

Curso de Farmácia
Disciplina 0420136 – Integrado MIP (Noturno)

Imunidade Inata: receptores celulares e solúveis

Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes

Departamento de Imunologia
Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo

Definições: respostas imunológicas

Quanto ao tempo de ação

**RESPOSTA IMUNE INATA OU NATURAL
(PRÉ-FORMADA)**

**Barreiras biológicas
Inflamação**

**RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA OU ADQUIRIDA
(NEOFORMADA)**

Geração de memória

Imunidade Inata

- mediada por mecanismos que já existem antes do dano/infeção
- pronta para atuar frente a um desafio (respostas rápidas)
- duas respostas principais: inflamação e defesa anti-viral



Barreiras anatômicas (físicas, químicas)

hoje - Pele, epitélios de mucosa; moléculas antimicrobianas

Células (*no sangue, nos tecidos*)

hoje- Fagócitos (macrófagos, neutrófilos) células dendríticas

hoje- Granulocitos

hoje- Células natural killer (NK)

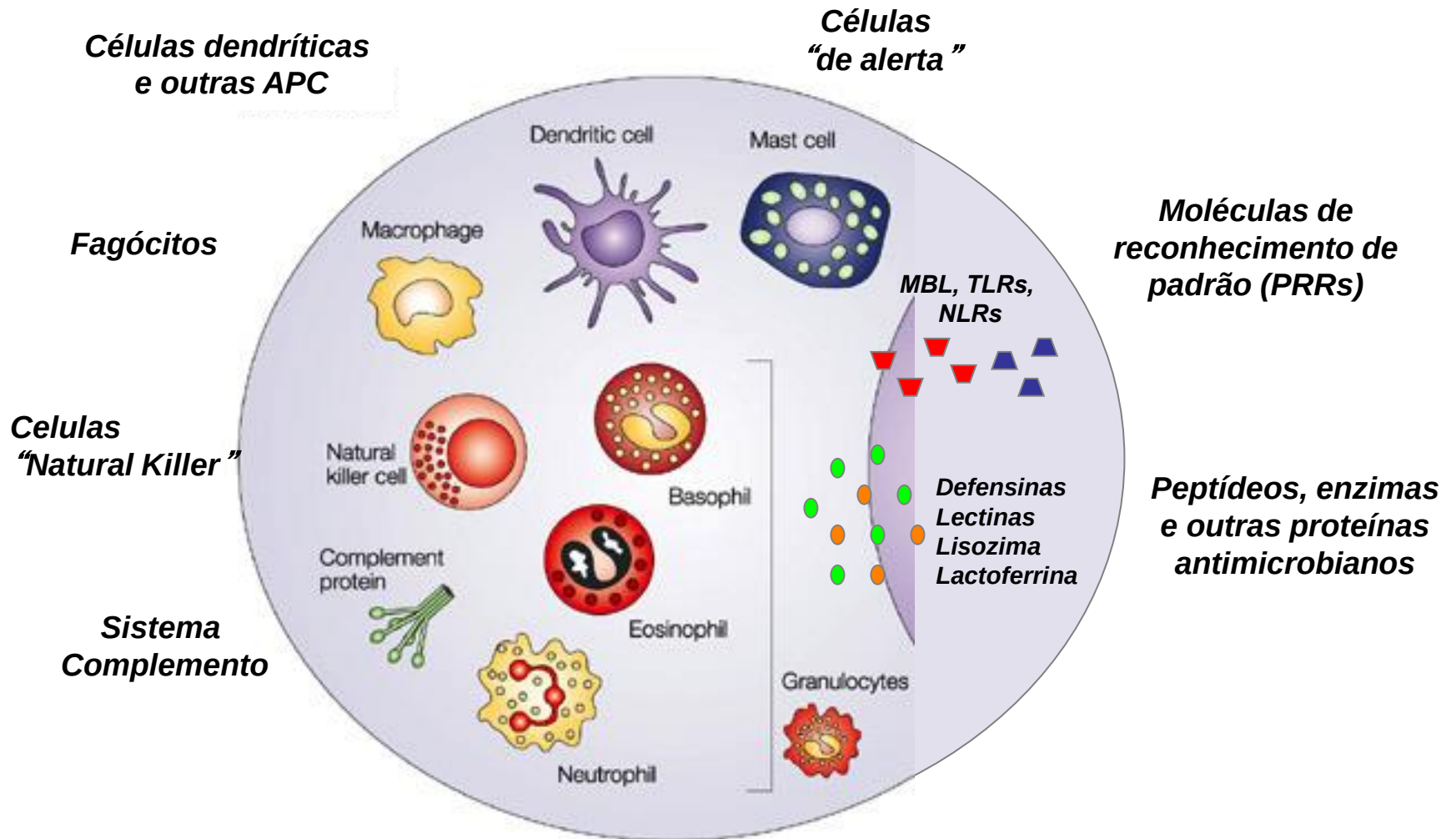
Receptores & Fatores solúveis

19/08- PRRs, Lectinas e aglutininas, Sistema Complemento

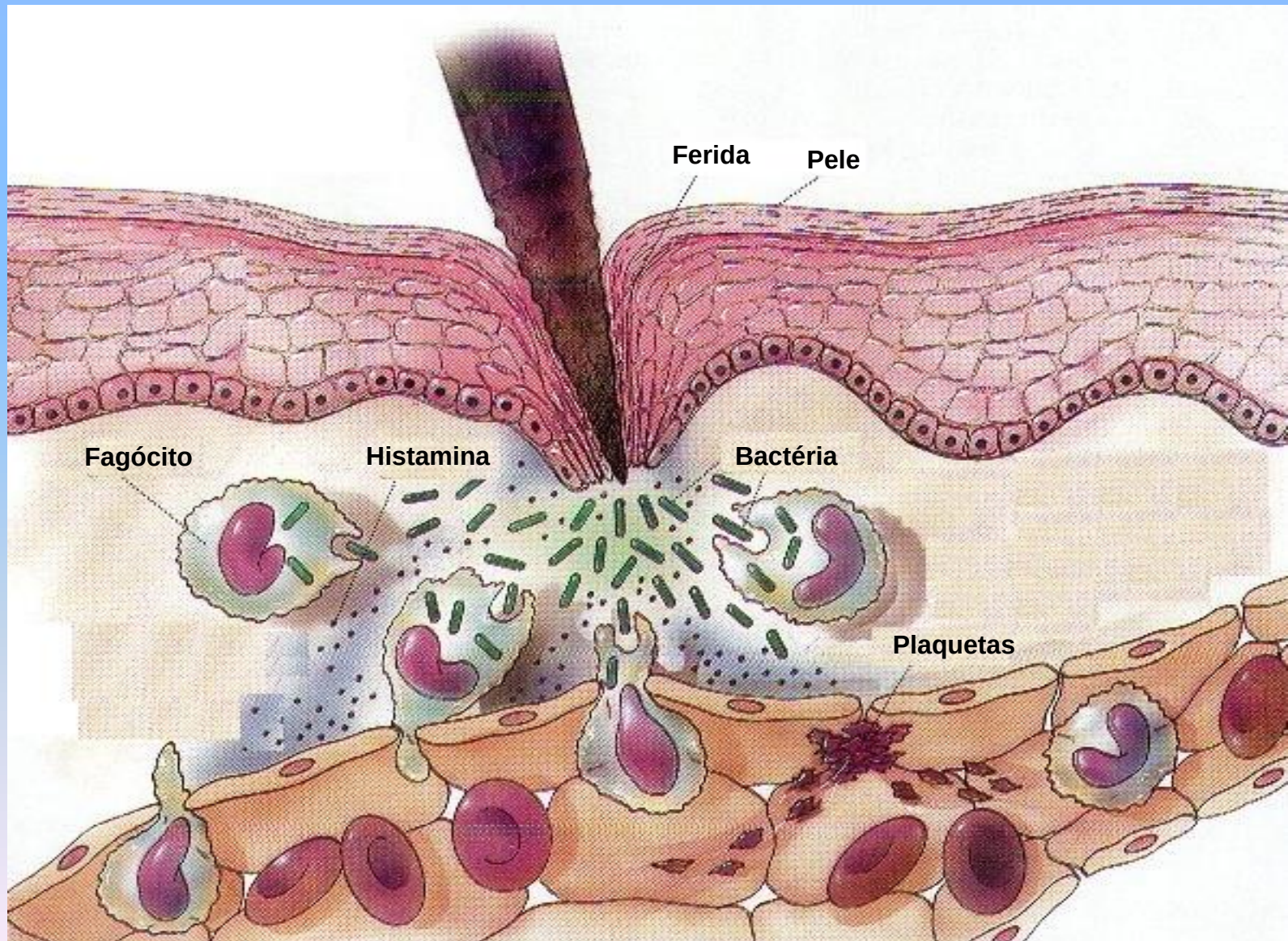
Tópicos Essenciais da Aula

- 1. Como os componentes da imunidade natural reconhecem os microrganismos e os sinais de dano/lesão?**
- 2. Quais respostas são geradas após o reconhecimento desses microrganismos e sinais de dano/lesão?**
- 3. Sistema complemento: vias de ativação, mecanismos efetores e regulação.**

Imunidade Inata e seus elementos



Ruptura de Barreira Física (Invasão)



Ruptura de Barreira Física (Invasão)

