como a tetraciclina e os estrogênios. Nestes casos, a transcrição do transgene pode ser controlada à vontade pela administração do agente indutor.

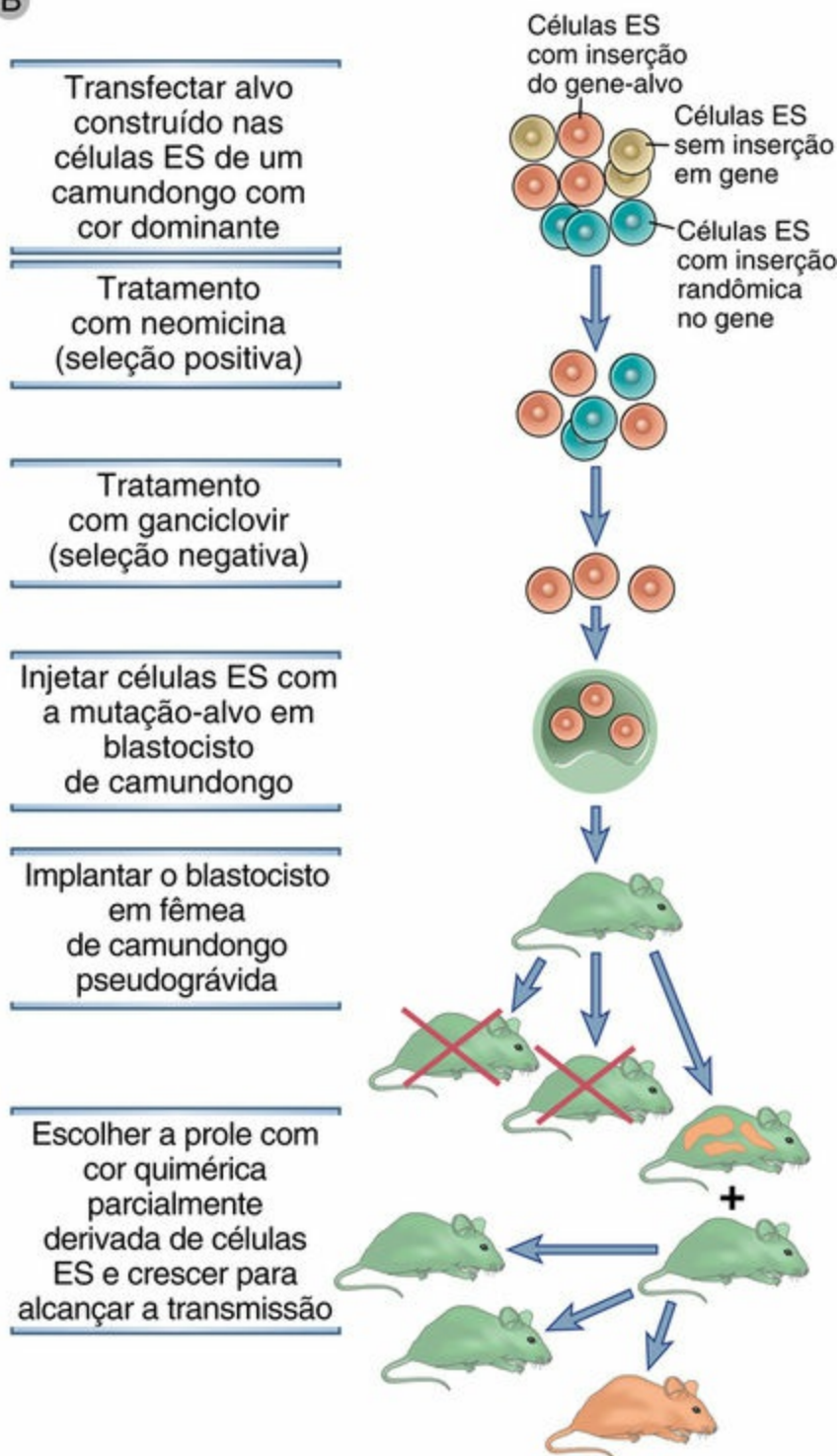
Um método poderoso para o desenvolvimento de modelos animais de distúrbios em um único gene, e a maneira mais definitiva para estabelecer a função de um gene *in vivo*, é a criação de camundongos *knockout* com mutação ou rompimento direcionado de um gene. Esta técnica se baseia no fenômeno da recombinação homóloga. Se um gene exógeno é inserido em uma célula, por exemplo, por eletroporação, ele pode se integrar randomicamente dentro do cromossoma da célula. Entretanto, se o gene contiver sequências que são homólogas a um gene endógeno, ele irá se recombinar preferencialmente e substituir sequências endógenas. Para selecionar células que passaram por recombinação homóloga, uma estratégia de seleção baseada em um fármaco é utilizada. O fragmento de DNA homólogo a ser inserido na célula é colocado em um vetor que contém tipicamente o gene de resistência a neomicina e um gene viral de timidina quinase (*tk*) (Fig. A-6, A). Este vetor-alvo é construído de tal forma que o gene de resistência à neomicina sempre é inserido dentro do DNA cromossômico, mas o gene *tk* é perdido sempre que ocorrer uma recombinação homóloga (em oposição à inserção randômica). Este vetor é introduzido nas células, e as células são postas a crescer em neomicina e ganciclovir, um fármaco que é metabolizado pela timidina quinase para gerar um produto letal. As células nas quais o gene está integrado randomicamente serão resistentes à neomicina, mas serão mortas pelo ganciclovir, ao passo que as células nas quais a recombinação homóloga tiver ocorrido serão resistentes a ambos os fármacos porque o gene *tk* não será incorporado. Esta seleção positiva-negativa garante que o gene inserido nas células sobreviventes passará por recombinação homóloga com sequências endógenas. A presença do DNA inserido no meio de um gene endógeno normalmente rompe as sequências de codificação e anula a expressão ou função daquele gene. Além disso, vetores-alvo podem ser designados de maneira que a recombinação homóloga venha a levar à deleção de um ou mais éxons do gene endógeno.

A





B



**FIGURA A-6** Geração de gene *knockout*.

A, A quebra do gene X em uma célula-tronco embrionária (ES) é acompanhada por recombinação homóloga. Uma população de células ES é transfectada com um vetor-alvo que contém sequências homólogas de dois éxons do gene X com o gene de resistência à neomicina (*neo*). O gene *neo* substitui ou rompe um dos éxons do gene X na

recombinação homóloga. O gene de timidina quinase (*tk*) no vetor será inserido no genoma somente se ocorrer recombinação randômica não homóloga. **B**, As células ES que foram transfectadas pelo vetor-alvo são selecionadas por neomicina e ganciclovir, de maneira que somente aquelas células com a inserção-alvo (recombinação homóloga) sobrevivem. Estas células são então inseridas em blastocistos, que são implantados no útero de fêmea de camundongo pseudográvida. Um camundongo quimérico se desenvolverá de tal forma que alguns tecidos serão derivados das células ES que carregam a mutação-alvo no gene X. Estes camundongos quiméricos são identificados por uma mistura de cores, incluindo a cor dos camundongos dos quais as células ES foram derivadas e a cor da linhagem dos camundongos dos quais o blastocisto foi derivado. Se a mutação estiver presente nas células germinativas, ela pode ser propagada nas linhadas subsequentes.

Para gerar um camundongo que carregue um gene-alvo rompido ou mutado, um vetor-alvo é usado para primeiro romper o gene em uma linhagem de célula-tronco embrionária murina (ES). As células ES são células pluripotentes derivadas de embriões de camundongo que podem ser propagadas e induzidas a se diferenciar em cultura ou que podem ser incorporadas em um blastocisto de camundongo, o qual pode ser implantado em uma mãe pseudográvida que o gesta a termo. Ressalta-se que a progênie das células ES se desenvolverá normalmente em tecidos maduros que expressarão os genes endógenos que foram transfectados para as células ES. Assim, o vetor-alvo designado para romper um gene em particular é inserido nas células ES, e colônias nas quais a recombinação homóloga ocorreu (em um cromossoma) são selecionadas com fármacos, como descrito anteriormente (Fig. A-6, B). A presença da recombinação desejada é verificada pela análise do DNA com técnicas como hibridização por *Southern blot* ou reação em cadeia da polimerase. As células ES selecionadas são injetadas em blastocistos, que são implantados em fêmeas pseudográvidas. Os camundongos que se desenvolvem serão quiméricos para a quebra ou mutação heterozigótica, ou seja, alguns dos tecidos serão derivados das células ES e outros do blastocisto normal remanescente. As células germinativas normalmente também são quiméricas, mas pelo fato de serem haploides, somente algumas conterão a cópia do cromossoma com o gene rompido (mutado). Se os camundongos quiméricos forem mantidos juntos com animais normais (selvagens) e o esperma, ou óvulos, contendo o cromossoma se fundir com o parceiro selvagem, todas as células da descendência derivada de tal zigoto serão heterozigóticas para a mutação (a chamada transmissão da linha

germinativa). Esses camundongos heterozigotos podem ser acasalados para obtenção de animais que serão homozigotos para a mutação com uma frequência que é previsível por segregação mendeliana simples. Tais camundongos *knockout* são deficientes na expressão do gene-alvo.

A recombinação homóloga também pode ser usada para substituir uma sequência normal de gene com uma versão modificada do mesmo gene (ou outro gene), criando, assim, uma linhagem de camundongo *knockin*. Os camundongos *knockin* podem ser utilizados para avaliar as consequências biológicas de uma alteração em uma base simples, por exemplo, ao contrário da deleção de um gene. A abordagem *knockin* poderia, a princípio, também ser usada para substituir um gene defeituoso por um normal. Em certas circunstâncias, um gene diferente pode ser colocado em um local definido em um genoma por meio do uso de estratégia de *knockin* em vez de em um local randômico, como nos camundongos transgênicos convencionais. As abordagens *knockin* são usadas quando é desejável ter a expressão do transgene regulado por certas sequências endógenas de DNA, tais como uma região amplificadora ou promotora em particular. Neste caso, o vetor-alvo contém um gene exógeno que codifica um produto desejado, bem como sequências homólogas a um gene endógeno que são necessárias para direcionar o local da recombinação.

Embora a estratégia de alvo gênico convencional tenha provado ser de grande utilidade na pesquisa em imunologia, a abordagem tem algumas limitações. Primeiro, a mutação de um gene durante o desenvolvimento pode ser compensada pela expressão alterada de outros produtos gênicos e, assim, a função do gene-alvo pode ser obscurecida. Segundo, em um camundongo *knockout* convencional, a importância de um gene em somente um tecido ou em um único momento durante o desenvolvimento não pode ser facilmente avaliada. Terceiro, um gene marcado por seleção funcional, tal como o gene de resistência à neomicina, é permanentemente introduzido no genoma do animal e esta alteração pode ter resultados imprevisíveis no fenótipo do animal. Um refinamento importante da tecnologia de gene *knockout* que pode superar muitas destas desvantagens é a abordagem de alvo “condicional”. Uma estratégia condicional comumente utilizada tira vantagem do sistema de recombinação de Cre/*loxP* derivado de bacteriófago. A enzima Cre é uma DNA recombinase que reconhece um motivo de sequência de 34-bp denominado *loxP*, e a enzima medeia a deleção dos segmentos de gene flanqueado por dois locais *loxP* na mesma orientação. Para gerar camundongos com genes *loxP*, vetores são construídos com um local *loxP* flanqueando o gene de resistência à neomicina em uma terminação e um segundo local *loxP* flanqueando as sequências homólogas ao alvo na outra terminação. Estes vetores são transfectados nas células ES, e os camundongos que carregam o *loxP* mas ainda possuem o gene-alvo funcional são gerados como descritos para os camundongos *knockout* convencionais. Uma segunda cepa de camundongos carregando o transgene *cre* é, então, criada com a cepa que carrega o gene-alvo *loxP* (*floxed*). Na prole, a expressão de Cre

recombinase irá mediar a deleção do gene-alvo. Ambas as sequências de gene normal e de gene de resistência à neomicina serão deletadas. Ressalta-se que a expressão do gene *cre*, e assim a deleção do gene-alvo, pode ser restrita a certos tecidos ou tempos especificados com o uso de construções de transgene *cre* com diferentes promotores. Por exemplo, a deleção seletiva de um gene somente em macrófagos e granulócitos pode ser acompanhada pelo uso de camundongo transgênico em *cre* no qual *cre* é direcionado pelo promotor lisozima, ou a perda seletiva de um gene somente nas células T regulatórias pode ser acompanhada usando o promotor *foxp3* que direciona o transgene *cre*. Alternativamente, um promotor induzido por esteroide pode ser usado de forma que a expressão de Cre e subsequente deleção do gene ocorram somente após os camundongos receberem uma dose de dexametasona. Muitas outras variações nesta tecnologia foram desenvolvidas para criar mutantes condicionais. A tecnologia Cre/*loxP* também pode ser usada para criar camundongos *knockin*. Neste caso, os locais *loxP* são colocados no vetor-alvo para flanquear o gene de resistência à neomicina e as sequências homólogas, mas eles não flanqueiam a substituição (*knockin*) de sequências de genes. Dessa maneira, após a deleção mediada por *cre*, o gene exógeno permanece no genoma no local alvo.

A tecnologia de gene *knock in* tem sido aplicada para criar camundongos “repórteres” nos quais as células que normalmente expressariam uma proteína em particular expressam uma molécula fluorescente no mesmo local de uma proteína nativa. Isso é realizado com a substituição do gene nativo por um transgene que codifica uma proteína repórter fluorescente e a proteína nativa, ambas sob o controle do promotor e amplificador nativos. Os camundongos “repórteres” foram desenvolvidos para permitir a visualização de células imunes de subgrupos particulares *in vivo*, tais como camundongos nos quais as células Th17 produtoras de IL-17 também expressam uma proteína fluorescente. Estas células podem ser detectadas utilizando-se microscópio de fluorescência intravital. As células que expressam os genes “repórteres” também podem ser isoladas vivas e submetidas a estudos funcionais *ex vivo*, mesmo que o gene “repórter” nativo seja um fator de transcrição nuclear cuja expressão poderia ser somente detectável por métodos que matam as células. Por exemplo, células T regulatórias vivas podem ser isoladas por FACS a partir de linfonodos de um camundongo “repórter” que expressa a proteína verde fluorescente simultaneamente com o fator de transcrição FoxP3.

Uma nova abordagem para gerar mutações nas linhagens celulares, assim como nas células ES, utiliza uma modificação do sistema de defesa bacteriano contra DNA estranho denominada sistema CRISPR (repetições palindrômicas curtas de intervalos regularmente agrupados, do inglês *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) Cas9 (nuclease 9 associada a CRISPR). Na variação da edição do gene, um guia de RNA hibridiza com uma sequência de DNA alvo escolhida e permite que a Cas9 nuclease gere uma quebra da fita dupla escolhida.

Enquanto a quebra pode romper o gene, a cotransfecção do plasmídeo com a versão mutada da sequência-alvo permite uma recombinação homóloga eficiente e a criação de uma mutação *knockin* alvo. Esta é a abordagem mais rápida e disponível para a geração de mutações *knockout* ou *knockin* em linhagens celulares ou em linhagens germinativas de animais experimentais.

## Métodos para o estudo das respostas de linfócitos T

Nosso conhecimento atual sobre os eventos celulares na ativação da célula T se baseia em uma variedade de técnicas experimentais nas quais diferentes populações de células T são ativadas por um estímulo definido e as respostas funcionais são medidas. Experimentos *in vitro* forneceram uma grande quantidade de informações sobre as mudanças que ocorrem em uma célula T quando ela é estimulada pelo antígeno. Mais recentemente, várias técnicas foram desenvolvidas para estudar a proliferação da célula T, expressão de citocina e redistribuição anatômica em resposta à ativação *in vivo* pelo antígeno. Os novos procedimentos experimentais são particularmente úteis para o estudo da ativação de células T inativas e localização de células T de memória específica para antígeno após uma resposta imune ter diminuído.

## Ativação Policlonal de Células T

Os ativadores policlonais de células T se ligam a muitos ou todos os complexos de receptores de células T (TCR) independentemente da especificidade e ativam as células T de forma similar aos complexos MHC-peptídeo nas células apresentadoras de antígenos (APCs). Os ativadores policlonais são mais comumente usados *in vitro* para ativar células T isoladas de sangue humano ou de tecidos linfóides de animais experimentais. Os ativadores policlonais também podem ser usados para ativar células T com especificidades desconhecidas de antígenos, e eles podem evocar uma resposta detectável em populações misturadas de células T inativas, embora a frequência das células específicas para qualquer antígeno seja muito baixa para eliciar uma resposta detectável. As proteínas de plantas que são ligantes de carboidratos poliméricos, denominadas lectinas, tais como a concanavalina A e a fito-hemaglutinina, são o grupo mais comumente utilizado de ativadores policlonais de célula T. Estas lectinas se ligam especificamente a certos resíduos de açúcar nas glicoproteínas da superfície da célula T, incluindo o TCR e as proteínas CD3 e, assim, estimulam as células T. Anticorpos específicos para uma malha invariante de epítomos nas TCR e proteínas CD3 também funcionam como ativadores policlonais das células T. Com frequência, esses anticorpos necessitam ser imobilizados em superfícies sólidas ou partículas ou fazem ligação cruzada com antianticorpos secundários para induzir respostas de ativação ótima. Pelo fato de os ativadores policlonais não

forneçerem sinais coestimuladores que sejam normalmente transmitidos pelas APCs, eles são frequentemente utilizados em conjunto com anticorpos estimulatórios para receptores para coestimuladores, tais como anti-CD28 ou anti-CD2. Superantígenos, outro tipo de estímulo policlonal, se ligam e ativam todas as células T que expressam tipos particulares de cadeia TCR  $\beta$  (Fig. 16-2).

Células T de qualquer especificidade de antígeno também podem ser estimuladas com reagentes farmacológicos, tais como a combinação de forbol éster PMA e ionóforo de cálcio ionomicina, que mimetiza sinais gerados pelo complexo TCR.

## Ativação Induzida por Antígeno de Populações Policlonais de Célula T

As populações policlonais de células T normais que são enriquecidas com células T específicas para um antígeno em particular podem ser derivadas do sangue e órgãos linfoides periféricos de indivíduos após imunização com o antígeno. A imunização serve para expandir o número de células T específicas para o antígeno, as quais podem, então, ser reestimuladas *in vitro* com adição de antígeno e APCs combinadas com MHC para as células T. Este procedimento pode ser usado para estudar a ativação induzida por antígeno de uma população misturada de células T previamente ativadas *prime* e que expressam muitos TCRs diferentes, mas o método não permite a análise das respostas de células T inativas.

## Ativação Induzida por Antígeno de Populações de Células T com Especificidade Antigênica Simples

As populações monoclonais de células T, que expressam TCRs idênticos, têm sido úteis para análises funcionais, bioquímicas e moleculares. A limitação destas populações monoclonais é que elas são mantidas como linhagens de cultura de tecidos de longo prazo e, assim, podem divergir fenotipicamente de células T normais *in vivo*. Um tipo de população de célula T monoclonal que é frequentemente usado na imunologia experimental é o clone de célula T específico para antígeno. Tais clones são derivados do isolamento das células T de indivíduos imunizados, como descrito para células T policlonais, seguido por repetições *in vitro* com o antígeno estimulante mais APCs ligados a MHC e clonagem de células responsivas a antígenos em meio semissólido ou em meio líquido e por diluição limitada. Respostas específicas para antígenos podem ser facilmente medidas nestas populações porque todas as células em uma linhagem celular clonada têm os mesmos receptores e foram selecionadas para o crescimento em resposta a um complexo antígeno-MHC conhecido. Ambos os linfócitos T auxiliares e citotóxicos foram estabelecidos a partir de camundongos e humanos. Outras populações de células T monoclonais usadas no estudo da ativação da célula T incluem os hibridomas de células T específicas



para antígeno, que são produzidas como hibridomas de célula B (Fig. 5-9), e linhagens tumorais derivadas de células T foram estabelecidas *in vitro* após a remoção das células T malignas de animais ou humanos com leucemias ou linfomas de célula T. Embora algumas linhagens derivadas de tumores expressem complexos TCR funcionais, suas especificidades de antígenos são desconhecidas e as células normalmente são estimuladas com ativadores policlonais para objetivos experimentais. A linhagem Jurkat, derivada de célula de leucemia de célula T humana, é um exemplo de uma linhagem tumoral que é amplamente utilizada como modelo para o estudo da transdução de sinal em célula T.