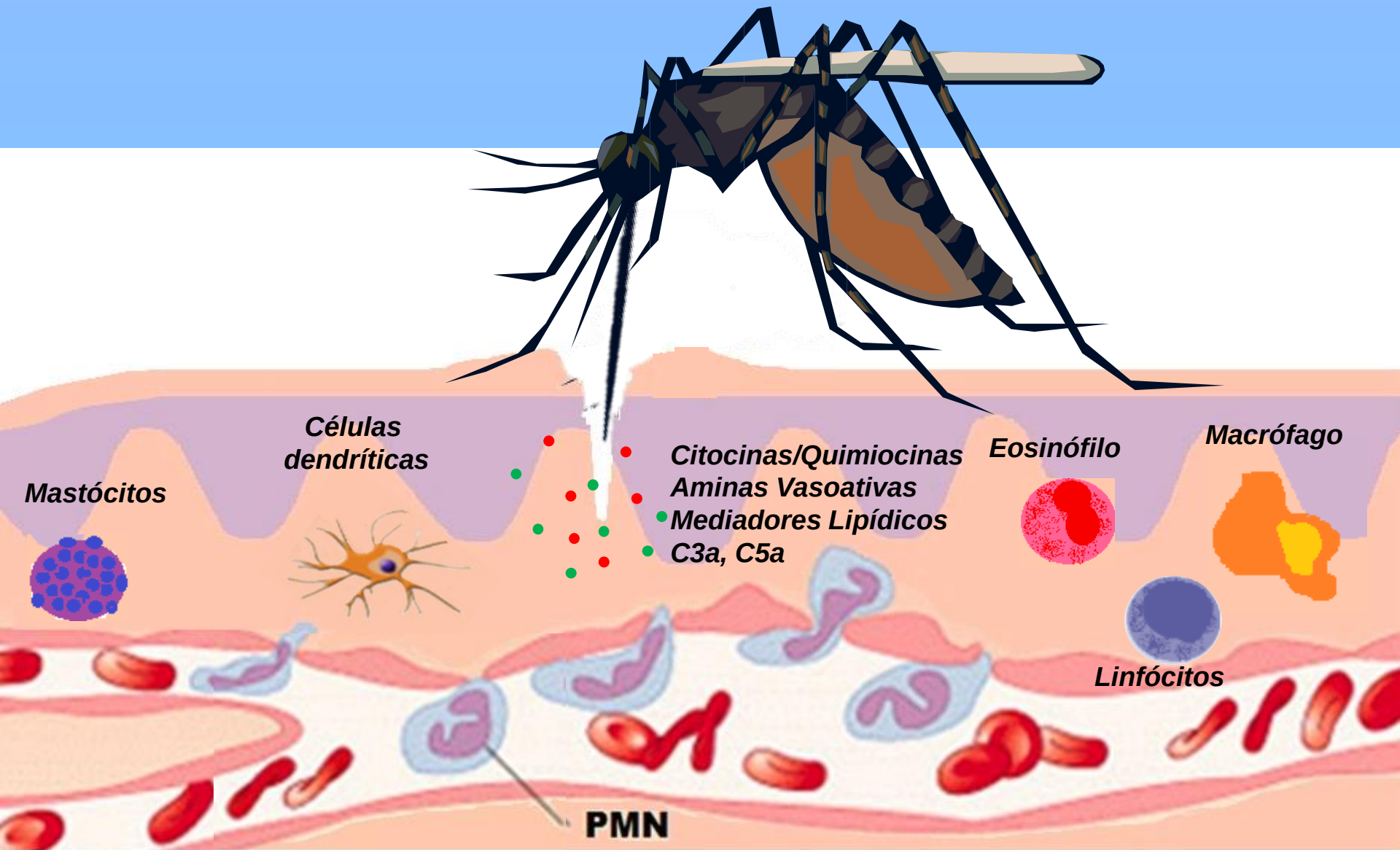


Fonte: Getty Images



<https://www.catseyepest.com/blog/how-to-remove-tick>

Pele: Células Residentes, Mediadores Inflamatórios e Células Inflamatórias



INFLAMAÇÃO



CALOR

RUBOR

TUMOR

DOR

**PERDA
DA FUNÇÃO**

SINAIS CLÁSSICOS DA INFLAMAÇÃO

Imunidade Inata: Base do Reconhecimento

MAMPs

PAMPs

DAMPs

Tipo de Microrganismo		
Padrões Moleculares Associados ao Patógeno		
Ácidos nucleicos	ssRNA dsRNA CpG	Vírus Vírus Vírus, bactérias
Proteínas	Pilina Flagelina	Bactérias Bactérias
Lipídeos da parede celular	LPS Ácido lipoteicoico	Bactérias Gram-negativa Bactérias Gram-positiva
Carboidratos	Manana Glucanas	Fungos, bactérias Fungos
Padrões Moleculares Associados ao Dano		
Proteínas induzidas pelo estresse	HSPs	—
Cristais	Urato monossódico	—
Matriz extracelular proteoliticamente clivada	Peptídeos de proteoglicanas	—
Mitocôndria e componentes mitocondriais	Peptídeos formilados e ATP	—
Proteínas nucleares	HMGB1, histonas	—

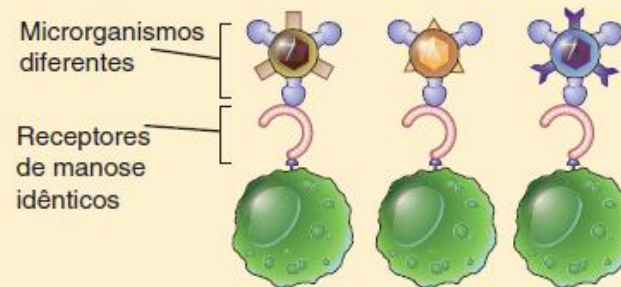
ATP, trifosfato de adenosina; CpG, oligonucleotídeo rico em citosina-guanina; dsRNA, RNA de dupla fita; HMGB1, proteína de alta mobilidade do grupo box 1; HSP, proteína de choque térmico; LPS, lipopolissacarídeo; ssRNA, RNA de fita simples.

Imunidade Inata:

Características do Reconhecimento

Especificidade

Para estruturas compartilhadas por classes de microrganismos (padrões moleculares associados ao patógeno)

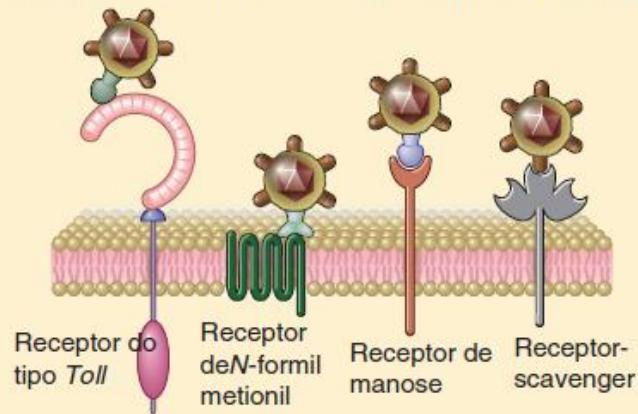


Número de moléculas microbianas reconhecidas

Cerca de 1.000 padrões moleculares (estimativa)

Receptores

Codificado na linhagem germinativa; diversidade limitada (receptores de reconhecimento de padrão)



Número e tipos de receptores

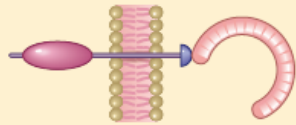
< 100 tipos diferentes de receptores invariáveis

Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula

Receptores de Reconhecimento de Padrão

Associados à Célula

TLRs



NLRs



RLRs



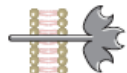
CDSs



CLRs



Receptores Scavenger

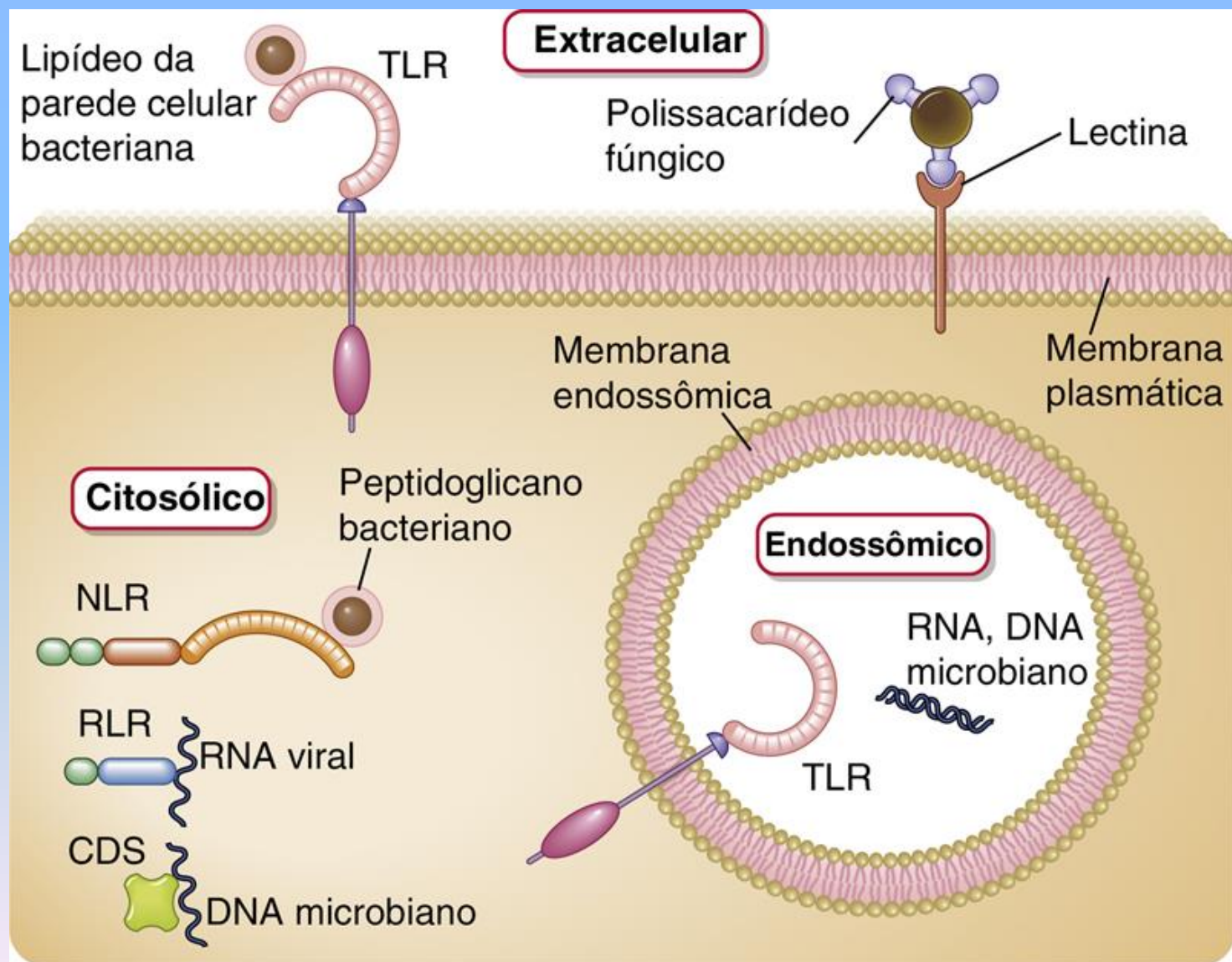


N-Formyl met-leu-phe receptors



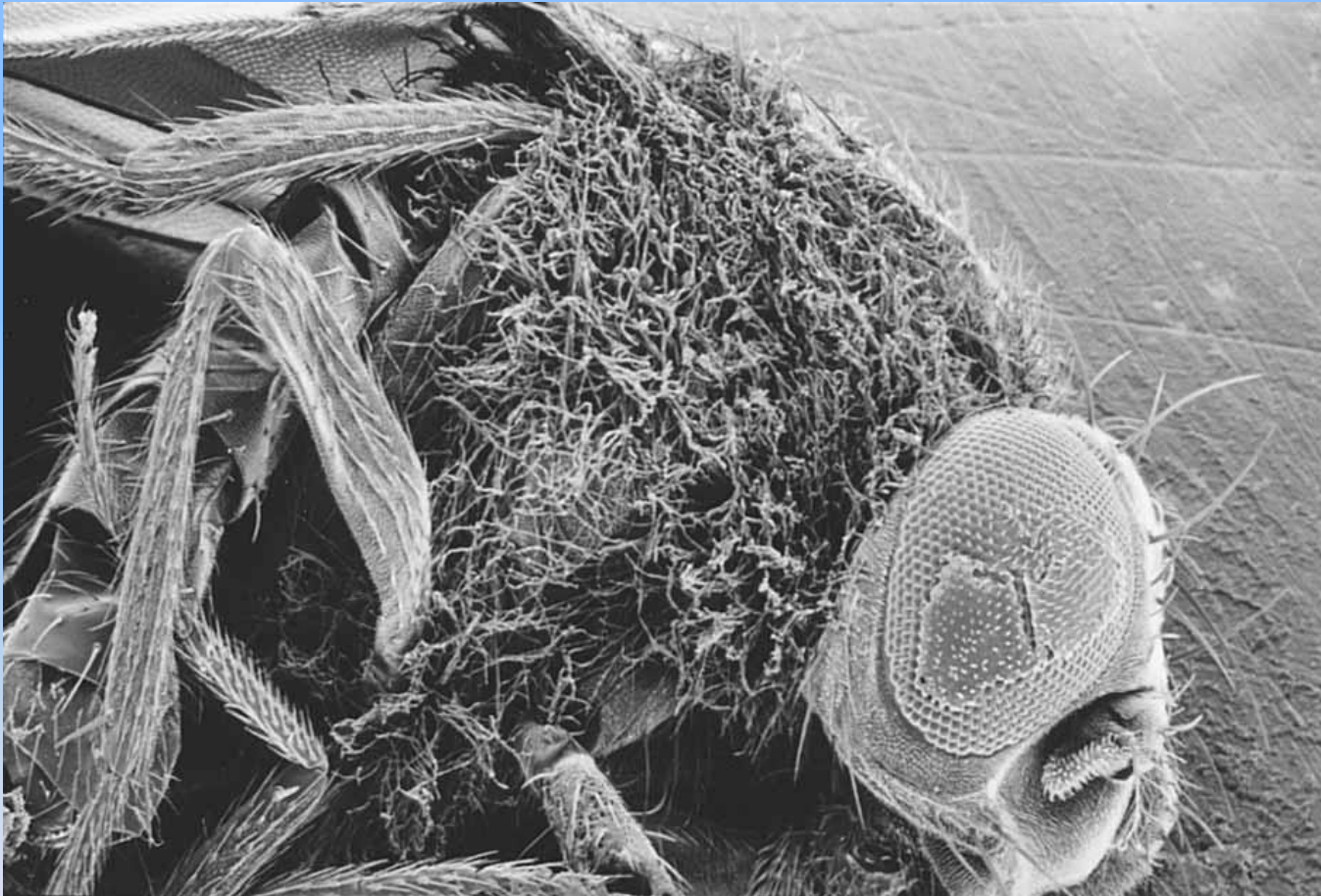
[Sem título]

Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula



Reconhecimento de Estruturas Conservadas

Receptores do tipo Toll (Toll-like receptors – TLRs)

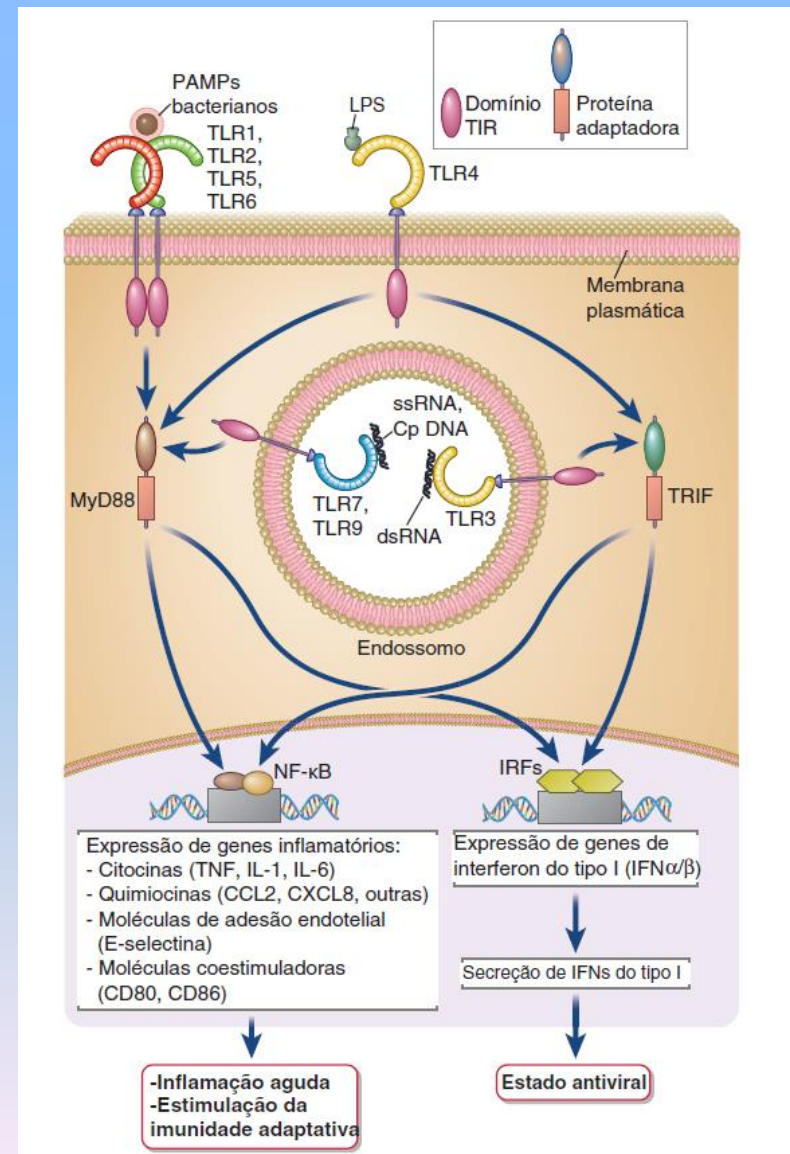
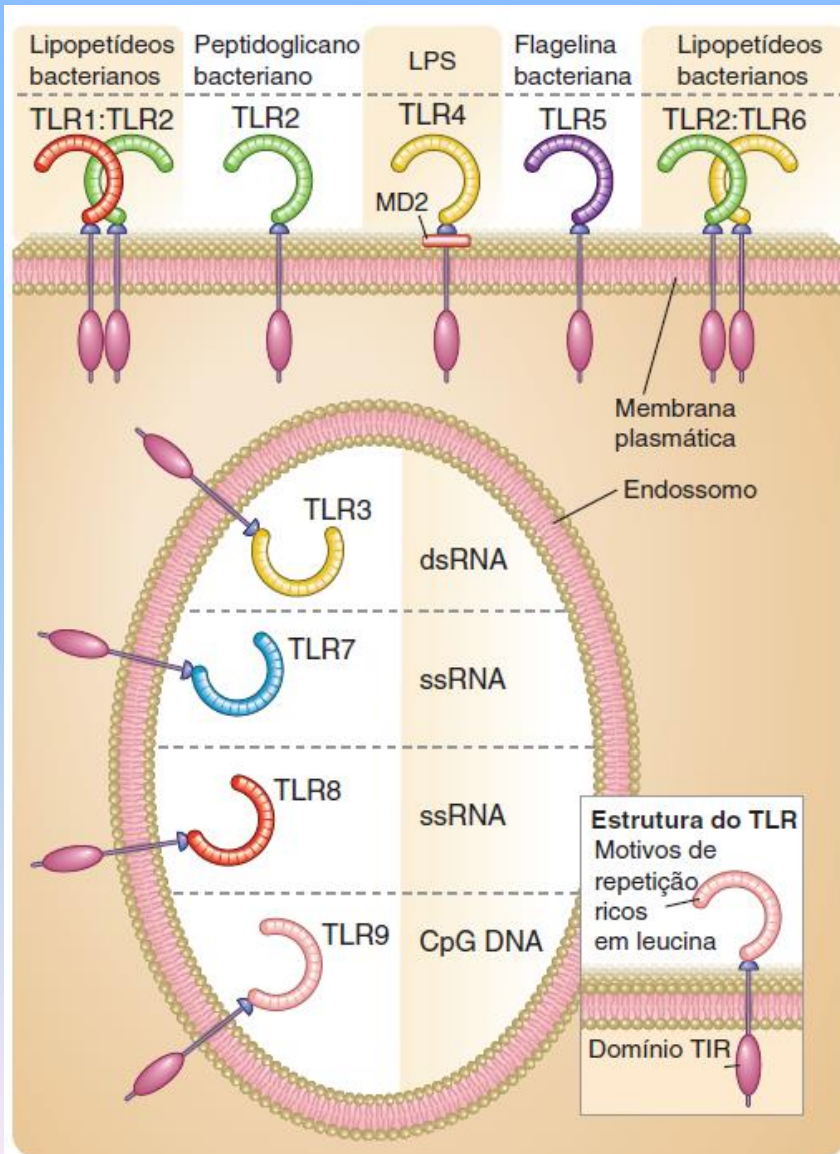


Cell, Vol. 86, 973-983, September 20, 1996, Copyright ©1996 by Cell Press

**The Dorsoventral Regulatory Gene Cassette
spätzle/Toll/cactus Controls the
Potent Antifungal Response in *Drosophila* Adults**

Bruno Lemaître, Emmanuelle Nicolas, Lydia Michaut,
Jean-Marc Reichhart, and Jules A. Hoffmann

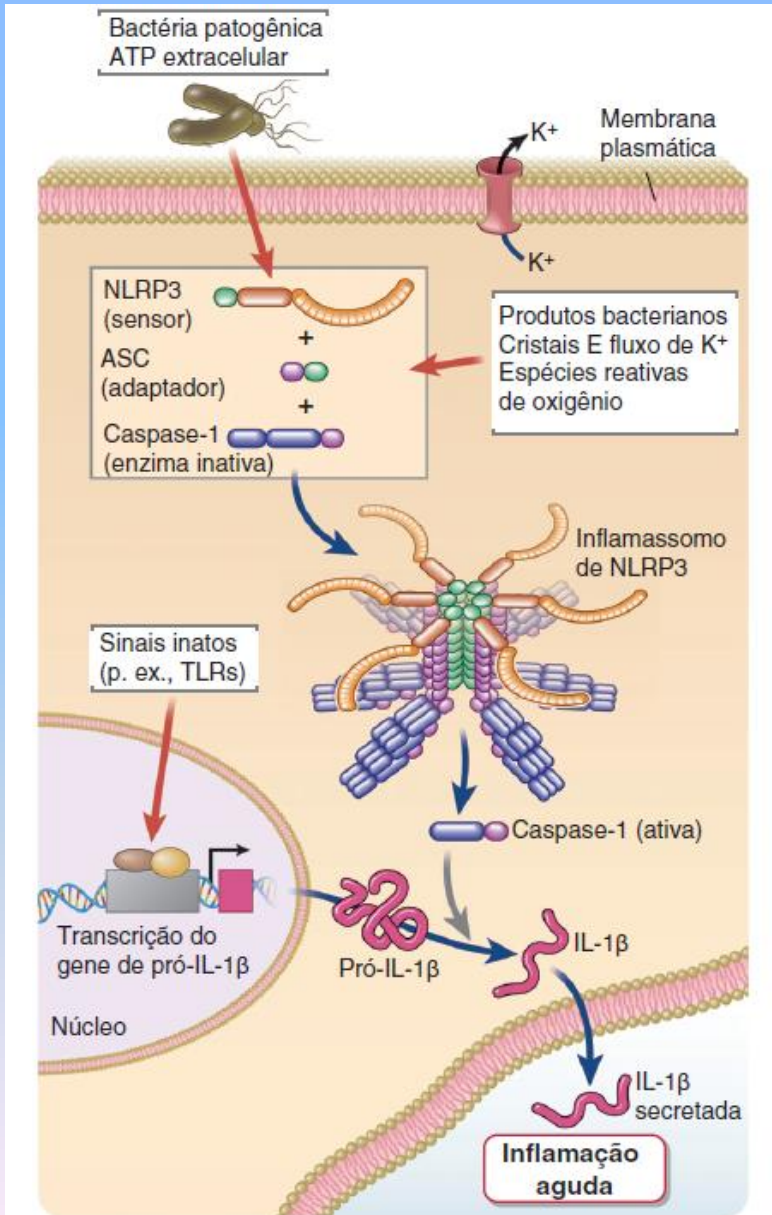
Receptores do tipo Toll (Toll-like receptors - TLRs)



Receptores do tipo NOD (NOD-like receptors - NLRs)

Subfamília	Exemplos	Estrutura do domínio típica	Estímulos ativadores	Função
NLRA	CIITA		IFN- γ	Expressão do MHC de classe II
NLRB	NAIP		Flagelina	Controle da infecção por <i>Legionella pneumophila</i>
NLRC	NOD1, NOD2, NLRC3-5		DAP (NOD1)	Ativação de NF- κ B
			MDP (NOD2)	Ativação de NF- κ B, autofagia, produção de interferon tipo I
			Flagelina (NLRC4)	Ativação de caspase 1, morte celular
NLRP	NLRPs, 1-10		ATP extracelular, alúmen, asbestos, toxinas bacterianas, sílica, urato de sódio, ROS, K ⁺ citosólico reduzido (NLRP3)	Ativação de caspase 1
			Lipopeptídeos (NLTP7)	Ativação de caspase 1

Inflamassomo



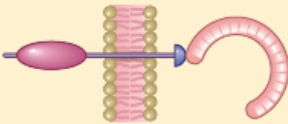
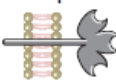
Estímulos capazes de ativar o inflamassomo:

- produtos microbianos
- cristais ambientais ou endogenamente derivados
- diminuição das concentrações citosólicas de íon potássio (K⁺)

Exemplos de reconhecimento:

- NLRP4: flagelina citosólica, componentes do sistema de secreção do tipo III de bactérias
- NLRP1: toxina letal do antraz
- NLRP3: cristais de ácido úrico, cristais de hidróxido de alumínio, ATP liberada de mitocôndrias, sílica, produtos bacterianos, toxinas bacterianas, DNA/RNA bacterianos, vírus influenza

Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula

Receptores de Reconhecimento de Padrão	Localização	Exemplos específicos	Ligantes (PAMPs ou DAMPs)
Associados à Célula			
TLRs 	Membrana plasmática e membranas endossômicas de DCs, fagócitos, células B, células endoteliais e muitos outros tipos celulares	TLRs 1-9	Várias moléculas microbianas, incluindo LPS e peptidoglicanas bacterianas, ácidos nucleicos virais
NLRs 	Citosol de fagócitos, células epiteliais e outras células	NOD1/2 Família NLRP (inflamassomos)	Peptidoglicanas da parede celular bacteriana Cristais intracelulares (urato, sílica); alterações nas concentrações citosólicas de ATP e íons; dano lisossomal
RLRs 	Citosol de fagócitos e outras células	RIG-1, MDA-5	RNA viral
CDSs 	Citosol de muitos tipos celulares	AIM2; CDSs associados a STING	DNA bacteriano e viral
CLRs 	Membranas plasmáticas de fagócitos	Receptor de manose <i>DC-sign</i> Dectinas-1 e -2	Carboidratos da superfície microbiana com manose e frutose terminais Glucanas presentes em paredes celulares de fungos e bactérias
Receptores Scavenger 	Membranas plasmáticas de fagócitos	CD36	Diacylglicerídeos microbianos
N-Formyl met-leu-phe receptors  [Sem título]	Membranas plasmáticas de fagócitos	FPR e FPRL1	Peptídeos contendo resíduos <i>N</i> -formilmetionil

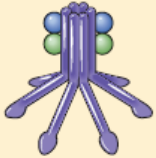
Receptores de reconhecimento de padrão solúveis

Receptores de Reconhecimento de Padrão *Solúveis*

Pentraxinas



Colectinas



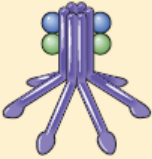
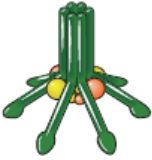
Ficolinas



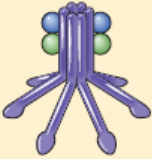
Complemento



Receptores de reconhecimento de padrão solúveis

Receptores de Reconhecimento de Padrão Solúveis	Localização	Exemplos específicos	Ligantes (PAMPs ou DAMPs)
Pentraxinas 	Plasma	Proteína C reativa	Fosforilcolina e fosfatidiletanolamina microbianas
Colectinas 	Plasma Alvéolos	Lectina ligante de manose Proteínas surfactantes SP-A e SP-D	Carboidratos com manose e frutose terminais Várias estruturas microbianas
Ficolinas 	Plasma	Ficolina	Componentes <i>N</i> -acetilglicosamina e ácido lipoteicoico de paredes celulares de bactérias Gram-positivas
Complemento 	Plasma	Várias proteínas do complemento	Superfícies microbianas

Receptores de reconhecimento de padrão solúveis

Receptores de Reconhecimento de Padrão Solúveis	Localização	Exemplos específicos	Ligantes (PAMPs ou DAMPs)
Pentraxinas 	Plasma	Proteína C reativa	Fosforilcolina e fosfatidiletanolamina microbianas
Colectinas 	Plasma Alvéolos	Lectina ligante de manose Proteínas surfactantes SP-A e SP-D	Carboidratos com manose e frutose terminais Várias estruturas microbianas
Ficolinas 	Plasma	Ficolina	Componentes <i>N</i> -acetilglicosamina e ácido lipoteicoico de paredes celulares de bactérias Gram-positivas
Complemento 	Plasma	Várias proteínas do complemento	Superfícies microbianas

Tópicos Essenciais da Aula

- 1. Conhecer as vias de ativação do Sistema Complemento.***
- 2. Compreender os mecanismos efetores do Sistema Complemento no sistema imunológico.***
- 3. Como o Sistema Complemento é regulado, de maneira a evitar o dano às nossas células e tecidos?***
- 4. Deficiências do Sistema Complemento: aula de imunodeficiências primárias.***

Jules Bordet (1870-1961)

Vibrião da Cólera



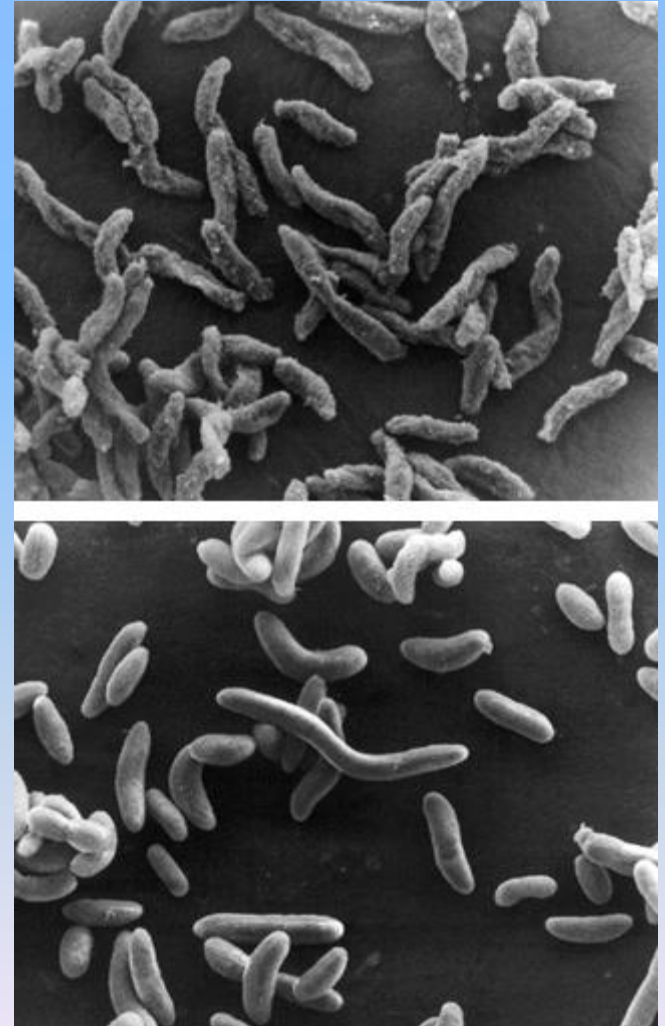
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1919

"for his discoveries relating to immunity"



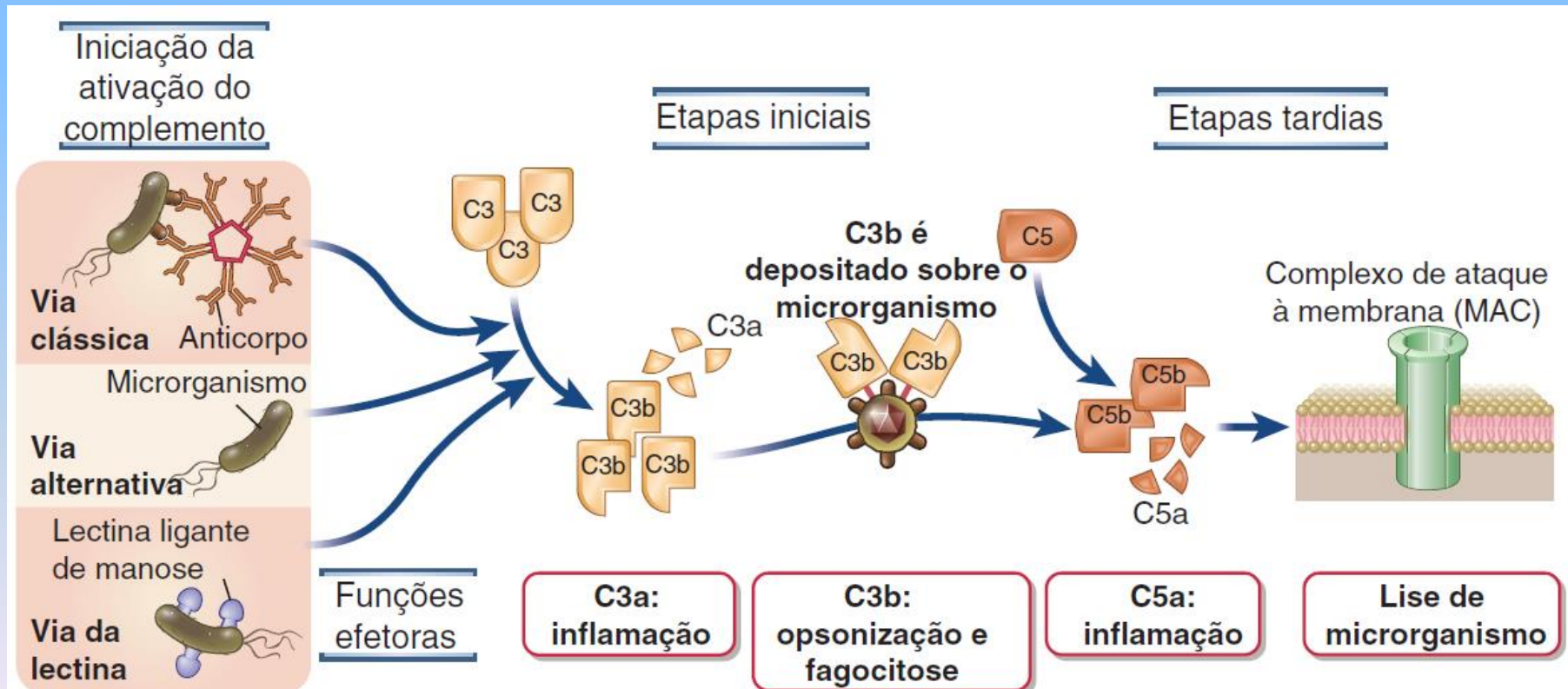
Jules Bordet

http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1919/



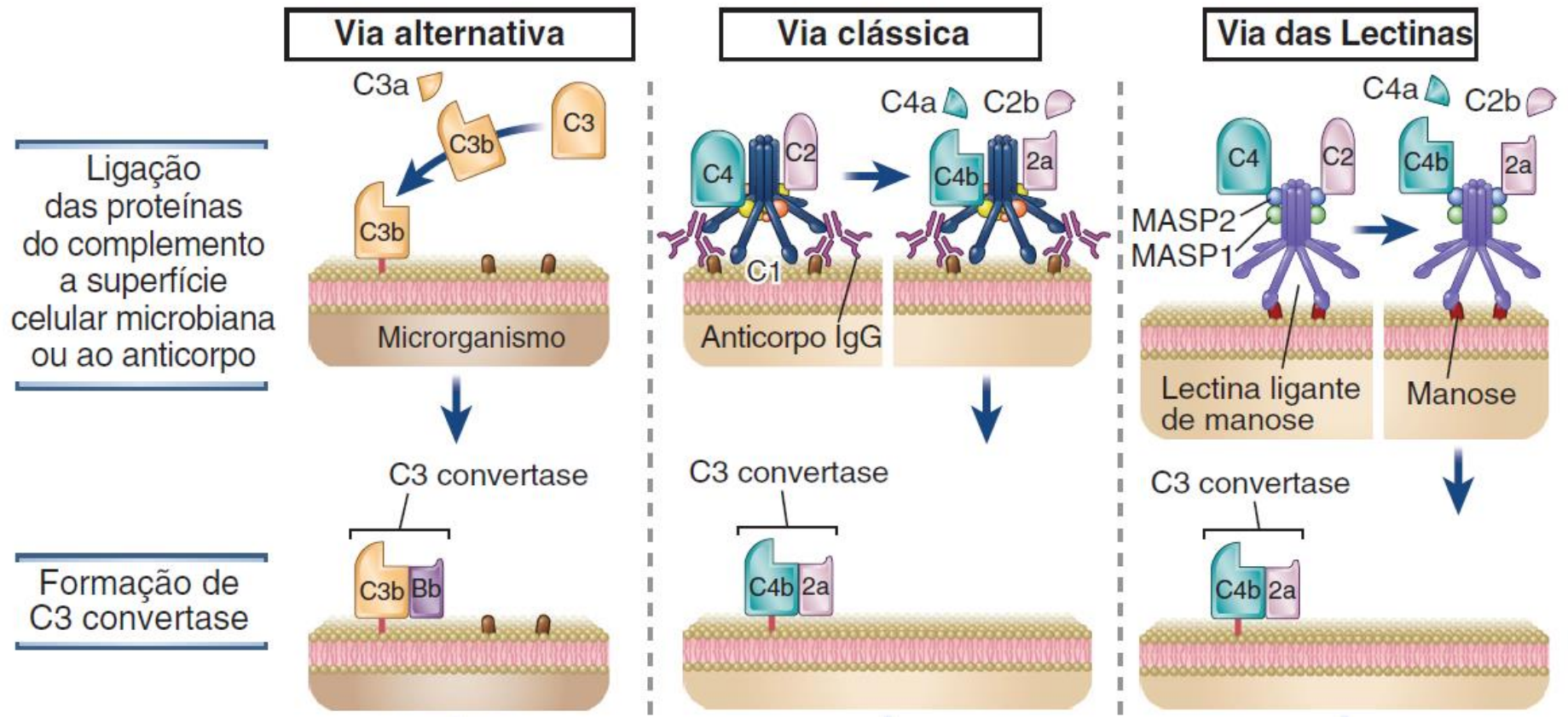
Definição

Sistema Complemento: conjunto de 30 ou mais proteínas plasmáticas inativas que podem ser ativadas por uma reação em cascata altamente regulada, gerando moléculas efetoras envolvidas em diversos eventos da imunidade e da homeostase.