Os camundongos transgênicos TCR são uma fonte de células T homogêneas, fenotipicamente normais, com especificidades antigênicas idênticas e que são grandemente utilizadas para análises experimentais *in vitro* e *in vivo*. Se as cadeias gênicas  $\alpha$  e  $\beta$  reorganizadas de TCR simples de especificidade específica são expressas como transgene em camundongos, a maioria das células T maduras nos camundongos expressará o TCR. Se o transgene TCR é cruzado com uma deficiência em RAG-1 ou RAG-2, nenhuma expressão de gene TCR ocorrerá e 100% das células T expressarão somente TCR transgênico. As células T transgênicas em TCR podem ser ativadas *in vitro* ou *in vivo* com um antígeno peptídico único e podem ser identificadas por anticorpos específicos para o TCR transgênico. Uma das únicas vantagens dos camundongos transgênicos em TCR é que eles permitem o isolamento de número suficiente de células T inativas de especificidades específicas para permitir o estudo funcional de respostas à primeira exposição ao antígeno. Esta vantagem permitiu aos investigadores o estudo das condições *in vitro* sob as quais a ativação pelo antígeno de células T inativas leva à diferenciação em subgrupos funcionais tais como células  $T_H1$  e  $T_H2$  (Cap. 9). As células T imaturas de camundongos transgênicos em TCR também podem ser injetadas em camundongos receptores singênicos, onde eles são base para os tecidos linfoides. O camundongo receptor é, então, exposto ao antígeno para o qual o TCR transgênico é específico. Por meio do uso de anticorpos que marcam as células T TCR transgênicas, é possível acompanhar a expansão e diferenciação *in vivo* e isolá-las para análise das respostas secundárias ao antígeno *ex vivo*.

## Métodos para Enumeração e Estudo de Respostas Funcionais de Células T

Ensaio de proliferação para linfócitos T, semelhantes àqueles de outras células, são conduzidos *in vitro* com a determinação da quantidade de  $^3\text{H}$ -timidina incorporada no DNA das células replicantes em cultura. A incorporação de timidina fornece uma medida quantitativa da taxa de síntese de DNA, que, em geral, é diretamente proporcional à taxa de divisão celular. A proliferação celular *in vivo* pode ser medida

pela injeção do análogo de timidina bromodeoxiuridina (BrdU) em animais e coloração das células com anticorpo anti-BrdU para a identificação e enumeração dos núcleos que incorporaram o BrdU em seu DNA durante a replicação do DNA.

Corantes fluorescentes podem ser usados para o estudo da proliferação das células T *in vivo*. As células T são primeiramente marcadas com ésteres fluorescentes lipofílicos quimicamente reativos e, então, transferidas para os animais experimentais. Os corantes entram nas células, formam ligações covalentes com proteínas citoplasmáticas e, então, não mais saem das células. Um corante deste tipo e comumente utilizado é o éster de succinimidil 5,6-carboxifluoresceína diacetato (CFSE), que pode ser detectado nas células por técnicas de citometria de fluxo padrão. Cada vez que uma célula T se divide, seu conteúdo de corante é reduzido à metade, sendo possível determinar se as células T transferidas presentes em tecidos linfóides de um camundongo recebedor se dividiram *in vivo* e estimar o número de duplicações pelo qual cada célula T passou.

Os tetrâmeros peptídeo-MHC são usados para enumerar células T com uma única especificidade antigênica isolados de sangue ou tecidos linfóides de animais experimentais ou humanos. Estes tetrâmeros contêm quatro dos complexos peptídeo-MHC que a célula T pode normalmente reconhecer na superfície das APCs. O tetrâmero é feito pela produção de uma molécula de MHC de classe I na qual é ligada uma pequena molécula, denominada como biotina, com o uso de tecnologia de DNA recombinante. A biotina se liga com alta afinidade a uma proteína denominada avidina, e cada molécula de avidina se liga a quatro moléculas de biotina. Então, a avidina forma um substrato para montagem de quatro proteínas de MHC conjugadas com biotina. As moléculas de MHC podem ser carregadas com um peptídeo de interesse e estabilizadas, e a molécula de avidina é marcada com um fluorocromo (p. ex., FITC). Este tetrâmero se liga a células T específicas para o complexo peptídeo-MHC com avides grande o suficiente para marcar as células T, mesmo em suspensão. Este método é o único procedimento viável para a identificação de células T antígeno-específicas, em humanos. Por exemplo, é possível identificar e enumerar as células T restritas para HLA-A2 e específicas para um peptídeo de HIV com coloração das células sanguíneas com um tetrâmero de moléculas de HLA-A2 carregadas com o peptídeo. A mesma técnica tem sido utilizada para enumerar e isolar células T específicas para os próprios antígenos em indivíduos normais e em pacientes com doenças autoimunes. Tetrâmeros peptídeo-MHC que se ligam a um TCR transgênico particular também podem ser usados para quantificar as células T transgênicas em diferentes tecidos após a transferência adotiva e estimulação do antígeno. Atualmente, a técnica é muito utilizada com moléculas de MHC de classe I; nas moléculas de classe I, somente um polipeptídeo é polimórfico e moléculas estáveis podem ser produzidas *in vitro*. Isso é mais difícil para as moléculas de classe II porque ambas as cadeias são polimórficas e necessitam de uma montagem correta, mas os tetrâmeros de peptídeos classe II também têm sido produzidos.

Os ensaios de secreção de citocina podem ser usados para quantificar as células T efectoras e secretoras de citocinas dentro dos tecidos linfoides. Os métodos mais comumente utilizados consistem na coloração citoplasmática de citocinas e nos ensaios de única célula e imunossorventes ligados à enzima (ELISpot). Nestes tipos de estudos, a ativação e diferenciação de células T induzidas por antígeno ocorrem *in vivo* e, então, as células T são isoladas e testadas para expressão *in vitro* de citocinas. A coloração citoplasmática de citocinas necessita de permeabilização das células de modo que os anticorpos marcados com fluorocromo e específicos para uma citocina particular possam entrar nas células e as células coradas sejam, então, analisadas por citometria de fluxo. A expressão de citocina pelas células T específicas para um antígeno em particular pode ser determinada por coloração adicional das células T com tetrâmeros peptídeo-MHC ou, no caso das células T TCR transgênicas, anticorpos específicos para TCR transgênico. Com o uso de uma combinação de CFSE e anticorpos anticitocina, é possível examinar a relação entre a divisão celular e a expressão de citocina. No ensaio de ELISpot, as células T recentemente isoladas de sangue ou tecidos linfoides são cultivadas em poços plásticos recobertos com anticorpo específico para uma citocina em particular. À medida que as citocinas são secretadas das células T individuais, elas se ligam aos anticorpos em pontos discretos e correspondentes à localização de células T individuais. Os pontos são visualizados pela adição de uma enzima secundária ligada à anti-Ig, como em um ELISA padrão (ver anteriormente), e o número de pontos é contado para se determinar a quantidade de células T secretoras de citocina.

## Métodos para o estudo das respostas de linfócitos B

### Ativação de Populações de Células B Policlonais

É tecnicamente difícil estudar os efeitos dos antígenos em células B porque, como prediz a hipótese da seleção clonal, muito poucos linfócitos em um indivíduo são específicos para qualquer antígeno. Uma abordagem para evitar esse problema é o uso de anticorpos anti-Ig como análogos dos antígenos, assumindo-se que o anti-Ig se ligará às regiões constantes (C) das moléculas Ig da membrana em todas as células B e terá os mesmos efeitos biológicos do antígeno que se liga às regiões hipervariáveis das moléculas Ig da membrana somente nas células B específicas para o antígeno. Considerando que as comparações precisas são viáveis, esta suposição geralmente parece correta, indicando que o anticorpo anti-Ig é um modelo válido para antígenos. Assim, o anticorpo anti-Ig frequentemente é usado como ativador policlonal dos linfócitos T, similar ao uso de anticorpos anti-CD3 como ativadores policlonais de linfócitos T, discutido anteriormente.

### Ativação Antígeno-Anticorpo de Populações de Células

## B com Especificidade Antigênica Simples

Para examinar os efeitos da ligação de antígenos às células B, investigadores têm tentado isolar células B específicas para antígenos a partir de populações complexas de linfócitos normais ou produzir linhagens de células B clonais com especificidades antigênicas definidas. Estes esforços têm alcançado pouco sucesso. Entretanto, camundongos transgênicos foram desenvolvidos onde virtualmente todas as células B expressam Ig transgênica de especificidade conhecida, de tal forma que a maioria das células B nestes camundongos responde ao mesmo antígeno. Um procedimento um pouco mais sofisticado foi criado para produzir camundongos *knockin* em receptor de antígeno, nos quais genes das cadeias H e L de Ig reorganizados foram homologamente recombinados em seu locus endógeno. Tais animais *knockin* provaram ser particularmente úteis na verificação da edição de receptor.

## Métodos para Medidas da Proliferação das Células B e Produção de Anticorpo

Muito do nosso conhecimento a respeito da ativação da célula B se baseia nos experimentos *in vitro*, nos quais diferentes estímulos são usados para ativar células B e sua proliferação e diferenciação podem ser medidas com precisão. Os mesmos ensaios podem ser realizados com células B recuperadas de camundongos expostos a diferentes antígenos ou com células B homogêneas expressando transgene que expressam receptores de antígeno.

A proliferação da célula B é medida com o uso de marcação com CFSE ou incorporação de  $^3\text{H}$ -timidina *in vitro* e marcação *in vivo* com BrdU, como descrito anteriormente para a proliferação de células T.

A produção de anticorpo é medida de duas maneiras diferentes: com ensaios para a secreção cumulativa de Ig, que mede a quantidade de Ig que se acumula no sobrenadante de linfócitos em cultura ou no soro de um indivíduo imunizado, e com ensaios com uma célula, que determina o número de células em uma população imune que secreta Ig de uma especificidade particular ou isotipo. A técnica mais precisa, quantitativa e utilizada para medir a quantidade total de Ig no sobrenadante de uma cultura ou amostra de soro é o ELISA. Com o uso de antígenos ligados a suportes sólidos, é possível o uso do ELISA para quantificar a quantidade de anticorpo em uma amostra específica para um antígeno em particular. Além disso, a disponibilidade de anticorpos anti-Ig que detectam Igs de distintas classes de cadeias pesada e leve permite a medida de quantidades de isotipos diferentes em uma amostra. Outras técnicas para medir os níveis de anticorpo incluem hemaglutinação para anticorpos antieritrócitos e lise dependente de anticorpo para anticorpos específicos para tipos celulares conhecidos. Ambos os ensaios são baseados na demonstração de que, se a quantidade de antígeno (i.e., células) é constante, a

concentração de anticorpo determina a quantidade de anticorpo ligado às células, e isto é refletido no grau de aglutinação celular ou ligação subsequente do complemento e lise celular. Resultados destes ensaios normalmente são expressos como títulos de anticorpos, que são a diluição da amostra que fornece metade dos efeitos máximos ou da diluição na qual se atinge o ponto final do ensaio.

O ensaio com uma célula para a secreção de anticorpo é o ensaio de ELISpot. Neste método, o antígeno é ligado ao fundo de um poço, células secretoras de anticorpo são adicionadas e os anticorpos que foram secretados e estão ligados ao antígeno são detectados por um anticorpo anti-Ig ligado a uma enzima, como no ELISA, em um meio semissólido. Cada ponto representa a localização da célula secretora de antígeno. Os ensaios com uma única célula fornecem a medida do número de células secretoras de Ig, mas eles não quantificam com precisão a quantidade de Ig secretada por cada célula da população total. As técnicas de ELISA e ELISpot podem ser adaptadas para avaliar a afinidade dos anticorpos, com o uso de antígenos com números diferentes de conteúdo de hapteno. Dessa maneira, a maturação de afinidade pode ser avaliada com o teste do soro ou de células B coletadas em diferentes momentos durante uma resposta imune.

---

# Índice

---

Números de páginas seguidas por *f*, *t* e *b* indicam figuras, tabelas e quadros, respectivamente.

## A

Abertura e processamento final de *hairpin*, na recombinação V(D)J, [182](#)

### Adjuvantes

antígenos administrados com, [356](#)

na ativação da célula T, [109–110](#), [202–203](#)

na estimulação da imunidade adaptativa, [83](#)

Adressina de nodo periférico (PNAd), [38](#), [44](#)

Afinidade do anticorpo ( $K_D$ ), [101](#)

Agamaglobulinemia de Bruton, [446](#)

Agamaglobulinemia ligada ao X (XLA), [445](#), [446t](#)

de mutações no gene *BTK*, [186](#)

### Agentes anti-inflamatórios

na imunossupressão, [375](#)

para doenças imunológicas, [409–411](#)

AIDS See [Síndrome da imunodeficiência adquirida \(AIDS\)](#)

Alarminas, [54](#)

Alça R do RNA, [254](#)

Alérgeno(s), [417](#)

natureza do(s), [419](#)

Alergia(s), [417–434](#)

alimentar, [303](#)



- patogênese e terapia da, [432–433](#)
- fatores ambientais nas, [431](#)
- Alergias alimentares, [303](#)
  - patogênese e terapia das, [432–433](#)
- Aloanticorpos, produção e funções dos, [368](#)
- Aloantígeno(s), [360](#)
  - respostas das células T ao, coestimulação no, [365](#)
  - sensibilização do, [365](#), [366f](#)
- Aloenxerto(s), [360](#)
  - imunogenicidade dos, métodos de redução, [371–372](#)
  - respostas imunes adaptativas aos, [360–362](#), [368](#)
- Alótípos, [95](#)
- Alvo do anticorpo antiproliferativo 1 (TAPA-1), [280](#)
- Amígdalas, respostas imunes nas, [295–296](#)
- Aminas, biogênicas, derivadas dos mastócitos, [425](#), [426f](#)
- Amostra de antígeno, pelas células dendríticas intestinais, [427](#), [428f](#)
- Amplificação, na diferenciação de subgrupo da célula T, [218](#)
- Anafilatoxinas, [284](#)
- Anafilaxia, [418](#)
  - sistêmica, patogênese e terapia da, [431](#)
- Anel de Walderyer, [295](#)
- Anemia
  - hemolítica, autoimune, [403t](#)
  - perniciosa, [403t](#)
- Anergia
  - célula B, [327](#), [328f](#)
  - célula T, [202](#), [318](#), [321f](#), [407](#)
- Anormalidades imunológicas, levando à autoimunidade, [329–331](#)
- Antagonista do receptor de interleucina-1 (IL-1Ra), [83](#)

- características do, [493](#)
- Anti-CD20
  - para esclerose múltipla, [414](#)
  - para lúpus eritematoso sistêmico, [412](#)
- Anti-CD52, para rejeição aguda a enxerto, [374](#)
- Anticorpo antialotípico, [95](#)
- Anticorpo anti-idiótipo, [95](#)
- Anticorpo humanizado, [97](#)
- Anticorpo humano contra camundongo, [97](#)
- Anticorpo(s), [87–105](#)
  - afinidade aos, [101](#)
  - antialotípico, [95](#)
  - anticamundongo, [97](#)
  - anti-CD20, para doenças imunológicas, [409](#)
  - anti-idiotípico, [95](#)
  - antilinfócito, para rejeição aguda ao enxerto, [374](#)
  - antitumor, na imunoterapia para tumores, [395t](#), [396](#)
  - contra antígenos tumorais, [389](#)
  - deficiências nos, de imunodeficiências congênitas, [445–448](#)
  - definição de, [87](#)
  - eliminação de helmintos mediada pelos, [271](#)
  - estrutura dos, [88–97](#)
    - características gerais dos, [88–90](#)
  - fagocitose mediada pelos, [267–271](#)
  - funções efetoras dos, [265](#), [266f](#)
  - humanizados, [97](#)
  - idiótipos de, [95](#)
  - imunidade humoral mediada pelos, [265–267](#), [270](#)
  - isotipos de, [92](#), [94t](#)

- ligação do antígeno pelos, [92](#), [93f](#), [99–102](#)
- meia-vida dos, [98–100](#)
- métodos de laboratório usando, [503–510](#)
- moléculas de
  - flexibilidade das, [94f](#), [99](#)
  - relação estrutura-atividade das, [102–104](#)
    - relacionada com funções efetoras, [103–104](#)
    - relacionada com o reconhecimento do antígeno, [102–104](#)
  - síntese, ancoragem e expressão das, [97–98](#)
- monoclonal, [19](#), [95–97](#)
- na identificação e purificação de proteínas, [504](#)
- na imunidade adaptativa aos vírus, [348](#), [349f](#)
- na resposta imune adaptativa, [9](#)
- natural, [259–260](#)
- opsonização mediada pelos, [267–271](#)
- policlonal, [88](#)
- produção de, medidas dos, [515–516](#)
- região constante dos, características estruturais dos, [92–93](#)
- regiões variáveis dos, características estruturais dos, [91–92](#)
- Anticorpos monoclonais, [9](#), [95–97](#)
  - aplicações dos, [97](#)
  - em uso clínico, [98t](#)
  - específico de tumores, na imunoterapia para tumores, [395t](#), [396](#)
  - geração dos, [95](#), [96f](#)
  - para doenças imunológicas, [409](#)
  - para rejeição aguda de enxerto, [374](#)
- Anticorpos policlonais, [88](#)
- Antígeno 3 associado à função de leucócito (LFA-3), [156](#)
- Antígeno carcinoembrionário (CEA, CD66), [387](#)

Antígeno de Lewis, na transfusão de sangue, [378](#)

Antígeno II, [114–115](#)

Antígeno(s)

ativação das populações de célula T monoclonal induzida pelos, para estudo das respostas da célula T, [514](#)

biológica, características dos, [99–100](#)

captura dos, [108–114](#), [241](#), [243f](#)

e apresentação dos, pelas células dendríticas, [110–111](#), [114](#)

e transporte dos, pelas células dendríticas, [111–114](#)

caracterização dos, por *Western blotting*, [507f](#)

definição de, [2](#), [4](#), [87](#)

distribuição dos, para células B, [241–243](#)

entrada dos, vias dos, [111f](#)

grupo sanguíneo, na transfusão de sangue, [377–379](#)

independente de célula T, respostas dos anticorpos aos, [259t](#), [260](#)

independente de timo, [240](#)

leucócito humano, [115](#)

Lewis, [378](#)

meio ambiente, reações contra, causando doenças de hipersensibilidade, [400](#)

microbiano, captura e apresentação dos, [9–10](#)

não proteico, apresentação dos, aos subgrupos de células T, [133–134](#)

nas células e tecidos, marcação e detecção dos, [506](#)

natureza dos, para ativação da célula T CD8<sup>+</sup>, [231–233](#)

oncofetal, [387](#)

polivalente, [101–102](#)

proteína See [Antígenos proteicos](#)

quantificação dos, por imunoenaios, [503](#)

receptor de célula B para, [150f](#), [156–160](#) See also [Complexo receptor de antígeno da célula B \(BCR\)](#)

reconhecidos pelas células T, propriedades dos, [108](#)

- respostas funcionais das células B aos, [244–245](#)
- Rhesus (Rh), [378–379](#)
- super-, bacteriano, [343](#)
- tolerogênico, [315](#)
- transporte dos, através dos linfonodos, [31](#)
- tumor, [385–388](#), [386](#) See also [Antígenos tumorais](#)

Antígenos ambientais, contra reações, causando doenças de hipersensibilidade, [400](#)

Antígenos de diferenciação específicos para tecidos, [388](#)

Antígenos de grupo sanguíneo ABO, na transfusão de sangue, [377–378](#)

Antígenos de leucócito humano (HLA), [115](#)

- correspondência dos, no transplante de órgãos, [371](#), [372f](#)

Antígenos glicolipídios, alterados, [388](#)

Antígenos glicoproteicos, alterados, [388](#)

Antígenos menores de histocompatibilidade, no transplante de órgãos, [362–363](#)

Antígenos oncofetais, [387](#)

Antígenos polivalentes, [101–102](#)

Antígenos proteicos

- estranhos, tolerância induzida por, [329](#)
- imunogenicidade aos, [132](#), [133f](#)
  - fatores determinantes, [326–327](#)
- processamento dos, [124–132](#)
- respostas de anticorpo dependentes de célula T auxiliar aos, [245](#)
- tolerogenicidade dos, fatores determinantes, [326–327](#)

Antígenos Rhesus (Rh), na transfusão de sangue, [378–379](#)

Antígenos timo-independentes (T-independentes), [240](#)

Antígenos tumorais, [385–387](#)

- anticorpos contra, [389](#)
- como anormalmente expressos nas proteínas celulares imutadas, [386](#)
- como produtos de genes mutados, [385–386](#)

- de vírus oncogênicos, [387](#)
- diferenciação de antígenos específicos para tecidos como, [388](#)
- glicolípido alterado e antígenos glicoproteicos como, [388](#)
- oncofetais, [387](#)
- vacinação com, [391–392](#)

Antimetabólitos, para rejeição de transplante, [374](#)

Antissoro, [87–88](#)

Antitoxinas, [4](#)

AP-1, na regulação da expressão gênica na célula T, [154–155](#)

APCs See [Células apresentadoras de antígeno \(APCs\)](#)

APCs profissionais, [109](#)

Apoptose, [60](#)

- na deleção da célula T pela, [325f](#), [326](#)
- na tolerância central, [316](#)
- na tolerância periférica, [316f](#), [317](#)

Apresentação cruzada, [114](#), [125–126](#), [131](#)

Apresentação de antígeno

- associado ao MHC, significado fisiológico da, [111–113](#), [132–133](#)
- células dendríticas na, [114](#)
- inibição de vírus, mecanismos da, [351](#)
- pelos células B, [247](#)

APRIL, características do, [493](#)

Artemis, na abertura, [182](#)

Artrite reumatoide (RA), [412–413](#)

- novas terapias para, [413](#)
- patogênese da, [413](#)

ASC, [60](#)

Asma

- brônquica, patogênese e terapia da, [431–433](#)



exacerbações da, infecções respiratórias e, [431](#)  
genes associados à, [430t](#)

Ataxia-teleangiectasia, [450](#)

ATG16L1, doenças autoimunes e, [333](#)

Ativação alternativa do macrófago, [16](#)

Ativação clássica de macrófagos, [16](#), [220–222](#)

Ativação cruzada, [114](#), [131](#)

Ativação da célula B, [239–262](#)  
complemento na, [159f](#)  
defeituosa, causada por imunodeficiência combinada grave, [447f](#)  
dependente de célula T, defeitos na, [446t](#), [448](#)  
dependente de T, interação CD40L:CD40 na, [248–249](#)  
extrafolicular, [249](#)  
induzida por antígeno, [242–243](#)  
na imunidade humoral, [11](#)  
na produção de IgE, [420](#)  
por antígenos e outros sinais, [242–244](#)  
regulação da, no FcRγRIIB, [260](#), [261f](#)

Ativação da célula T  
alterações metabólicas durante, [156](#)  
ativação de tirosinoquinases e lipídio quinase durante, [147](#), [149f](#)  
Bystander, [334](#)  
CD4 na, [205](#)  
correceptores CD4 e CD8 na, [147](#)  
defeitos na, imunodeficiências de, [448t](#), [449](#)  
defeituosa, causada por imunodeficiência combinada grave, [445](#)  
eventos precoces na fosforilação de tirosina na, [145](#), [148f](#)  
mudanças na molécula de superfície durante, [206](#), [207f](#)  
na imunidade mediada por célula, [10–11](#)

pares de ligantes de receptor envolvidos na, [145](#), [146f](#)

policlonal

para estudo das respostas de célula T, [513](#)

por superantígenos bacterianos, [343](#)

sinais para, [201–206](#)

coestimulação como, [202–206](#)

reconhecimento de antígeno como, [202–203](#)

visão geral da, [199–201](#)

Ativação da célula T CD8<sup>+</sup>

células T auxiliares na, [233](#)

citocinas na, [233–234](#)

natureza do antígeno e APCs para, [231–233](#)

Ativação da via alternativa do complemento, [70](#), [272–276](#)

Ativação de Akt, na ativação da célula T, [147](#), [149f](#)

Ativação de avaliador, [334](#)

Ativação de linfócitos alorreativos, [368](#)

coestimulação nas respostas da célula T aos aloantígenos na, [365](#)

funções efetoras, das células T alorreativas e, [366f](#), [367](#)

reação mista de linfócito na, [367](#)

Ativação de PKC-β, [160](#)

Ativação do complemento

fases tardias da, [278](#), [279f](#)

na imunidade inata à bactéria extracelular, [340](#)

regulação da, [281–284](#)

via alternativa da, [272–276](#)

via clássica da, [272](#), [273f](#), [276–278](#)

via da, [272–273](#), [278](#)

via da lectina da, [273f](#), [278](#)

Atopia, [417](#) See also [Alergia\(s\)](#)

genes associados a, [430t](#)

Autoanticorpos, doenças causadas pelos, [403](#)

Autoantígeno(s)

- apresentação anormal do, na autoimunidade, [330](#)
- tolerância ao, [261](#)
  - central, [316](#)
  - periférica, [316f](#), [317](#)
- tolerogenicidade do, fatores determinantes, [326](#), [327t](#)

Autofagia, [129](#)

Autofagossoma, [129](#)

Autoimunidade

- alelos MHC associados à, [331t](#), [332](#)
- alterações anatômicas nos tecidos causando, [334–335](#)
- anormalidades herdadas em único gene causando, [333t](#), [334](#)
- anormalidades imunológicas levando a, [329–331](#)
- bases genéticas das, [331–334](#)
- causando doenças de hipersensibilidade, [399](#)
- células T regulatórias na, [324](#)
- definição de, [315](#)
- imunodeficiências e, [438](#)
- infecções na, [334](#), [335f](#)
- influências hormonais da, [335](#)
- mecanismos da, postulado, [330f](#)
- patogênese da, [329–335](#)
- polimorfismos nos genes não HLA associados à, [332t](#), [333](#)

Autotolerância, [7](#), [196](#), [315](#)

- células T regulatórias na, [324](#)

## B

## Baço

- anatomia e funções do, [31](#)
- desenvolvimento do, defeitos herdados no, [441](#)
- migração de célula T imatura para, [47](#)
- morfologia do, [32f](#)

## Bactéria

### extracelular

- evasão imune pela, [344](#)
- imunidade à, [340–344](#)
  - adaptativa, [342f](#), [343](#)
  - inata, [340](#)
- mecanismos de patogenicidade da, [324](#)
- respostas imunes à, efeitos danosos da, [343](#)

### infecções de

- erradicação de, reações imunes mediadas por mastócitos na, [434](#)
- respiratória, exacerbações da asma e, [431](#)

### intracelular

- evasão imune pela, [344t](#), [347](#)
- imunidade à, [344–346](#)
  - adaptativa, [345f](#), [346](#)
  - inata, [344–345](#)
- mecanismos de patogenicidade da, [341t](#)

Bactéria extracelular, [340–344](#) See *also* [Bactéria, extracelular](#)

Bactéria intracelular, [344–347](#) See *also* [Bactéria, intracelular](#)

## BAFF, [188](#)

- antagonistas do, [410t](#)
  - para lúpus eritematoso sistêmico, [412](#)
- características do, [493](#)

Bainhas linfoides periarteriolas, [31](#), [32f](#)

Barreira hematencefálica, [309](#)  
    privilégio imune no olho e, [309](#)

Barreiras epiteliais  
    imunidade nas, [289–312](#)  
        características gerais das, [290](#)  
    no sistema imune inato, [63f](#), [64](#)

Bases genéticas, da autoimunidade, c, c, [331t](#), [333t](#), [334](#)

Basófilo(s), [14](#)  
    contagens normais de, [14t](#)  
    IgE se ligando ao, [422](#)  
    mediadores produzidos pelos, [421t](#)  
    morfologia dos, [14f](#), [421f](#)  
    nas respostas imunes inata e adaptativa, [16](#)  
    propriedades dos, c, [420](#), [422](#)

B-catenina níveis de, regulação dos, [140](#)

Bcl-6 (gene 6 de linfoma de célula B), c, [249](#), [250](#)  
    na proliferação de célula B germinativa, [259](#)

BCMA, [257](#)

BCR See [Receptores de célula B \(BCR\)](#)

BiP, na síntese da cadeia pesada e leve, [97](#)

Blimp-1, na diferenciação de célula B em plasmócito, [259](#)

Bloqueio coestimulatório  
    para doenças imunológicas, [409](#), [410t](#)  
    para induzir tolerância específica ao doador, [376](#)  
    para rejeição aguda do hospedeiro, [374](#)  
    terapêutico, [206](#)

BLyS (estimulador de linfócito B), [188](#)  
    na sobrevivência da célula B folicular, [242](#)

Bolsas branquiais, [26](#)

*Burst* respiratório, [270](#)

produção de espécies reativas de oxigênio, [77](#)

## C

C1, [276](#)

estrutura de, [277f](#)

ligação do, às porções Fc da IgM e IgG, [276](#), [277f](#)

regulação do, por C1 INH, [281](#), [282f](#)

C1q, [276–278](#)

C1r, [276–278](#)

C1s, [276–278](#)

C2, estrutura e função do, [277t](#)

C3

estrutura e função do, [275t](#), [277t](#)

fragmentos de, receptores para, [280t](#)

ligações tioésteres internas do, [275f](#)

C3b, clivagem mediada por fator-1 do, [282](#), [283f](#)

C3 convertase

inibição da formação de, [282](#)

na ativação do complemento, [272](#), [273f](#)

via alternativa, [274](#)

via clássica, [276–278](#)

C3d, na ativação da célula B, [243](#)

C4, estrutura e função de, [277t](#)

C5 convertase, [71](#)

em fases finais da ativação do complemento, [278](#), [279f](#)

inibição da formação de, [282](#)

na ativação do complemento, [272](#), [273f](#)

via alternativa, [276](#)



- via clássica, [276f](#), [278](#)
- Cadeia de união (J), nas moléculas multiméricas IgM e IgA, [95](#)
- Cadeia invariável, [128](#)
- Cadeia(s) leve(s)
  - na molécula de anticorpo, [89](#)
    - isotipos de, [93](#)
    - síntese de, [97](#)
  - substituta, [97–98](#)
- Cadeias pesadas, na molécula de anticorpo, [89](#)
  - formas membranares e secretadas das, [94](#), [95f](#)
  - regiões C das, [90](#)
    - distribuição tecidual das moléculas de anticorpo e, [104](#)
  - síntese das, [97](#)
- Cadeia  $\alpha$ , nos receptores Fc $\gamma$ , [268–269](#)
- Cadeia  $\gamma$  comum (CD132), [162](#)
  - na estrutura da IL-2, [207](#), [208f](#)
- Calcineurina, [152](#)
- Calexina, na síntese das cadeias pesada e leve, [97](#)
- Calmodulina, [152](#)
- Camundongo(s)
  - knockin*, [511](#)
  - knockout*, na modelagem de desordens de único gene, [510](#), [511f](#)
  - nude*, [54](#)
  - transgênico, no estudo de funções de genes, c, [510](#), [511f](#), [513](#)
- Câncer
  - de imunodeficiências adquiridas, [451](#)
  - suscetibilidade ao, relacionado com imunodeficiência, [438](#)
- Caquexia, por exposição ao TNF, [79](#)
- Carreador, [99–100](#)

## Caspases

executoras, [236](#)

na apoptose, [60](#)

na morte apoptótica, [325–326](#)

Catelicidinas, nas barreiras epiteliais, [64](#)

CCR7, [44](#)

nas células T imaturas, [30](#)

CD102 (ICAM-2), principais características da, [497t](#)

CD103 (subunidade  $\alpha_E$  da integrina), principais características da, [497t](#)

CD106 (molécula 1 de adesão da célula vascular [VCAM-1]), principais características da, [497t](#)

CD10, principais características da, [497t](#)

CD11a (LFA-1, cadeia  $\alpha$ ), principais características da, [497t](#)

CD11b (Mac-1; CR3), principais características da, [497t](#)

CD11c (p150, 95; cadeia CR4 $\alpha$ ), principais características da, [497t](#)

CD134 (OX40, TNFRSF4), principais características da, [497t](#)

CD14

principais características da, [497t](#)

receptores do tipo Toll e, [56](#)

CD150 (proteína 4 associada a linfócito T citotóxico [CTLA-4]), principais características do, [497t](#)

CD152, [161](#)

CD154 (ligante de CD40 [CD40L]), principais características da, [497t](#)

CD158 (receptor do tipo Ig assassina [KIR]), principais características da, [497t](#)

CD159a (NKG2A), principais características da, [497t](#)

CD159c (NKG2C), principais características da, [497t](#)

CD162 (ligante 1 de glicoproteína P-selectina [PSGL-1]), principais características da, [497t](#)

CD16a (Fc $\gamma$ RIIIA), principais características da, [497t](#)

CD16, ativando células NK, [66](#)

CD16b (FcγRIIIb), principais características da, [497t](#)

CD178 (ligante Fas [FasL]), principais características da, [497t](#)

CD18, principais características da, [497t](#)

CD19, [280](#)

- principais características do, [497t](#)

CD1a-d, principais características da, [497t](#)

CD1e, principais características da, [497t](#)

CD20

- antagonistas dos
  - para esclerose múltipla, [414](#)
  - para lúpus eritematoso sistêmico, [412](#)
- principais características da, [497t](#)

CD206 (receptor de manose), principais características da, [497t](#)

CD21 (CR2; receptor C3d), principais características da, [497t](#)

CD22, [261](#)

- principais características da, [497t](#)

CD23 (FcεRIIb), principais características da, [497t](#)

CD244 (2B4), principais características da, [497t](#)

CD247 (ligante de OX40), principais características da, [497t](#)

CD25 (cadeia α do receptor de IL-2)

- doenças autoimunes e, [333](#)
- indução de, na ativação da célula T, [206](#)
- principais características da, [497t](#)

CD267 (TACI), principais características da, [497t](#)

CD268 (receptor de BAFF), principais características da, [497t](#)

CD269 (BCMA [antígeno de maturação de célula B]), principais características da, [497t](#)

CD273 (PD-L2), principais características da, [497t](#)

CD274 (PD-L1), principais características da, [497t](#)

CD275 (ligante ICOS), principais características da, [497t](#)

CD278 (ICOS [coestimulador induzível]), principais características da, [497t](#)

CD279 (PD1), principais características da, [497t](#)

CD27, como marcador da célula T de memória, [211](#)

CD28

na estimulação da célula T, [203](#)

principais características da, [497t](#)

CD29, principais características da, [497t](#)

CD2 (LFA-2), principais características da, [497t](#)

CD30, principais características da, [497t](#)

CD314 (NKG2D), principais características da, [497t](#)

CD31 (molécula 1 de adesão plaqueta/endotélio [PECAM-1]), principais características da, [497t](#)

CD32 (FcγRII), principais características da, [497t](#)

CD34, [44](#)

principais características da, [497t](#)

CD357 (GITR), principais características da, [497t](#)

CD35 (receptor tipo 1 de complemento, CR1), principais características da, [497t](#)

CD363 (S1PR1 receptor 1 de fosfato-esfingosina-1 de tipo 1), principais características do, [497t](#)

CD36, principais características da, [497t](#)

CD3γ, principais características da, [497t](#)

CD3δ, principais características da, [497t](#)

CD3ε, principais características da, [497t](#)

CD4

nas células T auxiliares, [19](#)

principais características da

CD40

e CD40L, interação do, na ativação da célula B independente de T, [248–249](#)

na ativação da célula T, [205](#)

na troca de isotipo, [253](#)

principais características da, [497t](#)

CD43, principais características da, [497t](#)

CD44, principais características da, [497t](#)

CD45 (antígeno comum de leucócito [LCA]), [23–24](#)  
principais características da, [497t](#)

CD45RA, [23–24](#)  
nas células T imaturas, [211](#)

CD45RO, [23–24](#)  
nas células T de memória, [211](#)

CD45R, principais características da, [497t](#)

CD46 (proteína cofator de membrana [MCP]), [497t](#)

CD47, principais características da, [497t](#)

CD49d, principais características da, [497t](#)

CD54 (ICAM-1), principais características da, [497t](#)

CD55 (fator acelerador do decaimento [DAF]), principais características da, [497t](#)

CD58 (antígeno 3 associado à função de leucócito [LFA-3]), principais características da, [497t](#)

CD59, [281t](#)  
na regulação da formação de MAC, [283f](#), [284](#)  
principais características da, [497t](#)

CD5, principais características da, [497t](#)

CD62E (E-selectina), principais características da, [497t](#)

CD62L (L-selectina), principais características da, [497t](#)

CD62-P (P-selectina), principais características da, [497t](#)

CD64 (FcγRI), principais características da, [497t](#)

CD66e (antígeno carcinoembrionário), principais características da, [497t](#)

CD69  
indução do, na ativação da célula T, [206](#)  
na resposta antiviral, [80](#)  
principais características da, [497t](#)

CD74 (cadeia invariável do MHC de classe II [Ii]), principais características da, [497t](#)

CD79a (Ig $\alpha$ ), principais características da, [497t](#)

CD79b (Ig $\beta$ ), principais características da, [497t](#)

CD80 (B7-1), principais características da, [497t](#)

CD81 (alvo para antígeno 1 antiproliferativo [TAPA-1]), [280](#)

principais características da, [497t](#)

CD86 (B72-), principais características da, [497t](#)

CD88 (receptor de C5a), principais características da, [497t](#)

CD8, nas células T citotóxicas, [19](#)

CD8 $\alpha$ , principais características da, [497t](#)

CD8 $\beta$ , principais características da, [497t](#)

CD90 (Thy-1), principais características da, [497t](#)

CD94, principais características da, [497t](#)

CD95 (Faz), principais características da, [497t](#)

Célula(s)

classificação das, ativada por fluorescência, [506–509](#)

purificação, técnicas para, [509](#)

Células apresentadoras de antígeno (APCs), [8](#), [107](#)

células B como, [110t](#), [114](#) See also [Células B](#)

células dendríticas como, [110t](#), [114](#) See also [Células dendríticas](#)

células endoteliais vasculares como, [110t](#), [114](#)

funções das, [108–110](#), [114](#)

macrófagos como, [110t](#), [114](#) See also [Macrófago\(s\)](#)

natureza das, para ativação da célula T CD8<sup>+</sup>, [231–233](#)

profissional, [109](#)

tipos de, [17–18](#)

Células B

alorreativas, ativação das, [368](#)

alta afinidade, seleção da, [254–257](#)



anérgica, [327–328](#)

apresentação do antígeno pelas, [247f](#), [248](#)

ativadas, progênie das, [240](#)

B-1, [172](#)

captura e distribuição do antígeno para, [241–243](#)

com diversidade limitada de receptor de antígeno, [69](#)

deficiências das, características das, [438t](#)

desenvolvimento das, [184–190](#)

- estágios da pró-B e pré-B, [184–185](#), [189](#)
- estágios das, [184–185](#), [189](#)

diferenciação das

- defeitos nas, imunodeficiência variável comum das, [446t](#), [447](#)
- em plasmócitos secretores de anticorpo, [257](#), [258f](#)
- regulação transcricional das, [258–259](#)

diversidade nas, geração de, [182–184](#)

folicular, [188](#), [189f](#)

- respostas de anticorpos mediadas pelas, [241](#), [242f](#)

funções das, [18](#), [109f](#), [110t](#)

imaturas, [187–188](#)

maduras

- repertório das, seleção das, [190](#)
- subgrupos das, [188–189](#)

marginal, [259](#)

maturação das, expressão de Ig durante, [97](#), [99f](#)

memória See [Células B de memória](#)

migração das, [48](#)

na imunidade humoral, [3](#), [4f](#), [7](#), [8f](#)

organização anatômica das, [29f](#), [31](#)

populações das, com especificidade simples de antígeno, ativação induzida por antígeno das, [515](#)

- produção de cadeias  $\mu$  de membrana e secretadas nas, [257](#), [258f](#)
- proliferação das, ensaios para medição, [515–516](#)
- proliferação, nos centros germinativos, [249](#), [251f](#)
- receptores inibitórios nas, [161](#)
- recirculantes, [188](#)
- responsivas aos antígenos independentes de T, natureza das, [259](#)
- respostas funcionais das, aos antígenos, [244–245](#)
- subgrupos de, [18](#), [19t](#), [188–189](#)
- zona marginal, [31](#), [188–189](#)
  - respostas de anticorpos mediadas pelas, [241](#), [242f](#)
- Células B-1, [172](#), [188–189](#), [259](#)
  - respostas de anticorpo mediadas pelas, [241](#)
- Células B-2, [188](#)
- Células B alorreativas, ativação das, [368](#)
- Células B auxiliares, ativação inicial e migração das, [246f](#), [247](#)
- Células B de memória
  - destino das, regulação transcricional das, [258](#)
  - geração de, [258](#)
  - Ig de membrana expressa pelas, [23](#)
- Células B foliculares, [188](#), [189f](#)
  - respostas de anticorpo mediadas por, [241](#), [242f](#)
- Células B imatura(s)
  - Ig de membrana expressa pelas, [23](#)
  - migração das, [48](#)
- Células B maduras, subgrupos de, [188–189](#)
- Células B recirculantes, [188](#)
- Células da microdobra (M), no epitélio intestinal, [294](#), [295f](#)
- Células de Kupffer, [281](#)
- Células dendríticas, [8](#)

clássicas, [17](#), [110–112](#)  
foliculares, [17](#), [250](#)  
    na produção de CXCL13, [48](#)  
função de apresentação do antígeno das, [114](#)  
funções das, [109f](#), [110t](#)  
intestinal, apresentação de antígeno pelas, [295](#), [296f](#)  
maturação das, [17](#)  
morfologia e populações de, [110–112](#)  
na apresentação cruzada de antígenos para as células T CD8<sup>+</sup>, [131](#)  
na ativação da célula T imatura, [201–202](#), [207f](#)  
na captura do antígeno  
    e apresentação, [110–114](#)  
    e transporte, [111–114](#)  
na infecção por HIV, [458](#)  
na lâmina própria, na imunidade inata do intestino, [293](#)  
na pele, [112f](#)  
    nas respostas imunes inatas, [306–307](#)  
nas respostas da célula T pulmonar iniciadas pelas, [305](#)  
no linfonodo, [112f](#)  
no sistema imune gastrointestinal, [300](#)  
no sistema imune inato, [64](#)  
plasmocitoides, [17](#), [64](#), [111](#), [112t](#)  
Células dendríticas clássicas, [17](#)  
Células dendríticas foliculares (FDCs), [17](#), [250](#)  
    na infecção por HIV, [458](#)  
    na produção de CXCL13, [48](#)  
Células dendríticas plasmacitoides, [17](#), [64](#), [111](#), [112t](#)  
Células de Paneth, na imunidade inata no intestino, [293](#)  
Células doadoras, reconhecimento direto de aloantígenos nas, [363–364](#)