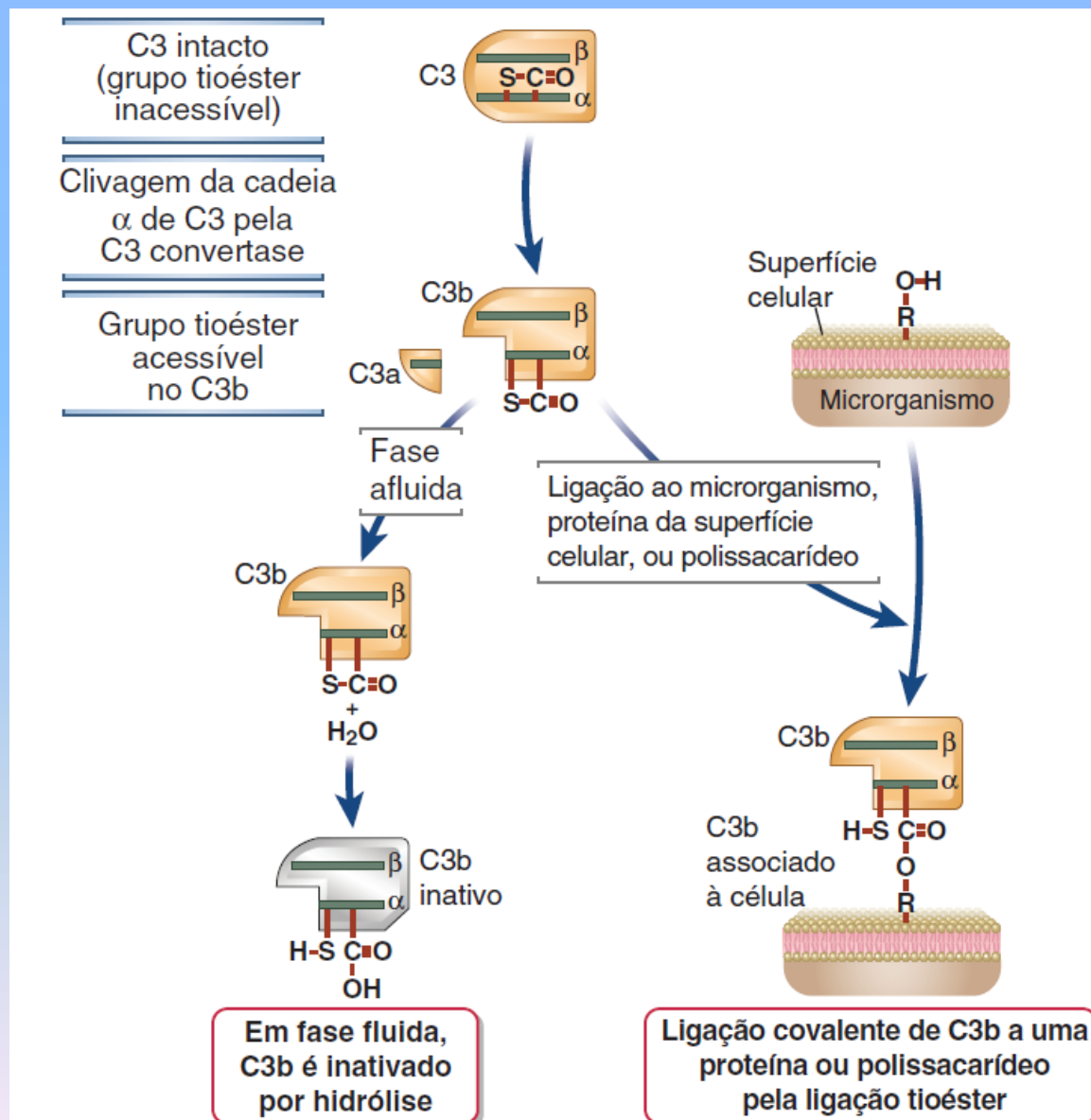


Vias de Ativação do Sistema Complemento

- **Cascata proteolítica**
- **Zimógenos (zimogênios): pró-enzimas**
- **Papel das convertases**
- **Tamanho dos fragmentos**
- **Filogeneticamente distintas**
- **Convergem para uma etapa comum**



Ativação da Via Alternativa



Ativação da Via Alternativa

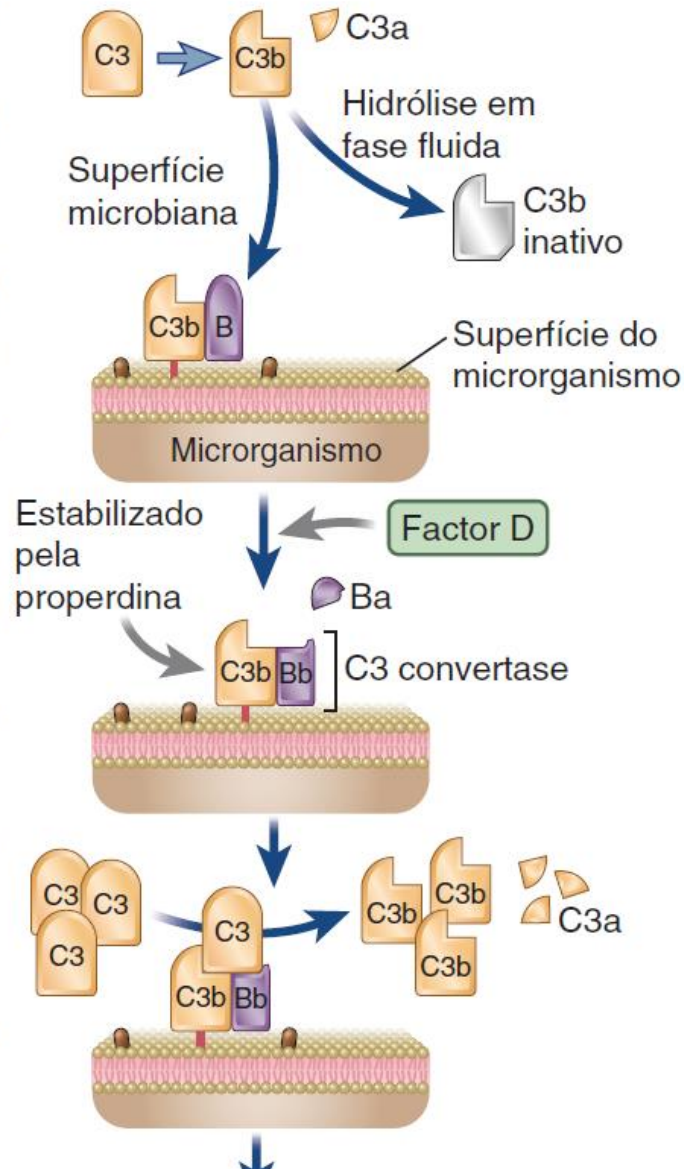
Clivagem espontânea de C3

Hidrólise e inativação de C3b em fase fluida

C3b se liga covalentemente a superfície microbiana, liga-se ao Fator B

Clivagem do Fator B pelo Fator D; estabilização pela properdina

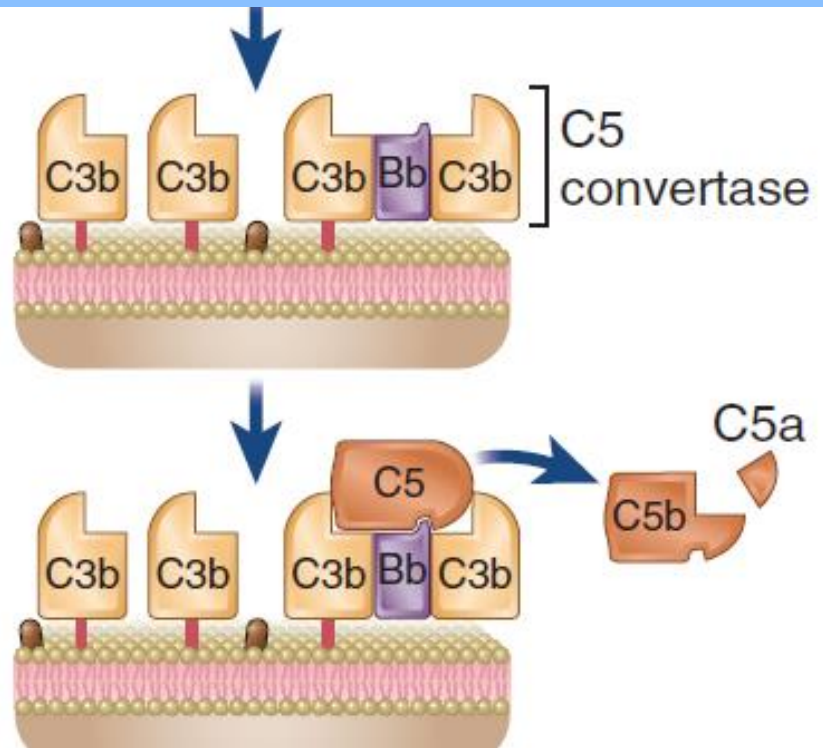
Clivagem de moléculas C3 adicionais pela C3 convertase associada à célula



Ativação da Via Alternativa

C3b liga-se covalentemente à superfície celular; liga-se a C3bBb para formar a C5 convertase

Clivagem de C5; início das etapas terminais da ativação do complemento

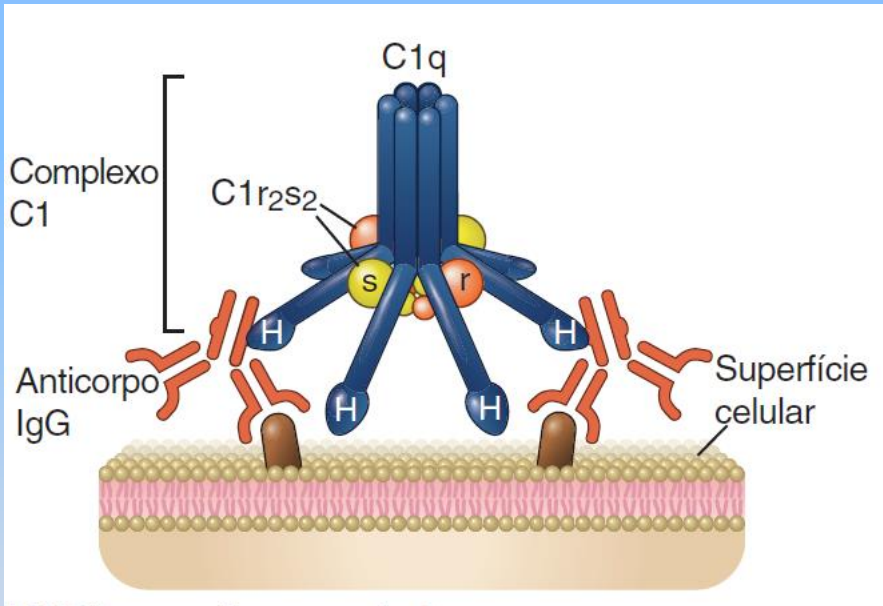


Características dos Componentes da Via Alternativa

TABELA 13.4 Proteínas da Via Alternativa do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
C3	185 kDa (subunidade α , 110 kD; subunidade β , 75 kDa)	1.400-1.700	C3b liga-se à superfície do microrganismo, onde atua como uma opsonina e como um componente das C3- e C5 convertase. C3a estimula inflamação (anafilotoxina)
Fator B	Monômero de 93 kDa	200-400	Bb é uma serina protease e a enzima ativa de C3- e C5 convertase.
Fator D	Monômero de 25 kDa	1-3	Serina protease plasmática que cliva o fator B quando está ligado a C3b.
Properdina	Composta por até 4 subunidades de 56 kDa	20-35	A properdina estabiliza as C3 convertases (C3bBb) na superfície microbiana.