Células endoteliais vasculares, na apresentação do antígeno, [110t](#), [114](#)

Células epiteliais medulares tímicas, [191](#)

Células *natural killer* (NK), [7](#), [24](#)

ativação das, defeituosa, [449](#)

defeitos nas, [439t](#), [440](#)

funções das, [65](#)

na imunidade inata contra vírus, [348](#), [349f](#)

na imunidade tumoral, [389](#)

na resposta imune inata à bactéria intracelular, [344](#)

no sistema imune inato, [65](#)

receptores das, ativadores e inibitórios, [66](#)

estrutura e ligantes dos, [68](#)

funções dos, [66](#), [67f](#)

receptores inibitórios nas, [161](#)

uterina, [310](#)

Células linfoides inatas (ILCs), [33](#), [65](#)

na doença alérgica, [420](#)

Células pluripotentes, células-tronco hematopoéticas como, [25](#)

Células pré-B, [97–99](#), [185](#)

Células pró-B, [184](#), [185f](#)

Células reticulares fibroblásticas (FRCs), [29](#), [30f](#)

Células T

alorreativas, ativação das, [365](#), [366f](#)

anérgicas, [318–319](#), [321f](#)

antígenos reconhecidos pelas, propriedades das, [108](#)

ativadas, diferenciada de, em células efetoras, [209](#)

auxiliar, [7](#), [8f](#) See also [Células T auxiliares](#)

citotóxica, [7](#), [8f](#) See also [Células T citotóxicas \(CTLs\)](#)

com diversidade limitada de receptor de antígeno, [69](#)

deficiências das, características das, [438t](#)  
deleção das, por morte celular apoptótica, [325f](#), [326](#)  
efetora See [Células T efetoras](#)  
expansão clonal das, [209](#), [210f](#)  
expressão de gene nas, ativação dos fatores de transcrição regulando, [152–155](#)  
funções das, [18](#)  
imaturo See [Células T imaturas](#)  
maturação das, timo nas, [26](#)  
memória See [Células T de memória](#)  
migração e recirculação das, [43f](#), [48](#)  
na imunidade mediada por célula, [3](#), [4f](#), [7](#), [213–214](#)  
na terapia adotada para tumores, [393–394](#), [395](#)  
organização anatômica da, [29f](#), [31](#)  
polarização das, [217–218](#)  
receptores inibitórios na, [161](#)  
recirculação da, através dos tecidos linfoides, [47](#)  
reconhecimento de aloantígeno pelas, [363f](#), [365](#)  
reconhecimento do antígeno pelas, [10](#)  
regulatória, [7](#), [178f](#) See *also* [Células T regulatórias](#)  
respostas funcionais da, [206–211](#)  
restrição de MHC das, [115](#), [116f](#)  
seleção positiva das, [175](#)  
sinalização da, por proteína tirosinofosfatase, modulação das, [155](#)  
sinalização do receptor coestimulatório nas, [155–156](#)  
subgrupos de, [19](#)  
    funções dos, [228–229](#)  
tolerância central nas, [317–319](#)  
tolerância periférica nas, [318–320](#), [326](#)  
vias de sinalização da proteinoquinase ativada por mitógeno nas, [151f](#), [152](#)

vias de sinalização para

inibidores da, [372–373](#)

mediada por cálcio e PKC, [152](#), [153f](#)

A $\beta$

MHC restrito, maturação do, [195–196](#)

timócitos expressando, [196–197](#)

$\gamma\delta$

funções das, [228](#)

reconhecimento de antígeno pelas, [133](#)

timócitos expressando, [196–197](#)

Células T auxiliares, [7](#), [8f](#)

apresentação de antígeno nas células B às, [247f](#), [248](#)

ativação de célula V mediada pelas, [248f](#), [249](#)

ativação inicial e migração das, [246f](#), [247](#)

folicular, [240](#) See also [Células T auxiliares foliculares \(T<sub>FH</sub>\)](#)

na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [233](#)

na maturação da afinidade, [11](#)

na troca de classe, [11](#)

produtoras de IL-4, ativação das, [419](#)

respostas dos anticorpos aos antígenos proteicos dependentes de, [245–249](#)

Células T auxiliares foliculares (T<sub>FH</sub>), [240](#)

indução das, [250–251](#)

Células T CD4<sup>+</sup>

apresentação do complexo peptídeo-MHC de classe II às, [131](#)

na defesa contra bactéria intracelular, [345](#), [346f](#)

na infecção por HIC, [452–453](#), [455–458](#)

Células T CD8<sup>+</sup>

apresentação cruzada de antígenos às, [114](#), [131](#)



apresentação de antígenos às, [114](#)  
MHC de classe I restrita, [126f](#)  
respostas das  
    específicas para antígenos tumorais, [389](#)  
    inibição das, [234](#)  
tolerância periférica nas, [326](#)  
Células T citolíticas, [7](#) See also [Células T citotóxicas \(CTLs\)](#)  
Células T citotóxicas (CTLs), [7](#), [8f](#), [18](#)  
ativação das  
    defeituosa, [449](#)  
    reconhecimento do antígeno e, [235](#), [236f](#)  
CD8<sup>+</sup> See [CTLs CD8<sup>+</sup>](#)  
citotoxicidade mediada pelas, mecanismos das, [234–237](#)  
diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup> em, [231–232](#), [234](#)  
doenças causadas pelas, [408–409](#)  
morte da célula-alvo pelas, [235–237](#)  
na imunidade adaptativa aos vírus, [348–350](#)  
    lesão tecidual pelas, [350](#)  
respostas das, ao HIV, [460](#)  
Células T de memória  
    central, [48](#)  
    desenvolvimento das, [209–211](#)  
    efetoras, [48](#)  
    geradas pela ativação da célula T, [200](#)  
    migração das, [48](#)  
    moléculas de superfície expressas pelas, [23–24](#)  
    na pele, [307](#)  
    propriedades das, [210–211](#)  
Células T efetoras

ativação das, [200](#)

CD4<sup>+</sup>, [213–229](#) See also [Células T CD4<sup>+</sup> efectoras](#)

CD8<sup>+</sup>, [213–229](#) See also [Células T CD8<sup>+</sup> efectoras](#)

diferenciação das células T ativadas em, [209](#)

funções das, [200](#)

migração para locais de infecção, [46f](#), [48](#), [217](#)

retenção das, nos locais de infecção, [217](#)

Células T efectoras CD4<sup>+</sup>, [213–229](#)

células TH17 como, [225–227](#)

desenvolvimento das, [217–218](#), [226](#)

funções das, [226–227](#)

na defesa do hospedeiro, [227](#)

propriedades das, [216–217](#)

células TH1 como, [217–222](#)

ativação de macrófago pelas, [220–222](#)

desenvolvimento das, [217–219](#)

funções das, [219–220](#), [222](#)

propriedade das, [216–217](#)

células TH2 como

desenvolvimento das, [217](#), [222f](#), [223](#)

funções das, [223–225](#)

na defesa do hospedeiro, [223–225](#)

propriedades das, [216–217](#)

eliminação de microrganismos pelas, [214](#)

funções das, [213](#)

reações das, na imunidade mediada por célula, [215f](#)

subgrupos de, [216–218](#)

Células T efectoras CD8<sup>+</sup>, [231–238](#)

diferenciação das, em células T citotóxicas, [231–232](#), [234](#)

produção de citocinas pelas, [237](#)

#### Células T imaturas

ativação das, [199–202](#)

migração das, para os linfonodos, [44](#), [46f](#)

saída das, dos linfonodos, [45](#), [47f](#)

#### Células T regulatórias, [7](#), [8f](#)

desenvolvimento das, [18](#), [318f](#)

funções defeituosas das, na IBD, [303](#)

geração e manutenção das, [323–324](#)

heterogeneidade das, marcadores fenotípicos e, [323](#)

manutenção das, coestimulação mediada por B7:CD28 na, [202–203](#)

mecanismos de ação das, [323](#)

na autotolerância e autoimunidade, [324](#)

na regulação da imunidade gastrointestinal, [301](#)

naturais, [323](#)

supressão dos linfócitos autorreativos pelas, [321–322](#), [324](#)

transferência ou indução de, para indução de tolerância específica do doador, [376](#)

#### Células-tronco hematopoéticas (HSCs), [25](#)

no desenvolvimento do linfócito, [172](#)

transplante de, [379–381](#)

#### Células T<sub>H</sub>1, [24](#)

respostas imunes mediadas por, anormais, na IBD, [303](#)

#### Células T<sub>H</sub>17, [24](#), [62](#)

no sistema imune de mucosa, [300](#)

respostas imunes mediadas pelas, anormal, na IBD, [303](#)

#### Células T<sub>H</sub>2, [24](#)

ativação das, na hipersensibilidade imediata, [418](#)

- na doença alérgica, [420](#)
- na imunidade de barreira, [301](#)
- respostas IgE dependentes de, nas alergias alimentares, [303–304](#)

Centroblastos

- mutações somáticas nos, [257](#)
- tempo de duplicação dos, [249–250](#)

Centrócitos, alta afinidade, [257](#)

Centros germinativos, [18](#)

- células B nos, proliferação, [249–250](#)
- dos folículos, [28](#), [249–250](#)
- seleção de alta afinidade da célula B nos, [256](#)

Cepas alogeneicas de camundongos, [114–115](#)

Cérebro, privilégio imune no, [309](#)

Chaperonas, na síntese da cadeia pesada e leve, [97](#)

Chegada de leucócito, [35](#)

CHIPS (proteína inibitória de quimiocina de estafilococos), [287](#)

Choque

- endotóxico, [79](#)
- séptico, [79](#)

Choque séptico, [79](#)

- na resposta à bactéria extracelular, [343](#)

Ciclofilina, [154](#)

Ciclosporina, na imunossupressão, [372–374](#)

Cinina C2, [281](#)

Citocina(s)

- antagonistas das, para doenças imunológicas, [409](#), [410t](#)
- característica das, [493](#)
- efeitos locais e sistêmicos das, na inflamação, [78–80](#)
- estimulando a função NK, [69](#)

hematopoéticas, [26](#)

inflamação mediada pelas, doenças causadas pelas, [406–409](#)

na amplificação da imunidade do hospedeiro aos tumores, [392](#)

na ativação do eosinófilo, [427–428](#)

na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [233–234](#)

na estimulação da imunidade adaptativa, [83](#)

na expressão de MHC, [118–119](#)

na imunidade inata, [2](#)

na regulação da imunidade do sistema gastrintestinal, [301](#)

produção de

- da ativação dos mastócitos, [424](#)
- pelos células T CD8<sup>+</sup> efetoras, [237](#)

pró-inflamatórias, [73t](#), [75](#)

propriedades gerais das, [30](#)

receptores para, [161–168](#) See also [Receptores de citocinas](#)

tipo I, [162](#)

T<sub>H</sub>17 produzida por, [226–227](#)

T<sub>H</sub>1 produzida por, [217f](#), [219–220](#)

T<sub>H</sub>2 produzida por, [224](#)

Citólise, mediada por complemento, [284](#), [285f](#)

Citometria de fluxo, [506–509](#)

Citotoxicidade mediada por célula dependente de anticorpo (ADCC), [66–67](#), [271](#)

C-Jun *N*-terminal quinase (JNK), [151–152](#)

Clivagem, na recombinação C(D)J, [181](#), [182f](#)

*Cluster* de ativação supramolecular (SMAC), formação do, [149](#)

Coestimuladores

- na amplificação da imunidade do hospedeiro aos tumores, [392](#)
- na ativação da célula T, [109](#), [202–206](#)

- nas respostas da célula T aos aloantígenos, [365](#)
- no reconhecimento de antígeno pelos linfócitos, [10](#)
- Cofator de membrana para proteína (MCP CD46), [281t](#)
- Coinibidores, das células T, [204](#)
- Colectinas, [72](#)
- Complemento
  - funções do, [284](#), [285f](#)
  - na ativação da célula B, [159f](#)
- Complexo de ataque à membrana (MAC), [71](#)
  - formação do, regulação do, [283f](#), [284](#)
- Complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC), [155](#)
- Complexo do receptor de célula T (TCR)
  - componentes do, [145](#)
  - sinalização da célula T e, [143–156](#)
- Complexo hapteno-carreador, [99–100](#)
- Complexo maior de histocompatibilidade (MHC), [114–124](#)
  - alelos do
    - associado à autoimunidade, [331](#)
    - correspondência de, sobrevivência do enxerto e, [371](#), [372f](#)
  - apresentação de antígeno associada a significado fisiológico do, [131–133](#)
  - classe I, deficiências na, recessiva autossômica, [445](#)
  - descoberta do, [114–116](#)
    - em camundongos, [114–115](#)
    - em humanos, [115](#)
  - genes MHC e, [115–119](#)
    - locus* humano e de camundongo para, [117f](#), [118](#)
  - humano, mapa molecular do, [117](#), [118f](#)
  - restrição, [115–116](#)
- Complexo receptor de antígeno da célula B (BCR), [156–157](#), [160](#)



estrutura do, [156](#)

ligação cruzada do, mediada por antígeno, [244](#), [245f](#)

Complexos CD1-lipídio, reconhecimento pela célula NKT do, [133](#)

Componentes celulares, do sistema imune inato, [63–69](#)

- barreiras epiteliais como, [63f](#), [64](#)
- células assassinas naturais como, [65](#)
- células dendríticas como, [64](#) See also [Células dendríticas](#)
- células linfoides inatas como, [65](#)
- células T e B com diversidade limitada de receptor de antígeno como, [69](#)
- fagócitos como, [64](#)
- mastócitos como, [69](#) See also [Mastócito\(s\)](#)

Componente secretor, do receptor poli-Ig, [298](#)

Comprometimento, na diferenciação de subgrupo de célula T, [218](#)

Constante *off-rate*, [510](#)

Constante *on-rate*, [510](#)

Contagens celulares sanguíneas, normais, [14f](#)

Contração, nas respostas imunes adaptativas, [6f](#), [7](#)

Controladores de elite, do HIV, [460](#)

Corantes fluorescentes, para ensaios de proliferação, [514](#)

Corpos apoptóticos, [325f](#), [326](#)

Correceptor(es), [137](#)

- ativação celular dos, na sinalização do receptor de antígeno, [143](#)
- CD4 e cD8, na ativação da célula T, [147](#)
- para células B, receptores de complemento CR2/CD21 como, [158–159](#)

Correceptores de CD4, na ativação da célula T, [147](#)

Correceptores de CD8, na ativação da célula T, [147](#)

Córtex, linfonodo, microanatomia do, [30f](#)

Córtex parafolicular, [28](#), [29f](#)

Corticosteroides

na imunossupressão, [375](#)  
para asma, [432](#), [433f](#)  
para doenças imunológicas, [409–411](#)  
Cromatografia por imunoafinidade, [505f](#), [506](#)  
CSF de monócito (M-CSF, CSF1), características do, [493](#)  
CTLA-4, [161](#)  
    indução de, na ativação da célula T, [206](#)  
    na regulação das respostas da célula T, [320](#), [322f](#)

CTLs CD8<sup>+</sup>  
    funções efetoras dos, [234–237](#)  
    na defesa contra bactéria intracelular, [345](#), [346f](#)  
    na defesa do hospedeiro, [238](#)  
    na morte de células tumorais, [388](#)

CTLs See [Células T citotóxicas \(CTLs\)](#)

CXCL13, na migração da célula B, [48–49](#)

CytoTOF, [509](#)

## D

Deaminase induzida por ativação (AID)

    colaboração da, com transcrição de linha germinativa, mecanismo da, [254](#)  
    na troca de isotipo, [254](#)

Dectinas, [62](#)

Defeitos autossômicos recessivos em pontos de checagem pré-BCR, [446](#)

Defeitos na sinalização do ponto de checagem, pré-TCR, [442t](#), [444–445](#)

Defeitos na sinalização do ponto de checagem, pré-TCR, [442t](#), [444–445](#)

Defensinas, [59](#)

    na imunidade inata do intestino, [292](#)

    nas barreiras epiteliais, [64](#)

Defesa antiviral, [9](#)

como resposta do sistema imune inato, [52](#)

Defesa do hospedeiro

- contra infecções helmínticas, células T<sub>H</sub>2 na, [223–225](#)
- CTLs CD8<sup>+</sup> na, [238](#)
- interleucina 17 na, [226–227](#)
- nas barreiras mucosas, células T<sub>H</sub>2 na, [225](#)

Deficiência de adenosina deaminase (ADA), [442–444](#)

Deficiência do receptor de complemento, [286](#)

Deficiência em fosforilase nucleosídeo purina (PNP), [442–444](#)

Deficiência na adesão de leucócito (LADs), [42](#), [286](#), [439t](#), [440](#)

Deficiências autossômicas recessivas de MHC de classe I, [445](#)

Degranulação, da ativação do mastócito, [423–424](#)

- doenças alérgicas e, [431](#)

Deriva antigênica, [350](#)

Deleção clonal, [175](#), [316](#)

Dermatite atópica, [307](#)

Desenvolvimento tímico, epitelial, defeituoso, [442t](#), [443](#)

Desordens multissistema, com imunodeficiência, [450](#)

Desregulação imune, poliendocrinopatia, enteropatia, ligada ao X (IPEX), [303](#)

Dessensibilização, para doenças alérgicas, [433–434](#)

Desvio antigênico, [350](#)

Desvio imune associado à câmara anterior, [309](#)

Determinantes, [5](#), [132](#)

- antigênico, [100](#), [101f](#)
- nas macromoléculas, [100](#)
- sobreposição/não sobreposição, [100](#)

Determinantes antigênicos, [100](#), [101f](#)

Determinantes conformacionais, [100](#)

Determinantes lineares, [100](#)

Determinantes não antigênicos, 100

Diabetes melito

resistente à insulina, 403t

tipo 1, 414

novas terapias para, 415

patogênese do, 415

Digestão proteolítica

de proteínas citossólicas, 126–127

de proteínas vesiculares, 129

Discriminação do próprio-não próprio, 315

Disgenesia reticular, 442t, 444

Disparadores ambientais, para autoimunidade, 329, 330f

Diversidade

na imunidade inata e adaptativa, 3t

nas respostas imunes adaptativas, 5, 6t

no reconhecimento do antígeno, 103

Diversidade combinatorial, nas células B e T, 182

Diversidade juncional, nas células B e T, 183, 184f

Divisão assimétrica, das células-tronco hematopoéticas, 25

Dobra de Ig, 66

Doença alérgica

células T<sub>H</sub>2 e células linfoides inatas na, 420

em humanos, patógenos e terapia da, 431–434

imunoterapia para, 433–434

suscetibilidade genética à, 430t, 431

Doença celíaca, 303

Doença da imunodeficiência combinada grave ligada ao (X-SCID), 173

Doença da rejeição *versus* hospedeiro (GVHD), 379–380

Doença de Graves, 403t

Doença do soro, [95](#), [404–406](#)

Doença granulomatosa crônica (CGD), [77](#), [439](#)

Doença hemolítica do recém nascido, [379](#)

Doença inflamatória intestinal (IBD), [302–303](#), [415](#)

Doenças autoimunes, [7](#), [315](#), [399](#)

- anormalidades da autotolerância nas, [7](#)
- características gerais das, [329–331](#)

Doenças de hipersensibilidade, [399–415](#)

- causas das, [399–400](#)
- definições das, [399](#)
- imediate (tipo I), [400](#)
- imunológica, procedimentos terapêuticos para, [409–411](#)
- mecanismos e classificação das reações nas, [400](#)
- mediada por anticorpo (tipo II), [400t](#), [401f](#), [405](#)
- mediada por célula T (tipo IV), [400](#), [405–409](#)
- mediada por imunocomplexos (tipo III), [400](#), [401f](#), [403–406](#)

Doenças de hipersensibilidade mediadas por anticorpo, [400t](#), [401f](#), [405](#)

- causadas por anticorpos contra células fixas e antígenos teciduais, [402f](#), [403](#), [404f](#)
- mediada por imunocomplexos, [403–406](#)

Doenças de hipersensibilidade mediadas por células B, [400](#), [405–409](#)

Doenças de hipersensibilidade mediadas por imunocomplexos, [400](#), [401f](#), [403–406](#)

- modelos experimentais de, [404–405](#)
- patogênese das, [405](#)

Doença(s) de imunodeficiência(s), [437–462](#)

- adquirida, [450t](#), [451](#) *See also* [Síndrome da imunodeficiência adquirida \(AIDS\)](#)
- características gerais das, [437–438](#)
- congenita, [438–450](#) *See also* [Imunodeficiências congênitas](#)

Doenças inflamatórias

- imunomediadas, [329](#), [401](#)

patogênese das, células T<sub>H</sub>17 nas, [227](#)

Doenças mediadas por imunocomplexos, [286](#)

Doenças micobacterianas, suscetibilidade mendeliana às, [439t](#), [441](#)

Domínio da imunoglobulina, [38](#)

    estrutura do(s), [88–90](#)

Domínio de homologia de Pleckstrin (PH), [140–141](#)

Domínio do receptor do tipo Toll/IL-1 (TIR), [164](#)

Domínio Rel de homologia, nas proteínas do fator nuclear κB, [166](#)

Domínio SH2 contendo inositol fosfatase (SHIP), [155](#)

Domínio Src de homologia 2 (SH2), [140f](#), [141](#)

Domínio tioéster, [273–275](#)

Ducto torácico, [28](#)

## E

Eczema, patogênese e terapia do, [433](#)

Edema angioneurótico hereditário, [281](#)

Edição de receptor, [175](#), [190](#)

    na tolerância central, [316](#)

Efeito de Warburg, durante a ativação da célula T, [156](#)

Efeito do enxerto *versus* leucemia, [395](#)

Efeito hapteno-carreador, [247–248](#)

Efeitos aloestéricos, [100](#)

Eletroforese, [88](#)

ELISA (ensaio de imunoabsorção ligado à enzima), [503](#), [504f](#)

Endossomas, [129](#)

    transporte de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe II para, [130](#)

Ensaio de imunoabsorção ligado à enzima (ELISA), [503](#), [504f](#)

Ensaio de imunoabsorção ligado a sanduíche de enzima, [503](#), [504f](#)

Ensaio de proliferação, para células T, [514](#)



Ensaio de secreção de citocina, para quantificação de células T, 515

Enteropatia sensível ao glúten, 304

Enxerto(s), 359

alogeneico, 360

autólogo, 360

órgão, funcionamento, pessoas nos EUA com, 359, 360f

singeneico, 360

xenogeneico, 360

Enzimas

granular, derivadas de mastócitos, 425–427

proteolíticas, na fagocitose, 76f, 77

Eosinófilos, 14

ativação dos, 224

ativados, nas reações tardias, 427–428

contagens normais de, 14t

mediadores produzidos pelos, 421t

morfologia dos, 14f, 421f

na imunidade mediada por célula, 10

nas respostas imunes inata e adaptativa, 16

propriedades dos, 420t, 427–428

Epítomos, 5, 100

antigênicos, 100, 101f

imunodomimantes, 132

Eritoblastose fetal, 379

ER See [Retículo endoplasmático \(ER\)](#)

Esclerose múltipla (MS), 413–414

novas terapia para, 414

patogênese da, 414

E-selectina, no recrutamento de leucócitos, 37

Espalhamento de epítipo, nas desordens autoimunes, [329](#)

Especialização, nas respostas imunes adaptativas, [6t](#), [7](#)

Espécies reativas de oxigênio (ROS), na fagocitose, [76f](#), [77](#)

Especificidade

na imunidade adaptativa, [2](#), [3t](#), [5–6](#)

na imunidade passiva, [5f](#)

na inata, [3t](#)

no reconhecimento do antígeno, [102–103](#)

Estado antiviral, [80](#)

Evasão imune

por bactérias extracelulares, [344](#)

por bactérias intracelulares, [344t](#), [347](#)

por HIV, mecanismos de, [460](#)

por parasitas, [353t](#), [354](#)

por vírus, [350–352](#)

Exaustão da célula T, [234](#), [326](#)

Exclusão alélica, [187](#)

Exclusão de isotipo de cadeia leve, [187–188](#)

Éxons I, na troca de isotipo, [253–254](#)

Expansão clonal, [20](#)

das células T, [209](#), [210f](#)

na ativação da célula T, [199](#), [200f](#)

nas respostas imunes adaptativas, [6t](#), [7](#)

## F

Fagócito(s)

ativação do

por bactéria extracelular, [340](#)

receptores Fcγ no, [270](#), [271f](#)

- ativado, morte de microrganismos pelo, [76f](#), [78](#)
- atividade microbida defeituosa do, [439](#)
- defeitos no, [439t](#), [440](#)
- mononuclear, [14–16](#)
  - maturação do, [15f](#)
  - morfologia do, [15f](#)
- na eliminação do microrganismo, [214–216](#)
- na resposta imune adaptativa, [9](#)
- na resposta imune adaptativa à bactéria intracelular, [345](#)
- na resposta imune inata à bactéria intracelular, [344](#)
- no sistema imune inato, [64](#)
- respostas funcionais do, [13–14](#)

Fagocitose

- como função do complemento, [284](#), [285f](#)
- de microrganismos, mediada por anticorpo, [267–271](#)
- mediado por anticorpo, [401f](#), [402](#)
- na resposta imune adaptativa, [9](#)
- na resposta inflamatória, [76f](#), [78](#)
- receptores Fcγ na, [268](#), [270](#)

Fagócitos mononucleares, [14–16](#)

- maturação dos, [15f](#)
- morfologia dos, [15f](#)

Fagolisossoma, [129](#)

- na fagocitose, [77](#)

Fagossoma, [129](#), [270](#)

- na fagocitose, [77](#)

Família B7:CD28 de coestimuladores, [202–203](#), [205](#)

- principais membros da, [204](#)

Família de receptor de hematopoetinas, [162](#), [163f](#)

Família de Src quinases, [140](#)

Família do receptor de interferon, [162](#), [163f](#)

Família do receptor do fator de necrose tumoral (TNR), [162–164](#)  
membros da, [162](#)  
na ativação da célula T, [205](#)  
sinalização através, [163](#), [164f](#)

Família IL-1/TLR, [164](#)

Família Syk quinases, [140f](#), [141](#)

Fator 2 do tipo Kruppel, na manutenção do fenótipo de célula T imatura, [24](#)

Fator ativador de plaqueta (PAF), derivado de mastócitos, [426f](#), [427](#)  
características do, [493](#)  
na geração da célula T regulatória, [323](#)  
na regulação da imunidade do sistema gastrointestinal, [301](#)  
papel do, no sistema imune, [323](#)  
produção e estrutura do, [323](#)

Fator B, [274](#), [275t](#)

Fator D, [274](#), [275t](#)

Fator da célula-tronco, [139](#)  
características do, [493](#)

Fator de aceleração de decaimento (DAF), [281t](#), [282](#)

Fator de ativação de célula B (BAFF), [21](#)  
na sobrevivência da célula B folicular, [242](#)

Fator de crescimento da célula T (TCGF), [207](#)

Fator de necrose tumoral (TNF), [21](#)  
antagonistas do, [410t](#)  
para lúpus eritematoso sistêmico, [412](#)  
características do, [493](#)  
efeitos sistêmicos do, [78](#), [79f](#)  
na resposta inflamatória, [73–74](#)

Fator de transcrição E2A, no comprometimento de linfócitos para linhagem B, [172–173](#)

Fator de transcrição EBF, no comprometimento de linfócitos para linhagem B, [172–173](#)

Fator de transcrição GATA-3, no comprometimento de linfócitos para linhagem T, [172–173](#)

Fator de transcrição Notch-1, na comunicação linfócito à linhagem T, [172–173](#)

Fator de transcrição Pax-5, no comprometimento de linfócitos com linhagem B, [172–173](#)

Fatores ambientais, na alergia, [431](#)

Fatores de transcrição

no desenvolvimento do linfócito, [172–173](#)

regulando a escolha entre o destino da célula B de memória e a diferenciação em plasmócitos, [258–259](#)

regulando a expressão do gene da célula T, ativação do, [152–155](#)

Fatores estimuladores de colônia, [26](#)

Fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF), na produção de neutrófilo, [51](#)

Fator estimulador de colônia de macrófago, [51](#)

Fator H, [281t](#), [282](#)

Fator I, [281–283](#)

Fator inibitório de leucemia (LIF), características do, [493](#)

Fator nefrítico C3 (C3NeF), [286](#)

Fator nuclear de células T ativadas (NFAT), [154](#)

Fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)

ativação do, vias do, [166–168](#)

defeitos herdados no, [441](#)

na regulação da expressão do gene em célula T, [155](#)

Fator  $\beta$  de transformação de crescimento (TGF- $\beta$ )

Febre reumática

aguda, [403t](#)

após infecção da faringe, [343](#)

Fendas de ligação ao peptídeo, [120–121](#), [123f](#), [124](#)

Feto, de mamífero, privilégio imune no, [310–312](#)

Ficolinas, [72](#)

Fingolimod (FTY720), [47](#)

para esclerose múltipla, [414](#)

Folículos

célula B, [188](#)

linfoide, [28](#), [29f](#)

primário e secundário, [28](#)

Folículos de célula B, [188](#)

Fosfolipase C específica de fosfatidilinositol (PLC), na sinalização de BCR, [160](#)

Fosforilação de tirosina, na ativação da célula T, [145](#), [148f](#)

FoxP3, [322f](#), [323](#)

Fractalina, [43](#)

Fragmento de C3b inativado (iC3b), [38](#)

Fragmento Fc, [90](#), [91f](#)

Funções efetoras

das células T alorreativas, [367](#)

dos anticorpos, características relacionadas aos, [103–104](#)

Fungos

imunidade aos, [347–348](#)

mecanismos de patogenicidade dos, [341t](#)

## **G**

Gamaglobulinas, [88](#)

Gangliosídeos, [388](#)

Gene(s)

associados a atrofia e asma, [430t](#)

autofagia, [84](#)



*Ig*, organização da linha germinativa do, 176–177  
maior de histocompatibilidade, 115–119  
    *locus* humano e murino para, 116–117  
menor de histocompatibilidade, 115  
mutado, antígenos tumorais como produtos dos, 385–386  
receptor de antígeno See [Genes do receptor de antígeno](#)  
resposta imune, 115

Genes 1 e 2 de ativação de recombinação, 181, 182f

Genes de autofagia, 84

Genes de resposta imune, 115

Genes do receptor de antígeno  
    diversidade dos, 178, 179f  
    nas células B e T, reorganização dos, 176–184  
    no desenvolvimento do linfócito, reorganização e expressão dos, 174

Genes *CD40L*, mutações nos, 248

Genes *Ig*  
    diversidade nos, geração de, mecanismos de contribuição para, 183t  
    mutação somática do, maturação de afinidade e, 254–255, 257  
    organização da linha germinativa dos, 176–177

Genes *Ig V*, hipermutação somática nos, 254–255, 257

Genes *TCR*, diversidade nos, geração de, mecanismos que contribuem para, 183t

Geração de célula sanguínea, medula óssea na, 24–26

Glicocálice, 292

Glicólise aeróbica, durante ativação da célula T, 156

Globulina antitímócito, para rejeição aguda de transplante, 374

Glomerulonefrite  
    mediada por anticorpo, 404f  
    pós-estreptococos, 343, 406t

GlyCAM-1 (molécula de adesão celular 1 contendo glicano), 44

Gota, ativação do inflamossoma na, tratamento e, [61](#)  
gp210, [75](#)  
Grandes linfócitos, [21](#)  
    morfologia dos, [23f](#)  
Granulisina, [236](#)  
Granulócito CSF (G-CSF, CSF3), características do, [493](#)  
Granulócito-monócito CSF (GM-CSF, CSF3), características do, [493](#)  
Grânulos azurófilos, [14](#)  
Granzimas, [65–66](#)  
    funções das, [236](#), [237f](#)

## H

Haplótipos *KIR*, [69](#)  
Haplótipos MHC, [118](#)  
Hapteno, [99](#), [108](#)  
Helmintos, eliminação dos, mediada por anticorpo, [271](#)  
Hematopoese, [24](#), [25f](#)  
Hemoglobinúria paroxismal noturna, [282](#)  
Hibridomas, [95](#), [96f](#)  
Hipermutação somática, nos genes *Ig V*, [254](#), [255f](#)  
Hipersensibilidade  
    imediate, [417](#) See also [Reações alérgicas alergia\(s\)](#)  
    tipo retardada, [216](#), [407–409](#)  
Hipersensibilidade imediata, [400](#) See also [Reações alérgicas alergia\(s\)](#)  
Hipersensibilidade tipo retardada (DTH), [216](#), [407–409](#)  
Hipertireoidismo, [403t](#)  
Hipogamaglobulinemias, [446t](#)  
Hipótese da seleção clonal, [10](#), [11f](#)  
Hipótese do duplo sinal para a ativação do linfócito, [81](#)

Histamina, derivada de mastócitos, [425](#), [426f](#)

Histocompatibilidade-2, [114–115](#)

HIV See also [Vírus da imunodeficiência humana \(HIV\)](#)

HLA-E, [161](#)

HLA-G, nas células trofoblásticas, [310](#)

HLA See [Antígenos de leucócito humano \(HLA\)](#)

Homeostase, nas respostas imunes adaptativas, [6t](#), [7](#)

Hormônios, na autoimunidade, [335](#)

Hospedeiro, [359](#)

HSCs See [Células-tronco hematopoéticas \(HSCs\)](#)

## I

Idiótipos, de anticorpos, [95](#)

### IgA

deficiência de, seletiva, [446t](#), [447](#)

forma e funções da, [94t](#)

funções efetoras da, [252f](#), [266–267](#)

intestino, [296–299](#)

troca de classe no, [293](#), [299f](#)

IgD, funções efetoras da, [267t](#)

### IgE

formas e funções da, [94t](#)

funções efetoras da, [252f](#), [267t](#)

ligação da, aos mastócitos e basófilos, [422](#)

na imunidade mediada por célula, [10–11](#)

produção da, [417](#)

reações alérgicas dependentes de, [417–419](#) See also [reações alérgicas dependentes de IgE](#)

reações imunes mediadas pela, papel protetor da, [434](#)

### IgG

deficiência de, seletiva, [446t](#), [447](#)

formas e funções da, [94t](#)

funções efetoras da, [252f](#), [267t](#)

intestino, [298](#)

intravenosa, para doenças imunológicas, [410](#)

porção Fc da, ligação de C1 à, [276](#), [277f](#)

IgG1, [66](#)

IgG3, [66](#)

### IgM

formas e funções da, [94t](#)  
funções efetoras da, [252f](#), [267t](#)  
na imunidade humoral, [11](#)  
porção Fc da, ligação de C1 à, [276](#), [277f](#)

Imagem de Nomarski, [150f](#)

Imunidade

à bactéria extracelular, [340–344](#) *See also* [Bactéria, extracelular](#)  
à bactéria intracelular, [344–347](#) *See also* [Bactéria; intracelular](#)  
adaptativa, [2](#)  
    características gerais da, [289](#)  
a fungos, [347–348](#)  
aos microrganismos, [339–356](#)  
a parasitas, [352–354](#) *See also* [Parasita\(s\)](#)  
a tumores, [383–397](#) *See also* [Imunidade tumoral](#)  
a vírus, [348–352](#) *See also* [Vírus](#)  
humoral *See* [Imunidade humoral](#)  
inata, [2](#), [51–85](#) *See also* [Imunidade inata](#)  
mucosa, [289](#) *See also* [Imunidade de mucosa](#)  
neonatal, [287–288](#)  
regional, [289](#)

Imunidade adaptativa, [2–5](#)

à bactéria extracelular, [342f](#), [343](#)  
a bactérias intracelulares, [345f](#), [346](#)  
aos fungos, [348](#)  
aos vírus, [348–350](#)  
características da, [3t](#)  
    comparada com a imunidade inata, [52](#)  
especificidade da, [53t](#)  
estimulação da, [81–83](#)

gastrointestinal, [294–301](#)

linfócitos na, [18–24](#)

mecanismos da, [2](#), [3f](#)

na promoção do crescimento tumoral, [396–397](#)

no sistema respiratório, [305](#)

Imunidade adquirida See [Imunidade adaptativa](#)

Imunidade de barreira, [301](#)

células T<sub>H</sub>2 na, [255](#)

Imunidade de mucosa, [304–305](#)

gastrointestinal, [291f](#), [304](#)

geniturinária, [305](#)

respiratória, [304–305](#)

Imunidade do hospedeiro, aos tumores, aumento da, [392](#)

Imunidade do sistema gastrointestinal, [291f](#), [304](#)

adaptativo, [294–301](#)

anatomia funcional no, [294–296](#)

humoral, [296–300](#)

inato, [292–293](#)

mediado por célula T, [300–301](#)

regulação do

microbioma comensal no, [302](#)

por células T regulatórias e citocinas, [301](#)

Imunidade específica See [Imunidade adaptativa](#)

Imunidade humoral, [3](#), [4f](#)

à bactéria extracelular, [342](#)

aos vírus, [348](#)

defeitos na, nas imunodeficiências combinadas graves, [441–443](#), [445](#)

induzida por vacina, [266t](#)

mecanismos efetores da, [265–288](#)



na resposta imune adaptativa, 11  
no trato gastrintestinal, 296–300  
sistema complemento como mecanismo de, 272–287 See also [sistema complemento](#)  
visão geral da, 265–267

Imunidade inata, 2, 51–85

à bactéria extracelular, 340  
à bactéria intracelular, 344–345  
aos fungos, 347  
aos parasitas, 352  
aos vírus, 348, 349f  
características da, 3t  
    comparada com a imunidade inata, 52  
citocinas na, 13–14, 73t, 75  
comensais intestinais, defeitos na, na IBD, 303  
defeitos na, nas imunodeficiências congênitas, 438–439, 441  
especificidade da, 53t  
evolução da, 52  
funções da, 51  
gastrintestinal, 292–293  
mecanismos da, 2  
mecanismos de retroalimentação regulando, 83–84  
moléculas efectoras e de reconhecimento solúvel da, 69–72  
na promoção do crescimento tumoral, 396–397  
no sistema respiratório, 304–305  
resposta inflamatória na, 72–80 See also [resposta\(s\) inflamatória\(s\)](#)  
respostas na, 52  
sensores da, 54  
visão geral da, 51–52

Imunidade mediada por célula, 3, 4f

- a fungos, [348](#)
- à *Listeria monocytogenes*, [214](#), [216f](#)
- aos tumores, aumentando, [392](#)
- células T CD4<sup>+</sup> efetoras na, [215f](#), [216](#)
- defeitos da, nas imunodeficiências combinadas graves, [441–443](#), [445](#)
- na resposta imune adaptativa, [10–11](#)
- revisão da, [213–216](#)

Imunidade mediada por célula T, no trato gastrintestinal, [300–301](#)

Imunidade nativa See [Imunidade inata](#)

Imunidade neonatal, [287–288](#)

Imunidade passiva, [4](#), [5f](#)

Imunidade tumoral, [383–397](#)

- antígenos tumorais na, [385–388](#) See also [Antígenos tumorais](#)
- características gerais da, [392](#)
- demonstração experimental da, [383–385](#)
- promoção, bloqueando as vias inibitórias na, [392](#), [393f](#)
- respostas imunes aos tumores na, [388–389](#)
  - evasão das, [389](#), [390f](#)

Imunização passiva, [356](#)

Imunocomplexos, formação dos, [101–103](#)

Imunodeficiência combinada grave ligada ao X, [442t](#), [444](#)

Imunodeficiência(s)

- após transplante de célula-tronco hematopoética, [380–381](#)
- causada por HIV, mecanismos de, [456–458](#)
- desordens multissistêmicas com, [450](#)
- variável comum, [446t](#), [447](#)

Imunodeficiências adquiridas, [450t](#), [451](#) See also [Síndrome da imunodeficiência adquirida \(AIDS\)](#)

Imunodeficiências combinadas graves (SCIDs), [441–443](#), [445](#)

de ativação defeituosa da célula B, [445–448](#)  
de defeitos na recombinação V(D)J, [442t](#), [444](#)  
de defeitos na sinalização de pontos de checagem pré-TCR, [442t](#), [444–445](#)  
ligadas ao X, [442t](#), [444](#)

Imunodeficiências congênitas, [438–450](#)

ataxia-teleangiectasia como, [450](#)

combinada grave, [441–443](#), [445](#)

defeitos na

na ativação e função da célula T, [448](#)

na imunidade inata, [438–439](#), [441](#)

no desenvolvimento e ativação da célula B, [445–448](#)

procedimentos terapêuticos para, [450](#)

Imunodeficiência variável comum, [446t](#), [447](#)

Imunodiagnóstico, anticorpos monoclonais no, [97](#)

Imunoedição tumoral, [390](#), [391f](#)

Imunoensaios, quantificação de antígeno por, [503–504](#)

Imunofilinas, [154](#)

Imunofluorescência, [509](#)