Ativação da Via Clássica



Ativação do complemento	
A IgG solúvel (porções Fc não adjacentes)	Não
B IgG ligada ao antígeno	Sim
C IgM solúvel (forma plana)	Não
D IgM ligada ao antígeno (forma de grampo)	Sim

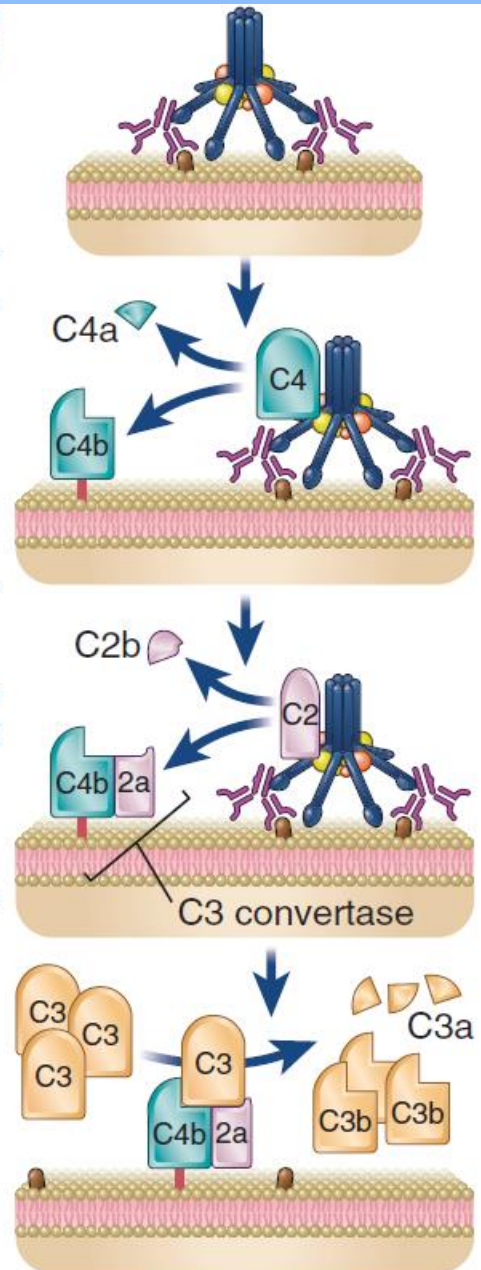
Ativação da Via Clássica

Ligação de anticorpos a antígenos multivalentes; ligação da C1 a anticorpos

Clivagem de C4 pela enzima C1_{r2s2}; ligação covalente de C4b a superfície antigênica e a anticorpos

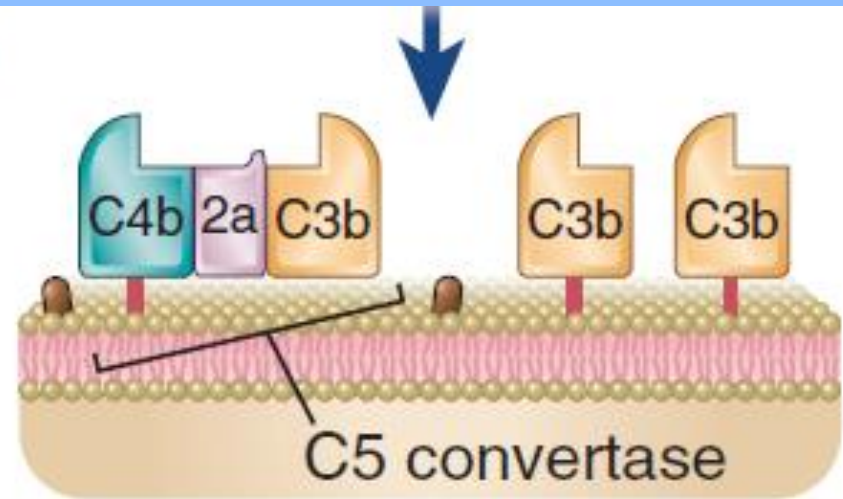
Clivagem de C2; ligação de C2a a C4b para formar o complexo C4b2a (C3 convertase)

Clivagem de C3 pela C3 convertase

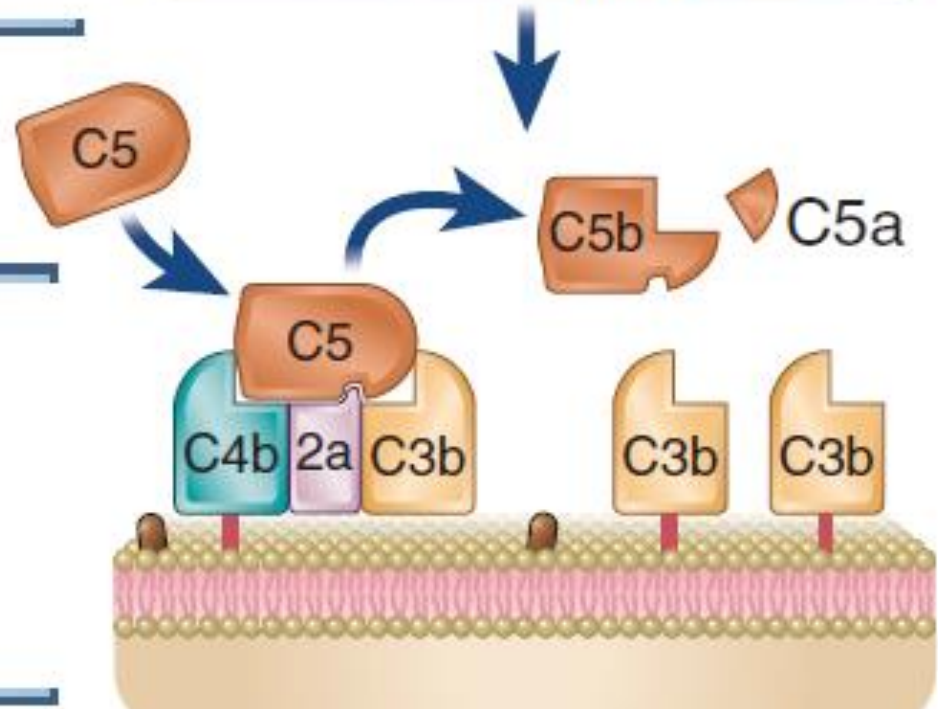


Ativação da Via Clássica

Ligação de C3b a superfície antigênica e a C4b2a para formar o complexo C4b2a3b (C5 convertase)