Imunogenicidade

de aloenxertos, métodos para reduzir, [371–372](#)

de antígenos proteicos, [133](#)

fatores determinantes, [326–327](#)

Imunógenos, [4–5](#), [99–100](#), [315](#)

Imunoglobulina E (IgE) See [IgE](#)

Imunoglobulina M (IgM) See [IgM](#)

Imunoglobulina(s) (Igs) See *a/so* [Anticorpo\(s\)](#)

deficiências seletivas de isotipo, [446t](#), [447](#)

ligação do antígeno pelas, [88t](#)

moléculas de, síntese, montagem e expressão das, [97–99](#)

- propriedades das, [143t](#)
- Imuno-histoquímica, [509](#)
- Imunologia
  - técnicas laboratoriais usadas na, [503](#) See also [Técnicas de laboratório](#)
  - transplante, [359–381](#)
- Imunologia do transplante, [359–381](#)
  - princípios básicos da, [359–360](#)
- Imunomoduladores, [356](#)
- Imunoprecipitação, [505f](#), [506](#)
- Imunossupressão
  - na AIDS, [451](#)
  - para rejeição de enxerto, [373–375](#)
- Imunoterapia
  - para doenças alérgicas, [433–434](#)
  - para esclerose múltipla, [414](#)
  - para tumores, [391–396](#)
    - estimulação de respostas imunes ativas do hospedeiro aos tumores na, [391–393](#)
    - passiva, com células T e anticorpos, [393–396](#)
- Imunoterapia celular adaptativa, para tumores, [393–395](#)
- Indução, na diferenciação de subgrupo de célula T, [218](#)
- Infecção(ões)
  - controle da, nas imunodeficiências congênitas, [450](#)
  - imunodeficiências adquiridas de, [451](#)
  - locais de
    - migração de células T efetoras aos, [46f](#), [48](#)
    - migração de neutrófilos e monócitos para, [42–43](#)
    - recrutamento de leucócitos para, [41](#)
      - na resposta inflamatória, [75–76](#)
  - na autoimunidade, [334](#), [335f](#)

susceptibilidade aumentada a  
devido a imunodeficiência, [437–438](#)  
devido a imunossupressão, [452](#)

#### Infecções helmínticas

defesa do hospedeiro contra, células T<sub>H</sub>2 nas, [223–225](#)  
erradicação das  
células T<sub>H</sub>2 nas, [222](#)  
reações imunes iniciadas por IgE nas, [434](#)  
imunidade adaptativa às, [352–353](#)  
imunidade inata às, [352](#)

#### Infecções por protozoários

imunidade adaptativa às, [352](#), [353](#)  
imunidade inata às, [352](#)

#### Inflamação

aguda  
definição de, [72](#)  
desenvolvimento de, [72](#)  
efeitos locais e sistêmicos da, [80](#)  
como resposta do sistema imune inato, [52](#)  
consequências sistêmicas e patológicas da, [78–80](#)  
crônica, desenvolvimento de, [72](#)  
definição de, [9](#)  
granulomatosa, [408](#), [409f](#)  
imune, [226–227](#)  
induzida por bactéria extracelular, [340](#), [342](#)  
mediada por anticorpo, [401f](#), [402](#)  
mediada por citocina, doenças causadas por, [406–409](#)  
na autoimunidade, [330](#)  
na resposta à bactéria extracelular, [343](#)

- neutrofílica, [227](#)
- quimiocinas na, [39–41](#)
- recrutamento de leucócito na, [35](#)
- Inflamossomas, ativação dos, [60f](#), [61](#)
- Inibidor de C1 (C1 INH), [281t](#), [282](#)
- Inibidores da calcineurina, na imunossupressão, [372–374](#)
- Inibidores da migração de leucócito
  - na imunossupressão, [372](#)
  - para doenças imunológicas, [409–410](#)
- Inibidores proteicos de STAT ativada (PIAS), na regulação as vias JAK-STAT, [166](#)
- Iniciação do sinal
  - pelo receptor da célula B, [157–158](#)
  - pelo receptor da célula T, [145–147](#)
- Insulina, doenças autoimunes e, [333](#)
- Integrinas
  - adesão dos leucócitos ao endotélio mediada pelas, [42](#)
  - ativação das, [38f](#), [39](#)
  - no recrutamento do leucócito, [37–39](#)
- Interações antígeno-anticorpo, medida das, métodos para, [509–510](#)
- Interações leucócito-endotélio, [41f](#), [42](#)
- Interações peptídeo-MHC, características da, [122–123](#)
- Interferon(s) (IFNs)
  - na expressão no MHC de classe II, [118–119](#)
  - tipo I, [17](#), [45](#)
    - ações biológicas dos, [82f](#)
    - defeitos herdados nos, [441](#)
  - na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [233](#)
  - na imunidade inata contra vírus, [348](#), [349f](#)
  - na resposta antiviral, [80–81](#)



## Interferon- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )

antagonistas do, [410t](#)

para lúpus eritematoso sistêmico, [412](#)

características do, [493](#)

no aumento da imunidade do hospedeiro aos tumores, [393](#)

## Interferon- $\beta$ (IFN- $\beta$ ), características do, [493](#)

## Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

características do, [493](#)

propriedades do, [219–220](#)

## Interferon- $\lambda$ s, características do, [493](#)

## Interleucina-10 (IL-10)

características da, [493](#)

efeitos biológicos da, [324](#)

na regulação da imunidade do sistema gastrointestinal, [301](#)

na regulação por retroalimentação da imunidade inata, [83](#)

produção e estrutura da, [324](#)

## Interleucina-11 (IL-11), características da, [493](#)

## Interleucina-12 (IL-12)

cadeia p40 da, antagonistas da, [410t](#)

características da, [493](#)

na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [233](#)

na resposta inflamatória, [75](#)

## Interleucina-13 (IL-13)

características da, [493](#)

propriedades da, [223f](#), [224](#)

## Interleucina-15 (IL-15)

características da, [493](#)

na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [223–224](#)

na resposta inflamatória, [75](#)

Interleucina-16 (IL-16), características da, [493](#)

Interleucina-17 (IL-17)

antagonistas da, [410t](#)

para artrite reumatoide, [413](#)

características da, [493](#)

propriedades da, [226–227](#)

Interleucina-18 (IL-18)

características da, [493](#)

na resposta inflamatória, [75](#)

Interleucina-19 (IL-19), características da, [493](#)

Interleucina-1 (IL-1)

antagonistas da, [410t](#)

para artrite reumatoide, [413](#)

efeitos sistêmicos da, [78](#), [79f](#)

na resposta inflamatória, [74–75](#)

Interleucina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), características da, [493](#)

Interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), características da, [493](#)

Interleucina-21 (IL-21)

características da, [493](#)

na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [234](#)

nas células T auxiliares foliculares, [251](#)

propriedades da, [227](#)

Interleucina-22 (IL-22)

características da, [493](#)

propriedades da, [227](#)

Interleucina-23 (IL-23)

cadeia p40, antagonistas da, [410t](#)

características da, [493](#)

Interleucina-25 (IL-25), características da, [493](#)

Interleucina-26 (IL-26), características da, [493](#)

Interleucina-27 (IL-27), características da, [493](#)

Interleucina-2 (IL-2)

- características da, [493](#)
- estrutura da, [208f](#)
- funções da, [493](#)
- na diferenciação da célula T CD8<sup>+</sup>, [233](#)
- na regulação da imunidade do sistema gastrointestinal, [301](#)
- no aumento da imunidade do hospedeiro aos tumores, [393](#)
- secreção da, expressão do receptor de IL-2 e, [207–208](#)
- sobrevivência das células T regulatórias dependente de, [323](#)

Interleucina-31 (IL-31), características da, [493](#)

Interleucina-33 (IL-33), características da, [493](#)

Interleucina-3 (IL-3), características da, [493](#)

Interleucina-4 (IL-4)

- características da, [493](#)
- propriedades da, [223f](#), [224](#)

Interleucina-6 (IL-6)

- antagonistas da, [410t](#)
  - para artrite reumatoide, [413](#)
- características da, [493](#)
- efeitos sistêmicos da, [78](#), [79f](#)
- na resposta inflamatória, [75](#)

Interleucina-7 (IL-7), [21](#)

- características da, [493](#)
- na proliferação dos progenitores da célula T, [173](#)

Interleucina-9 (IL-9), características da, [493](#)

Interleucina(s), nomes das, [21](#)

IPEX (desregulação imune, poliendocrinopatia, enteropatia, ligada ao X), [322–323](#)

IRF4, na maturação do plasmócitos, [259](#)

## Isotipos

anticorpo, [92–94](#)

funções dos, [266–267](#)

secretados pelas células B, [49](#)

troca de See [Troca de isotipo \(classe\) de cadeia pesada](#)

## L

Lâmina própria, [291f](#)

nas respostas imunes adaptativas gastrintestinais, [296](#)

Lectina ligante de manose (MBL), [72](#)

na ativação do complemento, [70–71](#)

Lectinas do tipo C, [37](#)

Lepra lepromatosa, [346–347](#)

Lepra, resposta da célula T na, [346–347](#)

Lepra tuberculoide, [346–347](#)

Lesão tecidual, locais de, migração de neutrófilos e monócitos para, [42](#)

Leucemia, efeito do enxerto *versus* leucemia na, [395](#)

## Leucócito(s)

contagens normais de, [14t](#)

inflamatórios, nas reações de fase tardia, [428](#)

polimorfonuclear, [14](#)

receptores Fc dos, [268–270](#)

transmigração dos, através do endotélio, [42](#)

Leucoencefalopatia multifocal progressiva, [309](#)

Leucotrienos, derivados de mastócitos, [426f](#), [427](#)

LFA-1 (antígeno 1 associado à função de leucócito), [37t](#), [38](#)

Licenciamento, [205](#)

Ligação do antígeno, [92](#), [93f](#), [99–102](#)

- bases estruturais e químicas dos, [101–102](#)
- características biológicas do antígeno e, [99–101](#)
- Ligação peptídeo-MHC, [122–124](#)
  - no retículo endoplasmático, [128](#)
- Ligante CD40 (CD40L)
  - e CD40, interação do, na ativação da célula B independente de T, [248–249](#)
  - indução do, na ativação da célula T, [206](#)
  - na ativação da célula T, [110](#)
- Ligante C-Kit, [16](#)
- Ligante Fas (FasL), na morte da célula-alvo, [237](#)
- Ligante Flt3, na maturação da célula dendrítica, [17](#)
- Linfa, [28](#)
- Linfoblasto(s), [21](#), [23](#)
  - morfologia do(s), [23f](#)
- Linfócito(s)
  - alorreativo, ativação e funções efetoras do, [365–367](#)
  - ativação dos
    - anatomia dos, [21f](#)
    - hipótese do duplo sinal para, [69–82](#)
- B See [Células B](#)
- contagens normais de, [14t](#)
- desenvolvimento do, [20](#)
  - estágios dos, [172f](#)
  - pontos de checagem no, [174](#), [175f](#)
  - visão geral do, [171–175](#)
- efetor, [23](#) See *also* [Linfócito\(s\) efetor\(es\)](#)
- em repouso, [21](#)
- grande, [21](#)
  - morfologia do, [23f](#)

imaturos, [20–23](#)

intestinal, propriedades migratórias do, [296](#), [297f](#)

intraepitelial, [228](#)

maturação do, [20f](#), [171](#)

memória

características do, [22t](#)

expressão de proteína de superfície do, [23–24](#)

morfologia do, [23f](#)

na imunidade adaptativa, [2](#), [18–24](#)

nos diferentes tecidos, números de, [293f](#)

no sistema imune, [7](#)

pequeno, [21](#)

morfologia do, [23f](#)

populações de, diferenciadas pela história da exposição ao antígeno, [20–24](#)

reconhecimento do antígeno pelo, [10](#)

sinalização inibitória no, [160](#)

subgrupos de, [18–20](#)

geração de, [182–184](#)

T See [Células T](#)

Linfócitos alorreativos, [360](#)

Linfócitos autorreativos, supressão dos, pelas células T regulatórias, [321–322](#), [325](#)

Linfócitos de memória

características dos, [22t](#)

expressão de proteína de superfície pelos, [23–24](#)

Linfócito(s) efetor(es)

características dos, [22t](#)

tipos de, [23](#)

Linfócitos em repouso, [21](#)

Linfócitos intraepiteliais, [228](#)



Linfócitos pequenos, 21  
    morfologia dos, 23f

Linfócitos xenorreativos, 360

Linfomas MALT, respostas imunes no intestino e, 304

Linfonodo(s)  
    anatomia e função do, 28–31  
    desenvolvimento do, 30–31  
    migração das células T imaturas para o, 44, 46f  
    reação do centro germinativo no, 251f  
    saída das células T imaturas do, 45, 47f  
    transporte de antígeno através, 31

Linfopoetina estromal tímica (TSLP), 308

Linfotoxina(s), 30, 73  
    ligada, 74f

Linfotoxina- $\alpha$  (LT- $\alpha$ , TNFSF1), características da, 493

Linfotoxina- $\alpha\beta$  (LT- $\alpha\beta$ ), características da, 493

Linhagem de célula B, comprometimento à, 172–173

Linhagem de célula T, comprometimento para, 172

Lipídio quinase(s)  
    ativação das, durante a ativação da célula T, 147–149  
    na transdução do sinal, 138

Lipopolissacarídeo (LPS), 340

Lisinac, 63, 161

Lisozimas, 14

*Listeria monocytogenes*, imunidade à, 214, 216f

Listeriolisina, 125

LMP1, EBV, 248

Locus do gene *TCR*, organização da linha germinativa do, 177, 179f

Locus maior de histocompatibilidade, 114

L-selectina, no recrutamento de leucócito, [37t](#), [38](#)  
Lúpus eritematoso sistêmico (SLE), [405](#), [406t](#), [411](#)  
  novas terapias para, [412](#)  
  patogênese da, [411](#), [412f](#)

## **M**

MAC See [Complexo de ataque à membrana \(MAC\)](#)

Macrófago(s)

  ativação do, [16](#)  
    alternativa, células T<sub>H</sub>2 na, [225](#)  
    clássica, [220–222](#)  
    por bactéria extracelular, [340](#)  
    por células T<sub>H</sub>1, [220–222](#)  
    por microrganismos intracelulares, [345–346](#)  
  ativado, na morte de microrganismos, [76–78](#)  
  efetor ativado, funções do, [78](#)  
  funções do, [14–15](#), [109f](#), [110t](#), [114](#)  
  na imunidade tumoral, [389](#)  
  na infecção por HIV, [452–453](#), [458](#)  
  na lâmina própria, na imunidade inata no intestino, [293](#)  
  no sistema imune gastrointestinal, [300](#)

MadCAM-1 (molécula 1 de adesão de célula, adressina de mucosa), [44](#)

Marcação de C3, [273–274](#)

Marcadores, fenotípicos, [19](#)

Marcadores fenotípicos, das células T regulatórias, [323](#)

MASP1, [70–71](#)

MASP2, [70–71](#)

Mastócito(s)

  as respostas imunes inata e adaptativa, [16](#)

ativação do, [224–225](#)  
eventos bioquímicos do, [423](#), [424f](#)  
na produção de IgE, [423f](#), [425](#)  
degranulação do, [423](#), [424f](#)  
doenças alérgicas e, [431](#)  
de mucosa, [421–422](#)  
ligação de IgE ao, [422](#)  
mediadores derivados de, [425–427](#)  
mediadores produzidos por, [421t](#)  
morfologia do, [14f](#), [421f](#)  
propriedades do, [420t](#), [422](#)  
reações de fase tardia dependentes de, [428f](#), [429](#)  
reações imunes mediadas pelo, papel protetor do, [434](#)  
resposta do, à infecção, [69](#)  
tecido conectivo, [421–422](#)

#### Maturação de afinidade

células T auxiliares na, [11](#)  
na mutação somática dos genes da Ig, [254–255](#), [257](#)  
na resposta imune humoral, [239–240](#)  
no reconhecimento do antígeno, [103](#), [104f](#)

MD2 (proteína 2 de diferenciação mieloide), receptores do tipo Toll e, [56–58](#)

Mecanismos de retroalimentação, na regulação da imunidade inata, [83–85](#)

Mecanismos epigenéticos, no desenvolvimento do linfócito, [173](#)

Mecanismos imunes, de rejeição ao enxerto, [369f](#)

#### Mediadores lipídicos

derivados de mastócitos, [426f](#), [427](#)  
produção de, da ativação do mastócito, [424f](#)

Medula óssea, anatomia e funções da, [24](#)

Meio HAT, [96f](#)

## Memória

imunológica, [12](#)

na imunidade adaptativa, [2](#), [3t](#), [5f](#), [6](#)

na imunidade inata, [3t](#)

Memória imunológica, [12](#)

Metabolismo de nucleotídeo, defeitos no, [442–445](#)

MHC See [Complexo maior de histocompatibilidade \(MHC\)](#)

Miastenia grave, [403t](#)

Microbioma, comensal, na regulação imune, [302](#)

Microdomínios enriquecidos com glicolipídios, na formação da sinapse imunológica, [149](#)

Microglia, [309](#)

Microrganismos See *also* [Bactérias fungos parasitas vírus](#)

eliminação dos

fagócitos nos, [214–216](#), [218](#)

pelas células T efetoras CD4<sup>+</sup>, [214](#), [227](#)

evasão do complemento pelos, [286–287](#)

exposição precoce aos, risco de alergia e, [431](#)

extracelular, eliminação dos, na imunidade humoral, [11](#)

fagocitados, morte dos, [216–222](#)

imunidade aos, [339–356](#)

intracelular

evasão imune pela, [344t](#), [347](#)

imunidade à, [344–346](#)

adaptativa, [345f](#), [346](#)

inata, [344–345](#)

mecanismos de patogenicidade da, [341t](#)

morte do por fagócitos ativados, [76f](#), [78](#)

neutralização dos, [267](#), [268f](#), [271f](#)

patogênicos, [341t](#)

reações contra, causando doenças de hipersensibilidade, [399–400](#)

reconhecimento dos, pelo sistema imune inato, [52–54](#)

respostas imunes aos

adaptativa, [2](#), [4f](#), [9–10](#), [12](#)

características gerais das, [339–340](#)

inata, [2](#)

inata precoce, [9](#)

visão geral da, [9](#)

MicroRNAs

na ativação da célula T, [155](#)

no desenvolvimento do linfócito, [171](#)

Mieloma, estrutura do gene de Ig no, [176](#)

Migração

das células T imaturas

para o baço, [47](#)

para os linfonodos e tecidos linfoides, [44](#), [47](#)

de leucócito, [35](#)

Migração/recrutamento de leucócito, [35](#)

do sangue para os tecidos, principais funções servidas pelo, [36f](#)

moléculas de adesão na, [37t](#), [39](#)

para locais de infecção

na resposta inflamatória, [75–76](#)

ou dano tecidual, [41](#)

para os tecidos, mediando interações leucócito-endotélio, [41f](#), [42](#)

princípios governando, [35](#)

quimiocinas e receptores de quimiocinas na, [39–41](#)

Migração transcelular, [42](#)

Mimetismo molecular, [334](#), [335f](#)

Mofetil micofenolato (MMF), para rejeição de enxerto, [374](#)

Molécula de ativação da sinalização linfocítica (SLAM), [156](#)

Moléculas CD, principais características das, [497](#)

Moléculas de adesão, indução das, na ativação da célula T, [206](#)

Moléculas de adesão leucócito-endotélio

- integrinas e ligantes de integrinas como, [38–39](#), [88t](#)
- selectinas e ligantes de selectinas como, [37–39](#)

Moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC)

- alogeneico, reconhecimento do, [363–365](#)
  - direto, [363–365](#)
  - indireto, [363f](#), [365](#)
- classe I, [120–121](#)
  - características do, [120t](#)
  - com peptídeos ligados
    - expressão na superfície do, [127f](#), [128](#)
    - ligação do receptor de célula T ao, [143–145](#)
  - estrutura do, [120f](#), [121](#)
  - no processamento e apresentação de proteínas citossólicas, [124f](#), [125t](#), [128](#)
  - resíduos polimórficos do, [121](#)
- classe II
  - biossíntese da, [130](#)
  - características da, [120t](#)
  - com peptídeos ligados, expressão na superfície de, [130f](#), [131f](#)
  - no processamento e apresentação de proteínas vesiculares, [124f](#), [125t](#), [128f](#), [131](#)
  - resíduos polimórficos da, [121f](#), [122](#)

expressão da, [118–119](#)

função da, [107](#)

ligação de antígeno pelo, [88t](#)

ligação de peptídeo à, [122–124](#), [128](#)



- no retículo endoplasmático, [128](#)
- na imunidade mediada por célula, [7](#)
- nas fortes reações de rejeição, [362](#)
- propriedades gerais da, [119–120](#)

Moléculas polimórficas, na rejeição do enxerto, [362](#)