Clivagem de C5; iniciação das etapas terminais de ativação do complemento

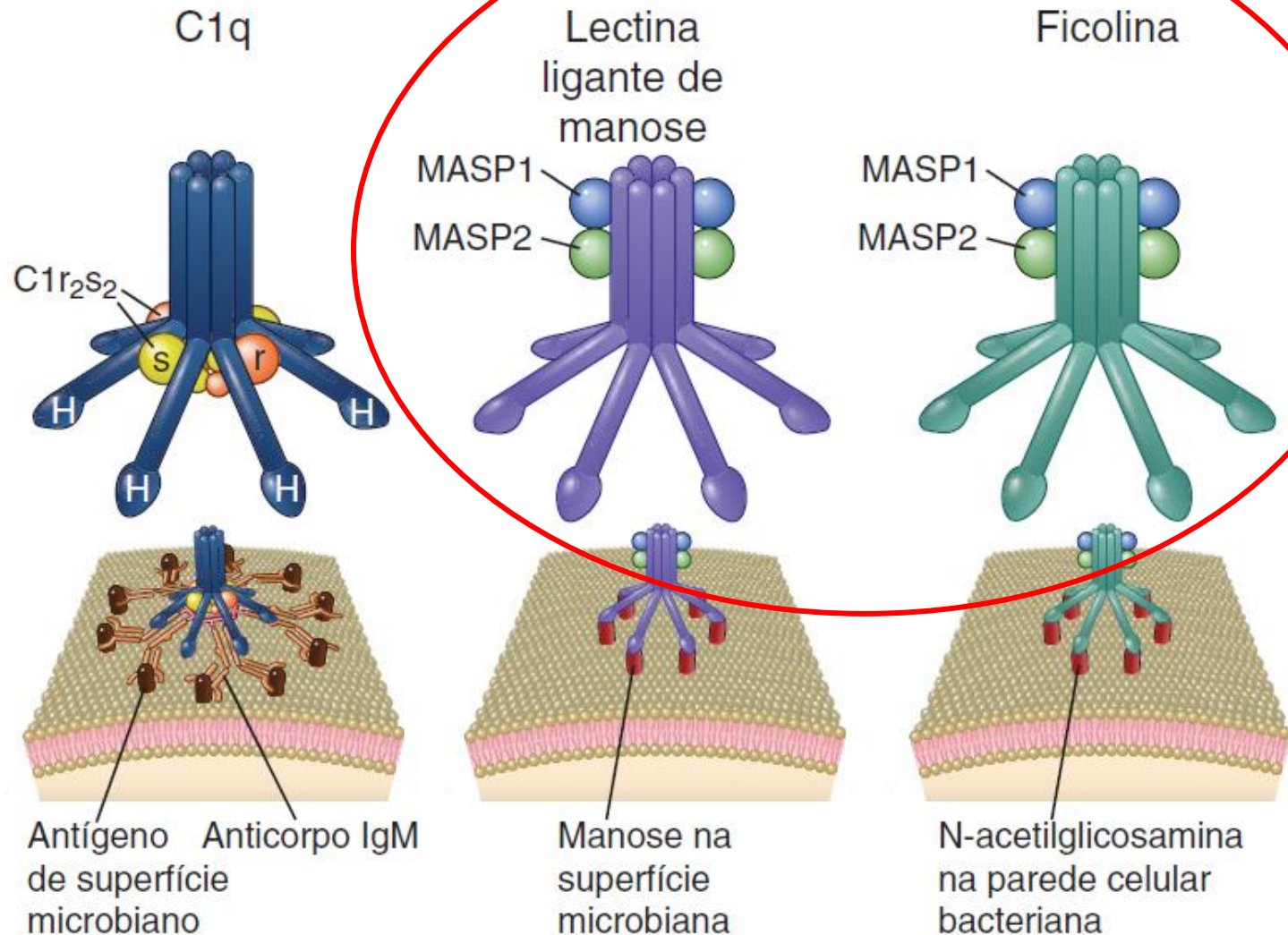


Características dos Componentes da Via Clássica

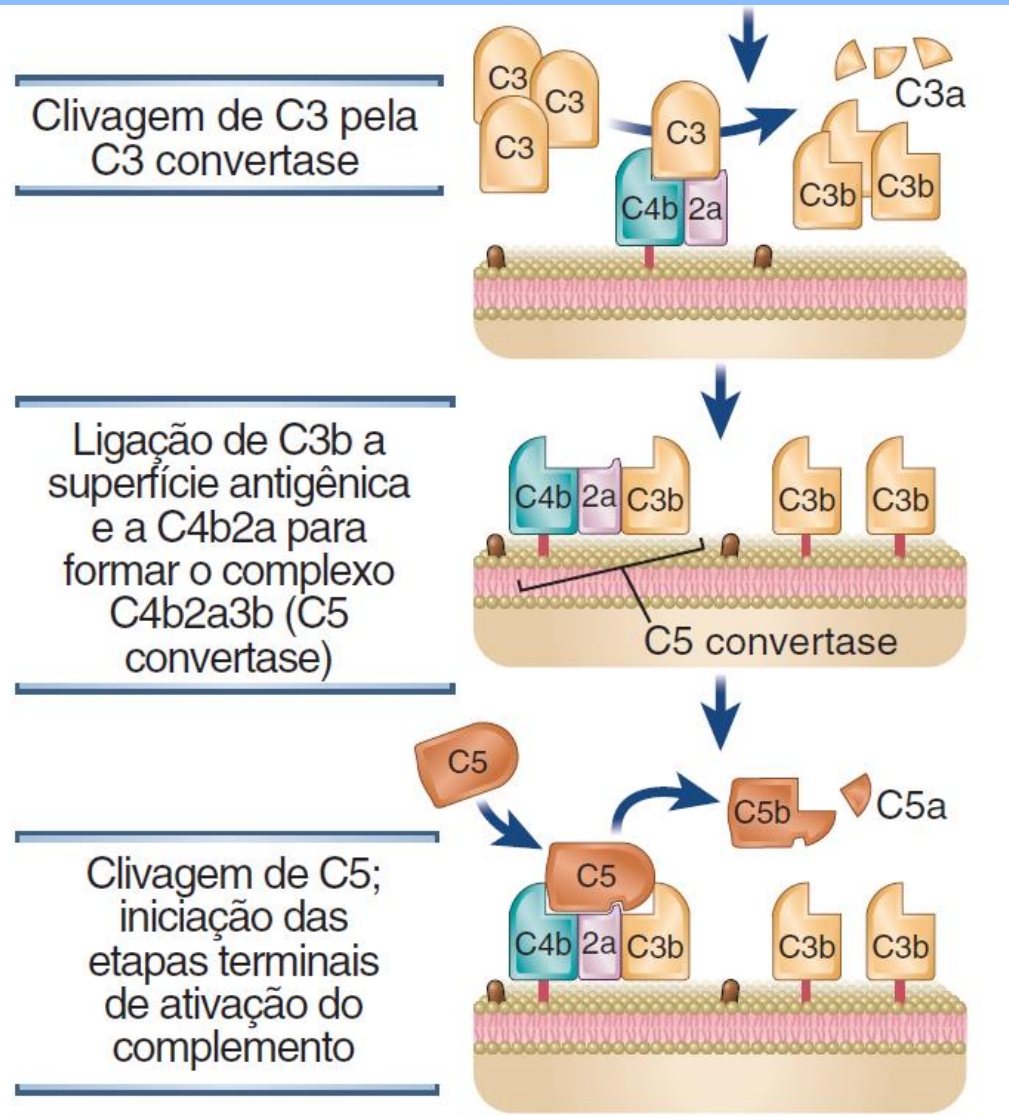
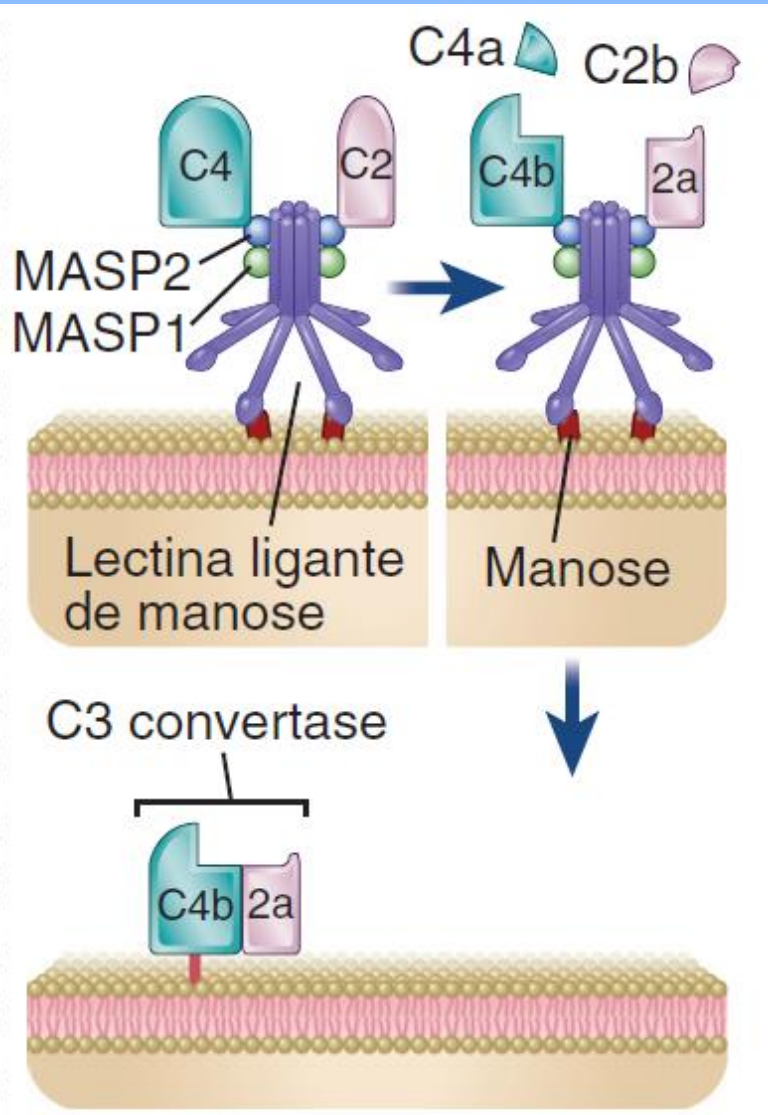
TABELA 13.5 Proteínas da Via Clássica do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
C1 (C1qr2s2)	750 kDa	—	Inicia a via clássica
C1q	460 kDa; hexâmero com três pares de cadeias (22, 23, 24 kDa)	50-150	Liga-se a porção Fc do anticorpo que está ligado ao antígeno, a células apoptóticas e a superfícies catiônicas
C1r	Dímero de 85 kDa	50	Serina protease, cliva C1s para torná-la ativa
C1s	Dímero de 85 kDa	50	Serina protease, cliva C4 e C2
C4	210 kDa; trímero com cadeias de 97, 75 e 33 kDa	300-600	C4b liga-se covalentemente a superfície de um microrganismo ou célula, onde o anticorpo está ligado e o complemento é ativado. C4b liga-se a C2 para clivagem por C1s. C4b estimula inflamação (anafilatoxina).
C2	Monômero de 102 kDa	20	C2a é uma serina protease e atua como enzima ativa da C3- e C5 convertase para clivar C3 e C5.
C3	Ver tabela 13.4		

Ativação da Via das Lectinas



Ativação da Via das Lectinas

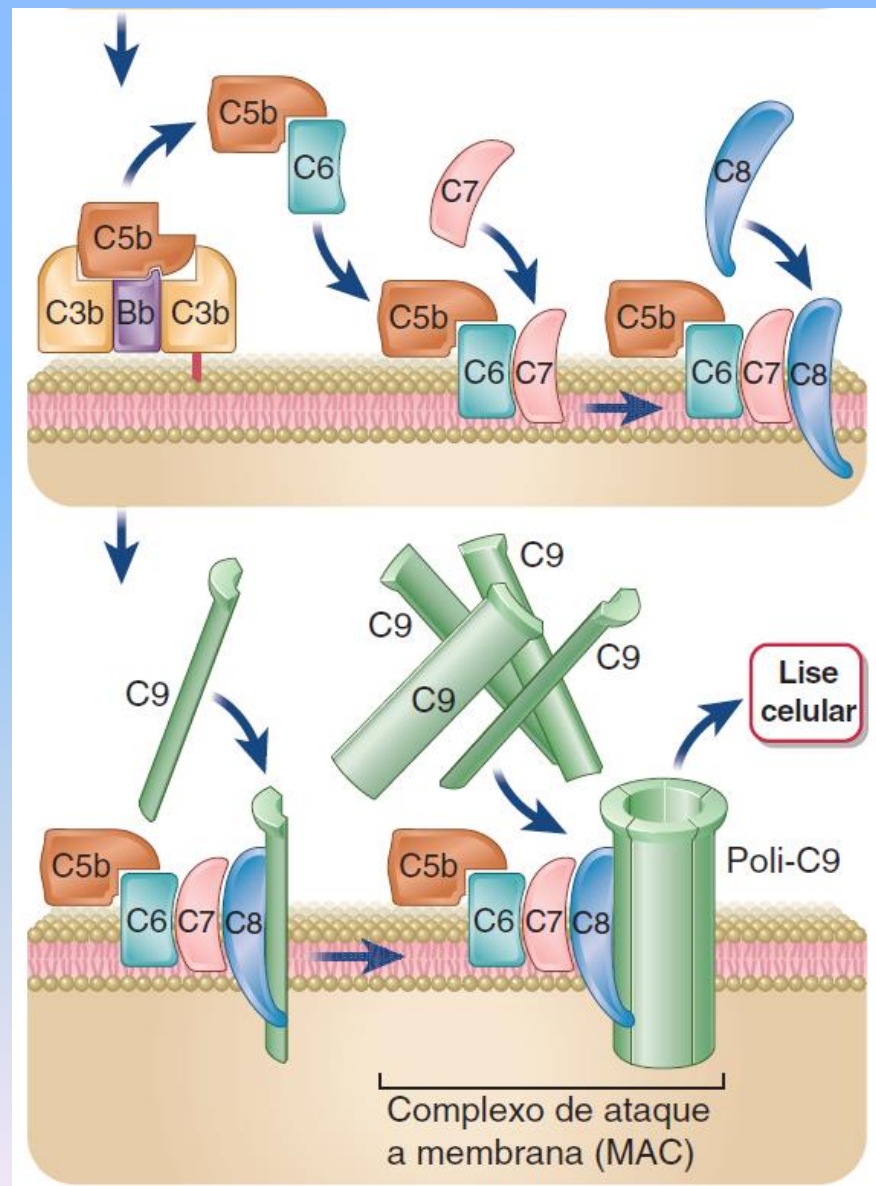
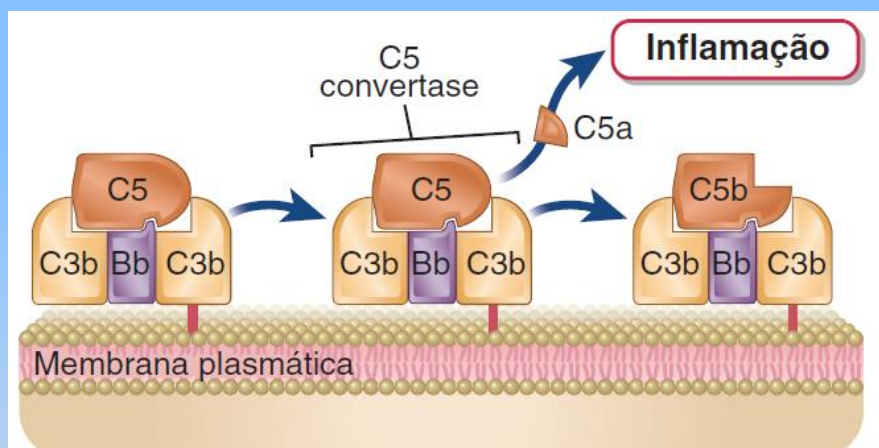


Características dos Componentes da Via das Lectinas

TABELA 13.6 Proteínas da Via das Lectinas do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
Lectina ligante de manose	Trímero helicoidal com cadeia de 32 kDa; dímeros a hexâmeros dessa tripla-hélice	1-8	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
M-ficolina (ficolina-1)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	Indetectável	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
L-ficolina (ficolina-2)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	1-7	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
H-ficolina (ficolina3)	Trímero helicoidal com cadeia de 34 kDa; um tetrâmero dessa tripla-hélice	6-83	Aglutinina, opsonina, fixação do complemento
MASP-1	Homodímero de 90 kDa; homólogo a C1r/C1s	2-13*	Forma complexo com MASP-2 e com colectinas ou ficolinas e ativa MASP-3
MASP-2	Homodímero de 110 kDa; homólogo a C1r/C1s	2-13	Forma complexo com lectinas, especialmente ficolina-3
MASP-3	Homodímero de 76 kDa; homólogo a C1r/C1s	0,02-1,0	Associa-se a colectinas ou ficolinas e MASP-1 e cliva C4