Moléculas solúveis de reconhecimento e efetoras da imunidade inata, [69–71](#)

- colectinas como, [72](#)
- ficolinas como, [71f](#), [72](#)
- pentraxinas como, [70–71](#)
- sistema complemento e, [70–71](#)

Monócito(s)

- clássico, [14](#)
- contagens normais de, [14t](#)
- funções dos, [14](#)
- migração para locais de infecção ou dano tecidual, [42](#)

Morte celular, na resposta imune adaptativa, [9](#)

Morte da célula-alvo, pelas CTLs, [235–237](#)

Morte por negligência, [192f](#), [195](#)

Motivos de ativação baseados em imunorreceptor de tirosina (ITAMs), [68](#), [141](#)

- uso progressivo, de, na sinalização do receptor de antígeno, [142–143](#)

Motivos de inibição baseados em imunorreceptor de tirosina (ITIMs), [68](#), [141](#), [260](#)

Motivos de troca baseados em imunorreceptor de tirosina (ITSM), [156](#)

Mucinas, na imunidade inata no intestino, [292](#)

Multivalência, [100](#)

Muramil dipeptídeo, reconhecimento de NOD2, [59](#)

Mutação no gene adinilato quinase (AK2), [444](#)

Mutações *FoxNI*, [442t](#), [443](#)

## **N**

Não progressores de longo prazo, com HIV, [460](#)

Não reatividade ao próprio

na imunidade inata, [3t](#)

nas respostas imunes adaptativas, [6t](#), [7](#)

Necrose caseosa, na tuberculose, [346](#)

Neoplasmas See [Tumor\(es\)](#)

Neutrófilo(s)

ativação do, por bactérias extracelulares, [340–342](#)

ativado, na morte de microrganismos, [76–78](#)

contagens normais de, [14t](#)

migração para locais de infecção ou dano tecidual, [42](#)

morfologia do, [14f](#)

NOD2, doenças autoimunes e, [333](#)

Nucleotídeos N, [183](#), [184f](#)

Nucleotídeos P, [183](#), [184f](#)

## O

Olho, privilégio imune no, [309](#)

Oncogenes, [385](#)

Oncostatina M, características da, [493](#)

Opsoninas, [16](#), [69–70](#), [267](#)

Opsonização

como função do complemento, [284](#), [285f](#)

dos microrganismos, mediada por anticorpo, [267–271](#), [272](#)

mediada por anticorpo, [401f](#), [402](#)

Organismos comensais, intestinal, [291–292](#)

imunidade inata aos, defeitos nos, na IBD, [303](#)

na regulação imune, [302](#)

Organismos patogênicos, no sistema gastrointestinal, [291–292](#)

Órgãos linfoides centrais, [316](#)  
Órgãos linfoides geradores, [20](#)  
Órgãos linfoides, secundários, centros germinativos nos, [250f](#)  
Osteoprotegerina (OPG, TNFRSR1 1B), características da, [493](#)  
Óxido nítrico (NO), na fagocitose, [76](#), [77](#)  
Óxido nítrico sintase induzida (iNOS), [77](#), [270](#)

## **P**

Padrões moleculares associados ao dano (DAMPs), [53t](#), [54](#)  
    receptores citossólicos para, [59–62](#)  
Padrões moleculares associados a patógeno (PAMPs), [52–53](#)  
    na imunidade inata no intestino, [292](#)  
    receptores citossólicos para, [59–62](#)  
Paracórtex, [28–29](#), [76f](#)  
Parasita(s)  
    evasão imune pelo, [353t](#), [354](#)  
    imunidade ao, [352–354](#)  
        adaptativa, [352–354](#)  
        inata, [352](#)  
PD-1 (morte programada 1), [161](#)  
    na regulação das respostas da célula T, [344](#)  
Pedaços de cauda, nas formas secretadas das cadeias pesadas de Ig, [95](#)  
Pele, respostas imunes na  
    doenças relacionadas com, [375](#)  
    inata e adaptativa, [373–375](#)  
Pênfigo vulgar, [403t](#)  
Pentraxinas, [71](#)  
    na via clássica da ativação do complemento, [70](#)  
Peptídeo de cadeia invariável associado à Classe II (CLIP), [130](#)

Perforina, [65–66](#)  
funções da, [236](#), [237f](#)

PI3-quinase, ativação da, na ativação da célula T, [147–149](#)

Pilina, [344](#)

Pirrogênios endógenos, [78](#)

Piroptose, [61](#)

Plasmablastos, [23](#), [257](#)

Plasmacitoma, estrutura do gene Ig no, [176](#)

Plasmócitos, [23](#)  
intestinal, secretores de IgA, [297–298](#)  
morfologia dos, [23f](#)  
secretores de anticorpo, diferenciação de célula B em, [257–258](#)

Plasmócitos secretores de anticorpo, diferenciação de célula B em, [257–258](#)

Polarização, das células T, [217–218](#)

Poliarterite nodosa, [406t](#)

Polimorfismos, associados à autoimunidade, [332t](#), [333](#)

Polivalência, [100](#)

Pontos de checagem  
defeitos nos, pré-BCR recessiva autossômica, [446](#)  
no desenvolvimento do linfócito, [174](#), [175f](#)

Populações de célula B policlonal, ativação das, para estudo das respostas da célula B, [515](#)

Populações de célula T monoclonal, ativação induzida por antígeno das, para estudo das respostas da célula T, [514](#)

Populações de célula T policlonal, ativação induzida por antígeno das, para estudo das respostas da célula T, [514](#)

Pré-T $\alpha$ , [193](#)

Privilégio imune, [309–312](#)  
no cérebro, [309](#)  
no feto de mamíferos, [310–312](#)

- no olho, [309](#)
- nos testículos, [309](#)
- Processamento do antígeno, [124–133](#)
  - mecanismos do, [124–125](#)
  - via do MHC de classe I do, [124f](#), [125t](#), [128](#)
  - via do MHC de classe II do, [124f](#), [125t](#), [128–131](#)
  - vírus inibindo, mecanismos do, [351](#)
- Progenitores eritroide-megacariócito-mieloide, [25–26](#)
- Progenitor linfoide mieloide, [25–26](#)
- Properdina, [275t](#), [276](#)
- Propriedades da migração
  - dos linfócitos cutâneos, [307](#), [308f](#)
  - dos linfócitos intestinais, [296](#), [297f](#)
- Próprio
  - ausente, reconhecimento do, [67](#)
  - danificado, reconhecimento pelo, pelo sistema imune inato, [52–54](#)
- Prostaglandina D<sub>2</sub>, derivada de mastócitos, [426f](#), [427](#)
- Proteassoma, na digestão de proteínas citossólicas, [126–127](#)
- Proteína associada a SLAM (SAP)s, [156](#), [250](#)
  - mutações codificando em, [449](#)
- Proteína de ligação à C4 (C4BP), [281t](#), [282](#)
- Proteína de ligação da célula B (BLNK), [159](#)
- Proteína de ligação FK506 (FKBP), [154](#)
- Proteína Ily derivada de ilhota em regeneração (REG Ily), [293](#)
- Proteínas adaptadoras
  - na ativação do linfócito, [141](#), [142f](#)
  - recrutamento e modificação das, [149](#)
- Proteínas argonautas, [155](#)
- Proteínas citossólicas

digestão proteolítica das, [126–127](#)

montagem do complexo peptídeo-MHC de classe I no retículo endoplasmático e, [128](#)

processamento e apresentação das, [124f](#), [125t](#), [128](#)

transporte de peptídeos das, para o retículo endoplasmático, [127](#)

#### Proteínas de sinalização

degradação das, E3 ubiquitinas ligases na, [161](#), [162f](#)

na família do receptor imune, [141](#)

#### Proteínas do complemento

da via alternativa do complemento, [275t](#)

da via clássica do complemento, [277t](#)

genes codificando, anormalidades do, causando autoimunidade, [334](#)

receptores para, [280t](#), [281](#)

via da lectina do complemento, [278t](#)

#### Proteínas, identificação e purificação das, [504–505](#)

#### Proteínas Ig, domínios das, [176–178](#)

#### Proteínas TCR, domínios das, [178f](#)

#### Proteína surfactante A (SP-A), [72](#)

#### Proteína surfactante D (SP-D), [72](#)

#### Proteínas vesiculares

digestão proteolítica de, [129](#)

geração de, [129](#)

processo e apresentação das, [128f](#), [131](#)

#### Proteínas Wnt, [140](#)

#### Proteína Tat, na patogênese da imunodeficiência por HIV, [458](#)

#### Proteína tirosinofosfatase, sinalização da célula T pelas, modulação das, [155](#)

#### Proteína tirosinoquinase, na transdução do sinal, [138](#)

#### Proteinoquinase ativada por estresse (SAP), [151–152](#)

#### Proteinoquinase, na transdução do sinal, [138](#)

#### P-selectina, no recrutamento de leucócito, [37t](#)



Psilose, não tropical, [304](#)  
Psoríase, [307–308](#)  
PTPN22, doenças autoimunes e, [332–333](#)  
Púrpura trombocitopênica autoimune, [403t](#)

## Q

Queratinócitos, [305–306](#)  
Quimerismo hematopoético, para induzir tolerância específica ao doador, [376](#)  
Quimiocina(s), [30](#)

- ações biológicas das, [17–19](#)
- afinidade aumentada das integrinas mediada pela, [21](#)
- estrutura, produção, e receptores das, [17](#)
- na inflamação, [17–19](#)

Quimiocinas CC, [17](#), [19t](#)  
Quimiocinas CXC, [17](#), [19t](#)  
Quinases Janus, na sinalização JAK-STAT, [164–166](#)

## R

Radioimunoensaios (RIA), [503–504](#)  
*Rafts* lipídicas, na formação da sinapse imunológica, [149](#)  
Rapamicina, na imunossupressão, [373](#)  
Reação cruzada, [102–103](#)  
Reação de Arthus, [405](#)  
Reação de calor e rubor, [428–429](#)  
Reação do centro germinativo, [249t](#), [250](#)

- no linfonodo, [251f](#)

Reação mista de linfócito (MLR), [117](#), [366–367](#)  
Reações alérgicas

- basófilos nas

- ligação da IgE aos, [422](#)
- mediadores produzidos pelos, [421t](#)
- morfologia dos, [421f](#)
- propriedades dos, [418f](#), [420–421](#)
- células T<sub>H</sub>2 nas, [420](#)
- eosinófilos nas
  - mediadores produzidos pelos, [421t](#)
  - morfologia dos, [421f](#)
  - propriedades dos, [420t](#), [427–428](#)
- IgE-dependente, [417–419](#) See also [Reações alérgicas dependentes de IgE](#)
- mastócitos nas
  - ativação dos, [423–425](#)
  - ligação da IgE aos, [422](#)
  - mediadores produzidos pelos, [421](#), [425](#), [426f](#)
  - morfologia dos, [421f](#)
  - propriedades dos, [420t](#), [422](#)
- Reações alérgicas dependentes de IgE, [428–429](#)
  - características gerais da, [417–419](#)
  - seqüências de eventos nas, [418](#)
- Reações de fase tardia, [417](#), [428f](#), [429](#)
  - eosinófilos nas, [427](#), [428f](#)
  - reações imediatas e, [428f](#)
- Reações de hipersensibilidade imediata, [428–429](#)
  - patogênese e terapia das, [432–433](#)
  - reações de fase tardia e, [428f](#)
  - seqüência de eventos nas, [418](#)
- Reações imunes
  - mediada por mastócito, papel protetor do, [434](#)
  - mediadas por IgE, papel protetor da, [434](#)

Reagentes de fase aguda, [71–72](#)

Recebedor, [359](#)

Receptor

célula B See [Receptores de célula B \(BCR\)](#)

célula T See [Receptores de célula T \(TCR\)](#)

para proteínas do complemento, [280t](#), [281](#)

poli-Ig, no transporte de IgA, [298](#), [300f](#)

superfície celular, sinalização dos, [138](#)

Receptor 1 de esfingosina 1 fosfato (S1PR1), [45](#), [47](#)

Receptor da quimiocina CXCR4, para HIV, [452–453](#)

Receptor de complemento CR2/CD21, como coreceptor das células B, [158–159](#)

Receptor de interleucina-23 (IL-23), doenças autoimunes e, [333](#)

Receptor de interleucina-2 (CD24), antagonistas do, [410t](#)

Receptor de tipo 2 do complemento (CR2/CD21), na ativação da célula B, [243](#), [244f](#)

Receptor do complemento de tipo 2 (CR2, CD21), [158–159](#)

Receptores acoplados à proteína G (GPCRs), [139–140](#)

Receptores ativadores, das células *natural killer*, [66](#)

estrutura e ligantes dos, [68](#)

funções dos, [66](#), [67f](#)

Receptores C1q, [72](#)

Receptores citossólicos para PAMPs e DAMPs, [59–62](#)

Receptores coestimuladores, [137–138](#)

família CD28 de, [156](#)

família CD2/SLAM de, [156](#)

na ativação do linfócito, [143](#)

Receptores com sete domínios transmembranas, para sinalização, [139–140](#)

Receptores da família Notch, [140](#)

Receptores de carboidrato, [62](#)

Receptores de célula B (BCR)

iniciação do sinal pelo, [157–158](#)

para antígeno, [150f](#), [156–160](#) See also [Complexo receptor de antígeno da célula B \(BCR\)](#)

vias de sinalização do, [158–160](#)

Receptores de célula pré-B (pré-BCR), [185–187](#)

defeito de sinalização, ligado ao X, [446](#)

defeitos de pontos de checagem, recessivos autossômicos, [446](#)

Receptores de célula T (TCR)

defeitos na transdução do sinal, [448t](#), [449](#)

genes para, expressão dos, [194](#)

iniciação de sinal pela, [145–147](#)

ligação de antígeno pelo, [88t](#)

ligação do, ao complexo peptídeo-MHC, [143–144](#)

para antígeno, estrutura do, [143–145](#), [144f](#)

propriedades da, [143t](#)

Receptores de citocinas

classes de, [162–164](#)

estrutura dos, [163f](#)

sinalização e, [161–168](#)

tipo I, [162](#), [163f](#)

tipo II, [162](#), [163f](#)

Receptores de hormônio nuclear, para sinalização, [139](#)

Receptores de manose, [62](#)

Receptores de quimiocinas

indução dos, na ativação da célula T, [206](#)

para HIV, [452–453](#)

Receptores de reconhecimento padrão, [54](#)

associado à célula, [54–63](#)

localização celulares dos, [56f](#)

Receptores de reconhecimento padrão associado à célula, [62–63](#)

citossólico para PAMPs e DAMPs, [59–62](#)  
do tipo Toll, [52](#), [54–59](#) See also [Receptores do tipo Toll \(TLRs\)](#)  
*N*-formil met-leu-phe, [63](#)  
para carboidratos, [62–63](#)  
*scavenger*, [63](#)

Receptores de superfície celular, sinalização de, [138](#)  
na maturação do linfócito, [171](#)

Receptores do tipo imunoglobulina (Ig) na célula assassina (KIRs), [66](#), [161](#)

Receptores do tipo NOD (NLRs), [59–61](#)  
na imunidade inata no intestino, [293](#)

Receptores do tipo RIG (RLRs), [61–62](#)

Receptores do tipo Toll (TLRs), [52–59](#)  
defeitos herdados nos, [438–441](#)  
estrutura, localização e funções dos, [57f](#)  
na ativação da célula B, [243–244](#)  
na imunidade inata do intestino, [293](#)  
vias de sinalização e funções dos, [58f](#), [59](#)

Receptores Fc

leucócito, [268–271](#)  
na regulação da resposta imune humoral, [260–262](#)  
neonatal, [287](#)  
neonatal (FcRn), ligação da IgG ao, [99](#), [100f](#)

Receptores Fcγ (FcγRs)

composição da subunidade do, [268–270](#)  
FcγRI como, [269](#)  
na fagocitose de microrganismos, [76–77](#)  
FcγRII como, [269](#)  
FcγRIII como, [269–270](#)  
na fagocitose, [268](#)

- na fagocitose e ativação do fagócito, [270–271](#)
- Receptores Fc $\gamma$  II (Fc $\gamma$ RIIb, CD32)
  - anormalidades do, causando autoimunidade, [334](#)
  - na regulação da ativação da célula B, [260](#), [261f](#)
- Receptores Fc $\gamma$ RIIb, sinalização inibitória do, [271](#)
- Receptores Fc $\epsilon$  (Fc $\epsilon$ R), alta afinidade, na ligação da IgE, [422](#)
- Receptores imunes
  - família de, [141–143](#)
  - utilizando tirosinoquinasas não receptoras para sinalização, [139](#)
- Receptores inibitórios
  - das células assassinas naturais, [66](#)
    - estrutura e ligantes dos, [68](#)
    - funções dos, [66](#), [67f](#)
  - na modulação da sinalização, [143](#)
  - na regulação das respostas de célula T, [319–322](#)
  - sinalização pelo(s), na tolerância da célula B periférica, [328–329](#)
- Receptores *N*-formil met-leu-phe, [63](#)
- Receptores *scavenger*, [63](#)
- Receptores nucleares, para sinalização, [139](#)
- Receptores quiméricos de antígeno (CARs), células T expressando, na terapia adaptativa para tumores, [394](#)
- Receptores tipo Ig de leucócito (LIRs), [67](#)
- Receptores tirosinoquinase (RTKs), para sinalização, [139](#)
- Receptor Fc neonatal (FcRn), [287](#)
- Receptor Fc neonatal, ligação de IgG ao, [99](#), [100f](#)
- Receptor poli-Ig, no transporte de IgA, [298](#), [300](#)
- Recirculação de linfócito, [43–44](#)
- Recombinação V(D)J, [177–182](#)
  - defeitos na, SCID de, [442t](#), [444](#)
  - eventos sequenciais durante, [181](#), [182f](#)



- mecanismos de, [181–182](#)
- sinais de reconhecimento direcionando, [178–181](#)
- Reconhecimento direto de aloantígenos, [363, 363f-364f](#)
- Reconhecimento do antígeno
  - ativação da célula T citotóxica e, [235, 236f](#)
  - como sinal para ativação da célula T, [201–202](#)
  - direto, [363–364](#)
  - diversidade e, [103](#)
  - especificidade e, [102–103](#)
  - indireto, [363, 365](#)
  - maturação de afinidade e, [104f, 363](#)
  - pelas células T, [363f, 365](#)
  - pelas células T, [10](#)
- Reconhecimento dos aloantígenos, [360–363](#)
- Reconhecimento indireto de aloantígenos, [363, 365](#)
- Recrutamento, leucócito, [35](#) See also [Migração/recrutamento de leucócito](#)
- Rede extracelular de neutrófilo (NETs), na morte de microrganismos, [77–78](#)
- Região 3 de determinação de complementariedade (CDR3), [177](#)
- Região de dobradiça, nos anticorpos, [90, 93, 94f](#)
  - múltiplos locais de ligação e, [101, 102f](#)
- Regiões de determinação de complementariedade (CDRs), do domínio Ig, [90f, 91](#)
- Regulador autoimune (AIRE), [196, 318](#)
  - na deleção da célula T no timo, [318, 319f](#)
- Reguladores da atividade do complemento (RCA), [281](#)
- Rejeição
  - aloenxerto See [Rejeição a aloenxerto](#)
  - enxerto, [359–361](#)
    - genética da, [362f](#)
- Rejeição a aloenxerto

- aguda, [369–370](#)
- crônica, [369–371](#)
- hiperaguda, [369f](#), [370](#)
- padrões e mecanismos da, [368–369](#), [371](#)
- prevenção e tratamento da, [371–372](#), [376](#)
  - imunossupressão na, [372–375](#)
- Rejeição aguda, [369–370](#)
- Rejeição crônica, vasculopatia do enxerto e, [369–371](#)
- Rejeição hiperaguda, [368–370](#)
  - no transplante xenogeneico, [376](#)
- Rejeição mediada por anticorpo, aguda, [369f](#), [370](#)
- Repertório, anticorpo, [103](#)
- Repertório de linfócito, [6](#)
- Resposta antiviral, interferons de tipo I na, [80–81](#)
- Resposta imune inata precoce aos microrganismos, [9](#)
- Resposta imune mediada por célula, específica para HIV, [459](#)
- Resposta(s) ao anticorpo
  - aos antígenos do HIV, [460](#)
  - aos antígenos proteicos, dependente de célula T auxiliar, [245–259](#)
  - dependente de célula T, sequencia de eventos durante, [245–246](#)
  - T-independente, [259t](#), [260](#)
    - mecanismos de, [259–260](#)
    - proteção mediada por, [260](#)
- Resposta(s) da célula B
  - centro germinativo, [249–251](#)
  - extrafolicular, [249](#)
  - métodos para estudo, [515–516](#)
- Resposta(s) da célula T
  - aos aloantígenos, coestimulação na, [365–366](#)

- aos microrganismos intracelulares, diferenças individuais na, [346–347](#)
- declínio da, [211–212](#)
- fases da, [199–200](#), [201f](#)
- funcional, [206–211](#)
  - métodos para enumerar e estudar, [514–515](#)
- IL-2 na, [208](#), [209f](#)
- métodos de estudo, [513–515](#)
- natureza da, [132](#)
- regulação da, por receptores inibitórios, [319–322](#)

#### Resposta(s) imune(s)

- a bactérias extracelulares, efeitos danosos das, [343](#)
- alças de retroalimentação positiva regulando, [7](#)
- antitumoral, [388–389](#)
  - evasão das, [389–390](#), [391](#)
  - inibição ativa das, [390–391](#)
- ao HIV, [459–460](#)
- aos microrganismos
  - características gerais dos, [339–340](#)
  - visão geral da, [9–12](#)
- definição de, [1](#)
- na pele
  - doenças relacionadas às, [307–308](#)
  - inata e adaptativa, [305–307](#)
- no intestino, doenças relacionadas ao, [302–304](#)
- regulação das, [7](#)

#### Resposta(s) imune(s) adaptativa(s)

- ao HIV, [459–460](#)
- aos aloenxertos, [360–362](#), [368](#)
- aos microrganismos, [9–10](#), [12](#)

baço na, [31](#)

captura e apresentação de antígenos microbianos na, [9–10](#)

características principais da, [5–7](#)

estimulando a imunidade inata, [52](#)

estimulando tumores, [383–385](#)

imunidade humoral na, [11–12](#)

imunidade mediada por célula na, [10–11](#)

memória imunológica na, [12](#)

na pele, [305–307](#)

no sistema cardiovascular, [294](#)

reconhecimento do antígeno pelos linfócitos na, [10](#), [11f](#)

rejeição de enxerto devido à, [359–361](#)

tipos de, [3–5](#)

#### Resposta(s) imune(s) humoral(is)

à infecção bacteriana, complicações tardias da, [343](#)

aos antígenos proteicos dependentes de célula T, sequência de eventos nas, [245–246](#)

característica das, elucidada pelos conjugados hapteno-carreador, [248](#)

específica para HIV, [459](#)

fases das, [240f](#)

mudanças na estrutura do anticorpo durante, [104f](#)

primária e secundária, [240](#), [241f](#)

regulação das, pelos receptores Fc, [260–262](#)

visão geral das, [239–241](#)

#### Resposta(s) imune(s) inata(s)

ao HIV, [459](#)

aos microrganismos, precoce, [9](#)

funções e reações da(s), [51–52](#)

na autoimunidade, [330](#)

na estimulação da imunidade adaptativa, [81–82](#)

na pele, [305–307](#)

Resposta(s) inflamatória(s), [72–82](#)

citocinas pró-inflamatórias na(s), [73t](#), [75](#)

estimulação da(s), como função do complemento, [284–285](#)

fagocitose na(s), [76f](#), [78](#)

fator de necrose tumoral na(s), [73–74](#)

interleucina-1 na(s), [74–75](#)

interleucina-6 na(s), [75](#)

recrutamento de leucócito para locais de infecção na(s), [75–76](#)

Restrição de MHC, [108](#), [115–116](#)

Reticulo endoplasmático (ER)

montagem do complexo peptídeo-MHC de classe I no, [128](#)

transporte de peptídeo do citosol para, [127](#)

Retorno de anticorpo, [260–262](#)

Retroalimentação, anticorpo, [260–262](#)

Rinite alérgica, patogênese e terapia da, [432](#)

Rituximab, para doenças imunológicas, [409](#)

ROR $\gamma$ t, no desenvolvimento da célula T<sub>H</sub>17, [226](#)

## **S**

SAP (proteína associada a SLAM), [156](#), [250](#)

codificando mutações na, [448](#)

SCIN (inibidor de complemento estafilocócico), [287](#)

Segmentos hipervariáveis, [91](#), [92f](#)

Seleção negativa, [190](#), [316–317](#)

de linfócitos, [175](#)

de timócitos, [196](#), [317–318](#)

Seleção positiva, de linfócitos, [175](#)

Selectinas

- no recrutamento de leucócito, [37t](#), [38](#)
- rolamento de leucócitos no endotélio mediado por, [41–42](#)
- Sensibilidade de contato, [407](#)
- Sensibilização, [418](#)
  - aos aloantígenos, [365](#), [366f](#)
- Sensores citossólicos de DNA (CDSs), via de STING e, [62](#)
- Separação de célula ativada por fluorescência, [506–509](#)
- Serglicina, [236](#)
- Signalosoma NOD, [59](#)
- Signalossoma, [149](#)
- SIGN-R1, [278](#)
- Sinalização
  - receptor de antígeno, características gerais do, [142–143](#)
  - receptor imune, atenuação do, [160f](#), [161](#)
- Sinalização da citocina, na resposta à bactéria extracelular, [343](#)
- Sinalização do receptor coestimulador nas células T, [155–156](#)
- Sinalização do receptor de antígeno, características gerais dos, [142–143](#)
- Sinalização do receptor imune, atenuação do, [160f](#), [161](#)
- Sinalização *inside-out*, [38–39](#)
- Sinalização JAL-STAT, [164–166](#)
- Sinapse imunológica, [145–147](#)
  - formação da, [149–151](#)
- Sinapses, na recombinação V(D)J, [143](#), [147f](#)
- Síndrome da hiper-IgE, [227](#)
- Síndrome da hiper-IgM ligada ao X, [248](#)
- Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), [451–462](#) See also [Vírus da imunodeficiência humana \(HIV\)](#)
  - características clínicas da, [459](#)
  - desenvolvimento de vacina para, [461](#)
  - epidemiologia da, [458](#)



patogênese da, [455–458](#)  
tratamento e prevenção da, [460–462](#)

Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), [79–80](#)

Síndrome de Chédiak-Higashi, [439t](#), [440](#)

Síndrome de DiGeorge, deficiência de célula T na, [27](#), [442t](#), [443](#)

Síndrome de Goodpasture, [403t](#)

Síndrome de Job, [165–166](#), [227](#)

Síndrome de Omenn, [444](#)

Síndrome de Wiskott-Aldrich, [448t](#), [449](#)

Síndrome do linfócito BARE, [119](#), [445](#), [448t](#)

Síndrome inflamatória sistêmica, [343](#)

Síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS), [326](#)

Síndrome linfoproliferativa ligada ao X (XLP), [156](#), [250](#), [449](#)

Síndrome poliendócrina autoimune tipo I (APS1), [318](#)

Síndromes autoinflamatórias, [61](#)

Síndromes da hiper-IgM, [446t](#), [448](#)

Síndromes linfo-histiocitose hemofagocítica familiar (HLH), [449](#)

Síndromes periódicas associadas à criopirina (CAPS), [61](#)

Sino marginal, do baço, [31](#), [32f](#)

Sirolimus, na imunossupressão, [373](#)

Sistema complemento, [70–71](#), [272–287](#)  
ativação do See [Ativação do complemento](#)  
deficiências do complemento e, [285–286](#)  
evasão pelo, pelos microrganismos, [286–287](#)  
funções do complemento no, [284–285](#)  
normal, efeitos patológicos do, [286](#)

Sistema de *cluster* de diferenciação (CD), para nomeação das moléculas de superfície celular, [19–20](#)

Sistema geniturinário, imunidade no, [305](#)

Sistema imune

células do, [13](#)

defeitos funcionais dos, na doença por HIV, [457](#)

definição de, [1](#)

função fisiológica do, [1](#)

gastrointestinal, [291f](#), [304](#) See also [Imunidade do sistema gastrointestinal](#)

regional, [32–33](#)

Sistema imune adaptativo

componentes celulares do, [7–9](#)

desenvolvimento evolucionário do, [2](#)

ligação do antígeno no, por moléculas de reconhecimento de antígeno, [87](#), [88t](#)

Sistema imune cutâneo, [305–306](#), [308](#)

doenças relacionadas com o, [307–308](#)

respostas imunes inata e adaptativa no, [305–307](#)

Sistema imune inato

componentes celulares da, [63–69](#) See also [Componentes celulares do sistema imune inato](#)

moléculas de reconhecimento padrão do, [55t](#)

na resposta antiviral, [80–81](#)

receptores padrão de reconhecimento associados a células e sensores See also [Receptores de reconhecimento padrão](#)

reconhecimento de microrganismos e próprias células danificadas pelo, [52–54](#)

reconhecimento solúvel e moléculas efetoras do See also [Moléculas solúveis de reconhecimento e efetoras da imunidade inata](#)

Sistema linfático, anatomia e funções do, [28](#)

Sistema respiratório, imunidade no, [304–305](#)

Sistemas imunes regionais, [32](#)

Sorologia, [87–88](#)

STAT3, no desenvolvimento da célula T<sub>H</sub>17, [226](#)

Subnutrição, de imunodeficiências adquiridas, [450–451](#)

Subnutrição proteína-caloria, imunodeficiências adquiridas por, [450–451](#)

Substituição de gene, para imunodeficiências congênitas, [450](#)  
Superantígenos, [143–144](#)  
    bacterianos, [343](#)  
Superfamília Ig, [90–92](#)  
Supressores da sinalização de citocina (SOCS), na regulação das vias JAK-STAT, [166](#)  
Suscetibilidade genética  
    a doenças alérgicas, [430t](#), [431](#)  
    para autoimunidade, [329](#), [330f](#)  
Suscetibilidade mendeliana a doenças micobacterianas, [439t](#)

## T

Tapasina, [127–128](#)  
TAVI, [260](#)  
TCR See [Receptores de célula T \(TCRs\)](#)  
Tecido linfóide associado à gota (GALT), [294–295](#)  
Tecido(s)  
    diferente, linfócitos nos, [293f](#)  
    privilegio imune, [309–312](#)  
Tecido(s) linfóide(s)  
    anatomia e funções dos, [24–33](#)  
    associado à mucosa, [32](#), [289–290](#)  
    associado ao intestino, [294–295](#)  
    linfomas do, respostas imunes no intestino e, [304](#)  
Técnica de Cre/lox recombinase, [21](#)  
Técnicas de laboratório  
    camundongos transgênicos e alvo de gene como, [510–511](#), [513](#)  
    para estudo das respostas do linfócito B, [515–516](#)  
    para estudo das respostas do linfócito T, [513–515](#)  
        ativação induzida por antígeno das populações de célula T com uma única

- especificidade de antígeno, [514](#)
- ativação induzida por antígeno das populações de célula T policlonal como, [514](#)
- ativação policlonal das células T como, [513–514](#)
- funcional, [514–515](#)
- usadas na imunologia, [503](#)
- utilizando anticorpos, [503–510](#)
  - citometria de fluxo como, [506–509](#)
  - cromatografia de imunoafinidade como, [505f](#), [506](#)
  - imunofluorescência e imuno-histoquímica como, [509](#)
  - imunoprecipitação como, [505f](#), [506](#)
  - na identificação e purificação de proteínas, [504–505](#)
  - na marcação e detecção de antígenos nas células e tecidos, [506](#)
  - na medida das interações antígeno-anticorpo, [509–510](#)
  - na quantificação de antígeno por ensaios, [503–504](#)
  - purificação de células como, [509](#)
  - separação de célula ativada por fluorescência como, [506–508](#), [509](#)
  - western blotting* como, [506](#), [507f](#)
- Terapias anticitocinas, para doenças imunológicas, [409](#)
- Testículo, privilégio imune no, [310](#)
- Tetrâmeros peptídeo-MHC, para enumerar as células T, [514–515](#)
- Timócitos, [27–28](#), [190](#)
  - duplo-negativos, [192–194](#)
  - duplo-positivos, [194f](#), [195](#)
  - positivos simples, [194f](#), [195](#)
  - seleção negativa dos, [196](#), [317–318](#)
  - seleção positiva dos, [195–196](#)
- Tirosinoquinase de Bruton (Btk), no desenvolvimento da célula B, [186–187](#)
- Tirosinoquinas
  - ativação das, durante a ativação da célula T, [147–149](#)

estrutura modular das, [140f](#)  
não receptor, receptores celulares usando, [139](#)  
receptor, para sinalização, [139](#)

TLRs See [Receptores do tipo Toll \(TLRs\)](#)

TNF See [Fator de necrose tumoral \(TNF\)](#)

Tolerância, [7](#)

aos próprios antígenos, [4](#)  
central, [196](#)  
de mucosa, [301](#)  
específica do doador, indução da, [375–376](#)  
imunológica, [315–329](#) See *also* [Tolerância imunológica](#)  
induzida por antígenos proteicos estranhos, [329](#)  
oral, [301–302](#), [329](#)

Tolerância central, [175](#), [196](#), [316f](#), [317](#)

nas células B, [327](#), [328f](#)  
nas células T, [317–319](#)

Tolerância da célula B, [327–329](#)

central, [327](#), [328f](#)  
periférica, [327–329](#)

Tolerância da célula T, [317–327](#)

central, [317–319](#)  
periférica, [318–322](#), [325f](#), [326](#)

Tolerância imunológica

características gerais da, [315–317](#)  
definição de, [315](#)  
tolerância do linfócito B como, [327–329](#)  
tolerância do linfócito T como, [317–327](#)

Tolerância periférica, [316f](#), [317](#)

nas células B, [327–329](#)

nas células T, [318–322](#), [325f](#), [326](#)

nas células T CD8<sup>+</sup>, [326](#)

Tolerogenicidade, aos próprios antígenos, fatores determinantes, [326–327](#)

Tolerogênicos, na tolerância imunológica, [315](#)

Toxinas microbianas, neutralização das, [267](#), [268f](#)

Tplot de Kabat-Wu, [92f](#)

TRAFs (fatores associados a receptor de TNF), [163–164](#)

na ativação da célula B, [248](#)

Transcitose, [298](#), [300f](#)

Transcrições de linha germinativa

colaboração dos, com AID, mecanismo da, [254](#)

na troca de isotipo, [253–254](#)

Transdução de sinal

pelo complexo do receptor de célula B, [158–160](#)

proteínas e adaptadores modulares de sinalização na, [140f](#), [141](#)

TCR, defeitos na, [448t](#), [449](#)

visão geral da, [138–141](#)

Transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs), na sinalização JAK-STAT, [164–166](#)

Transferase deoxinucleotídeo terminal (Td), [183](#)

Transfusão, [359](#)

de sangue, [377–379](#)

Transfusão de sangue, grupos antigênicos ABO e Rh e, [377–379](#)

Transplante

célula-tronco hematopoética, [379–381](#)

transfusão de sangue como, [377–379](#)

xenogênico, [376–377](#)

Transplante alogênico, [360](#)

Transplante renal, correspondente HLA no, [371](#), [372f](#)



Transporte associado a processamento de antígeno (TAP), [127–128](#)

Troca de classe, células T auxiliares na, [11](#)

Troca de isotipo (classe) de cadeia pesada, [98](#)

mecanismos da, [253–254](#)

na resposta imune humoral, [239–240](#), [251–252](#), [254](#)

Troca de recombinação, na troca de isotipo, [253–254](#)

Trombocitopenia púrpura, autoimune, [403t](#)

Tuberculose, [346](#)

Tumor(es)

crescimento de, promoção da imunidade inata e adaptativa, [396–397](#)

detecção de, anticorpos monoclonais no, [97](#)

imunidade aos, [383–397](#)

imunodeficiências adquiridas do, [451](#)

imunoterapia para, [391–396](#)

mecanismos de evasão imune dos, [389–391](#)

respostas imunes aos, [388–389](#)

## U

Ubiquitina, [127](#)

Ubiquitinação, de proteínas citossólicas, [125](#), [127](#)

Ubiquitina ligases E3, na degradação de proteínas de sinalização, [161](#), [162f](#)

União, na recombinação V(D)J, [182](#)

Urticária, patogênese e terapia da, [433](#)

## V

Vacinação, perspectiva histórica da, [1](#)

Vacinas

antígenos purificados, [355](#)

antígenos sintéticos, [355](#)

bacterianas e virais atenuadas e inativadas, [347f](#), [354–355](#)  
conjugada, [258](#)  
contra HIV, desenvolvimento de, [461](#)  
desenvolvimento de, estratégias para, [354t](#), [356](#)  
DNA, [355–356](#)  
efetividade das, [2t](#)  
imunidade humoral induzida por, [266t](#)  
oral, [301–302](#)  
tumor, [384f](#), [386t](#), [391–392](#)  
virais vivas, com vírus recombinante, [355](#)

Vacinas atenuadas, [354t](#), [355](#)

Vacinas bacterianas, atenuadas e inativadas, [354t](#), [355](#)

Vacinas com antígeno purificado, [355](#)

Vacinas conjugadas, [258](#)

Vacinas de antígeno sintético, [355](#)

Vacinas inativadas, [347f](#), [354–355](#)

Vacinas orais, [301–302](#)

Vacinas tumorais, [391–393](#)

Vacinas virais vivas, [355](#)

Valência, de interações anticorpo-antígeno, [101](#), [102f](#)

Vasculite, causada por ANCA, [403](#)

Vasculopatia do enxerto, rejeição crônica e, [369–371](#)

Veneno de cobra, destruição do, proteases derivadas de mastócito no, [434](#)

Veneno de inseto, destruição do, proteases derivadas de mastócitos na, [434](#)

Vênulas endoteliais altas (HEVs), [29](#), [38](#), [44](#)

Via clássica da ativação do complemento, [70](#), [272](#), [273f](#), [276–278](#)

Via da interleucina-12/IFN- $\gamma$ , defeitos herdados na, [439t](#), [441](#)

Via da lectina, da ativação do complemento, [70–71](#), [273f](#), [278](#)

Via da Ras-MAP quinase

na ativação da célula B, [159–160](#)

na ativação da célula T, [145](#), [151](#)

Via do MHC de classe II para processamento e apresentação de proteínas vesiculares, [124f](#), [125t](#), [128](#)

Via do MHC de classe I para processamento e apresentação de proteínas citossólicas, [124f](#), [125t](#), [128](#)

Via do receptor de morte da apoptose, [325f](#), [326](#)

Via extrínseca da apoptose, [325f](#), [326](#)

Via intrínseca da apoptose, [325f](#), [326](#)

Via mitocondrial da apoptose, [325f](#), [326](#)

Vias de sinalização da proteinoquinase ativada por mitógeno (MAP), nas células T, [151f](#), [152](#)

Vias de sinalização mediadas por cálcio nas células T, [152](#)

Vias de sinalização mediadas por inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP3) nas células T, [152](#)

Vias de sinalização mediadas por proteinoquinase C (PKC) nas células T, [152](#)

Vias de sinalização nas células T mediadas por diacilglicerol (DAG), [152](#)

Vias de STING, sensores citossólicos de DNS e, [62](#)

Vigilância imune, [383](#)

Vírus

evasão imune pelos, [350–352](#)

imunidade aos, [348–352](#)

adaptativa, [348–350](#)

inata, [348](#), [349f](#)

imunodeficiência humana, [451–462](#) See also [Vírus da imunodeficiência humana \(HIV\)](#)

infecções de

erradicação de, reações imunes mediadas por mastócitos na, [434](#)

respiratória, exacerbações da asma e, [431](#)

mecanismos de patogenicidade dos, [341t](#)

oncogênicos, antígenos dos, [387](#)

recombinantes, vacinas com vírus vivos envolvendo, [355](#)

vacinas para, atenuada e inativada, [354–356](#)

Vírus da imunodeficiência humana (HIV), [451–462](#) See also [Síndrome da imunodeficiência adquirida \(AIDS\)](#)

características clínicas da, [458–459](#)

ciclo de vida do, [452–455](#)

curso clínico da, [455–459](#)

estrutura do, [452](#)

evasão imune pelo, mecanismos de, [460](#)

genoma do, [452](#), [453f](#)

imunodeficiência causada pelo, mecanismos de, [456–458](#)

patogênese do, [455–456](#), [458](#)

reciclagem do, [458](#)

reservatórios do, [458](#)

respostas imunes ao, [459–460](#)

transmissão do, [458](#)

Vírus de Epstein Barr (EBV), [248](#)

Vírus oncogênicos, antígenos dos, [387](#)

VLA-4 (antígeno 4 muito tardio), [37t](#), [38](#)

vacinas contra, desenvolvimento de, [461](#)

## **W**

*Western blotting*, [506](#), [507f](#)

## **X**

Xenoantígenos, [360](#)

Xenoinxertos, [360](#)

## **Z**

ZAP-70 (proteína de 70 kD associada à  $\zeta$ ), [147](#), [149](#)

deficiência de, [445](#)

Zimogênios, na ativação do complemento, [70](#), [272](#)

Zona de célula B, [242](#)

Zona de equivalência, nos complexos antígeno-anticorpo, [101–103](#)

Zona do manto, do folículo circundante do centro germinativo, [250](#)

Zona marginal de células B, [31](#), [188–189](#)

respostas de anticorpos mediadas pelas, [241](#), [242f](#)

Zona marginal do baço, [31](#), [32f](#)