Etapa Terminal (Comum) da Ativação do Complemento



Características dos Componentes da Etapa Terminal da Ativação do Complemento

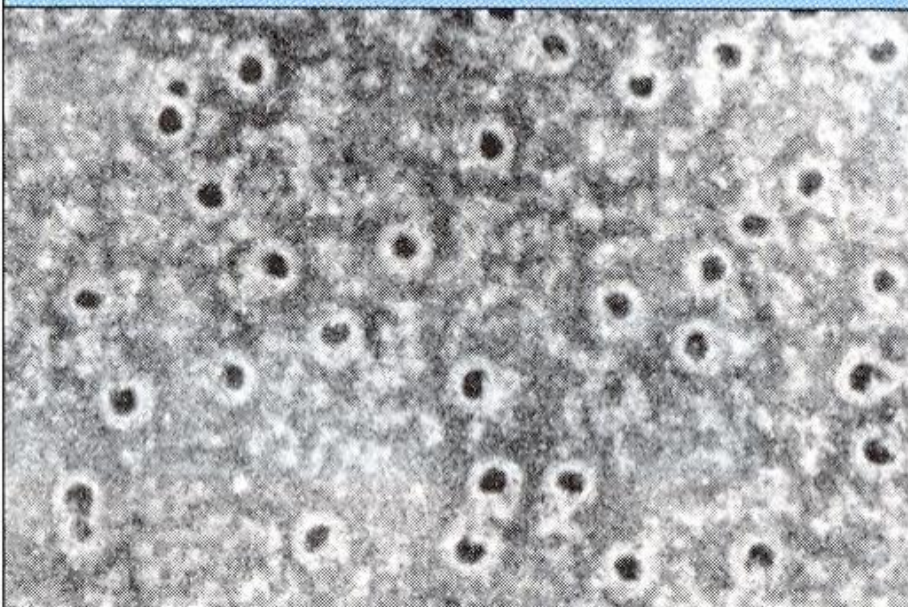
TABELA 13.7 Proteínas das Etapas Terminais da Ativação do Complemento

Proteína	Estrutura	Concentração Sérica (µg/mL)	Função
C5	Dímero de 190 kDa com cadeias de 115 e 75 kDa	80	C5b inicia a montagem do MAC. C5a estimula inflamação (anafilotoxina).
C6	Monômero de 110 kDa	45	Componente do MAC: liga-se ao C5b e aceita C7.
C7	Monômero de 110 kDa	90	Componente do MAC: liga-se a C5b,6 e insere-se na membrana lipídica.
C8	Trímero de 155 kDa com cadeias de 64, 64 e 22 kDa	60	Componente do MAC: liga-se a C5b,6,7 e inicia a ligação e polimerização do C9.
C9	Monômero de 79 kDa	60	Componente do MAC: liga-se a C5b,6,7,8 e polimeriza-se para formar poros na membrana.

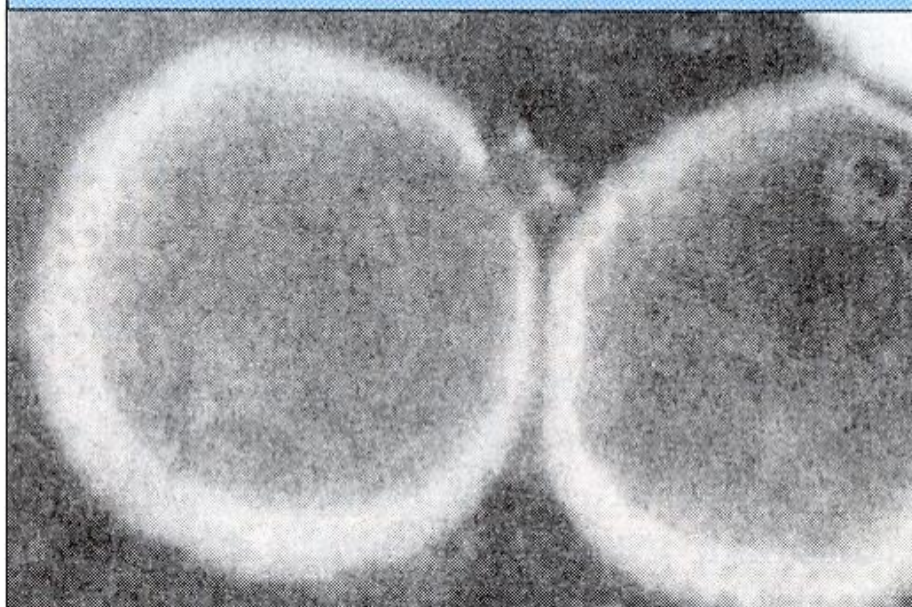
Complexo de Ataque à Membrana (MAC)

<https://www.youtube.com/watch?v=OubAhPYGDsc>

Lesões de membrana (anéis)
vistas de cima



Lesões de membrana (tubos)
vistas de lado



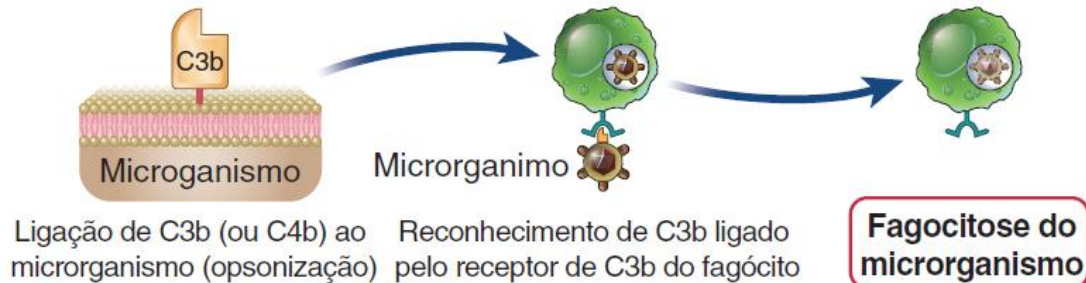
Receptores dos Componentes do Sistema Complemento

Receptor	Estrutura	Ligantes	Distribuição Celular	Função
Receptor de complemento do tipo 1 (CR1, CD35)	160-250 kDa; múltiplos CCPRs	C3b > C4b > iC3b	Fagócitos mononucleares, neutrófilos, células B e T, eritrócitos, eosinófilos, FDCs	Fagocitose Eliminação de imunocomplexos Promove a dissociação das C3 convertases agindo como cofactor para clivagem de C3b, C4b
Receptor de complemento do tipo 2 (CR2, CD21)	145 kDa; múltiplos CCPRs	C3d, C3dg > iC3b	Linfócitos B, FDCs, epitélio nasofaríngeo	Correceptor para ativação da célula B Captura de antígenos nos centros germinativos Receptor para EBV
Receptor de complemento do tipo 3 (CR3, Mac-1, CD11bCD18)	Integrina, com cadeia α de 165 kDa e cadeia β 2 de 95 kDa	iC3b, ICAM-1; também se liga a microrganismos	Fagócitos monoculares, neutrófilos, células NK	Fagocitose Adesão de leucócitos ao endotélio (via ICAM-1)
Receptor de complemento do tipo 4 (CR4, p150,95, CD11cCD18)	Integrina, com cadeia α de 150 kDa e cadeia β 2 de 95kDa	iC3b	Fagócitos monoculares, neutrófilos, células NK	Fagocitose, adesão celular?

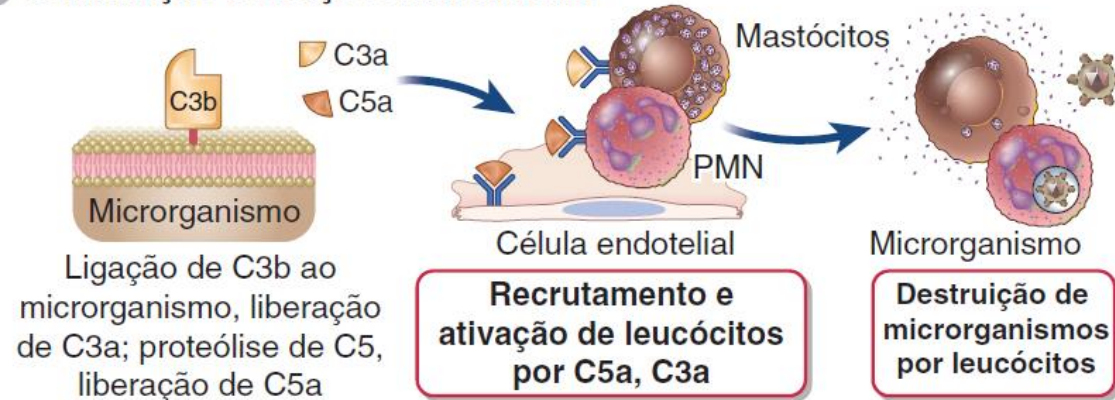
CCPRs. proteínas de repetição de controle do complemento; EBV. vírus Eostein-Barr; FDCs. células dendríticas foliculares; ICAM-1. molécula

Sistema Complemento: Funções

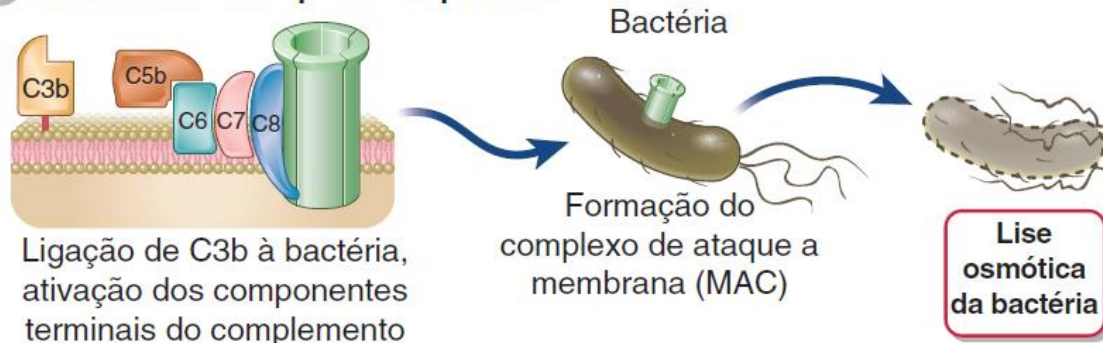
A Opsonização e fagocitose



B Estimulação de reações inflamatórias

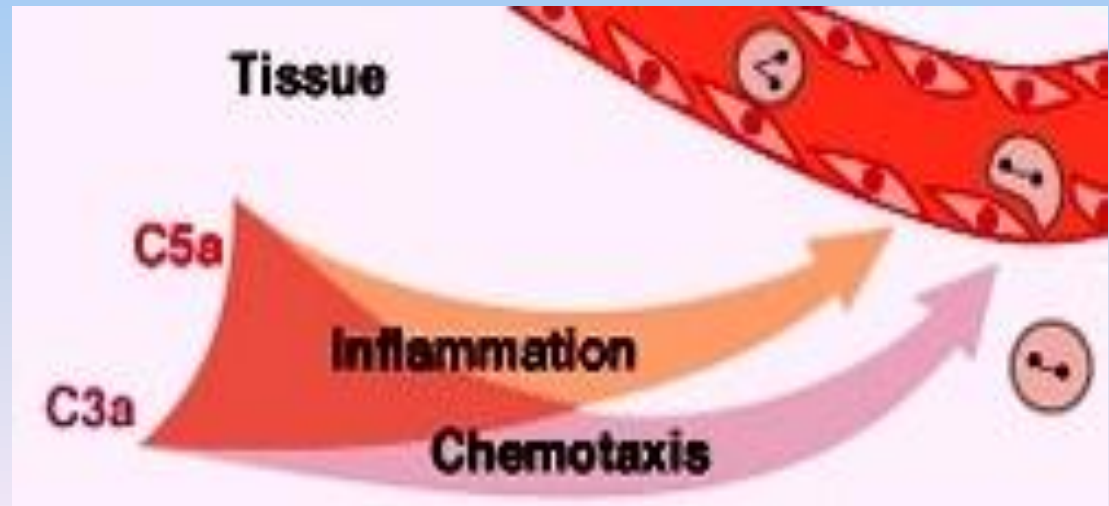
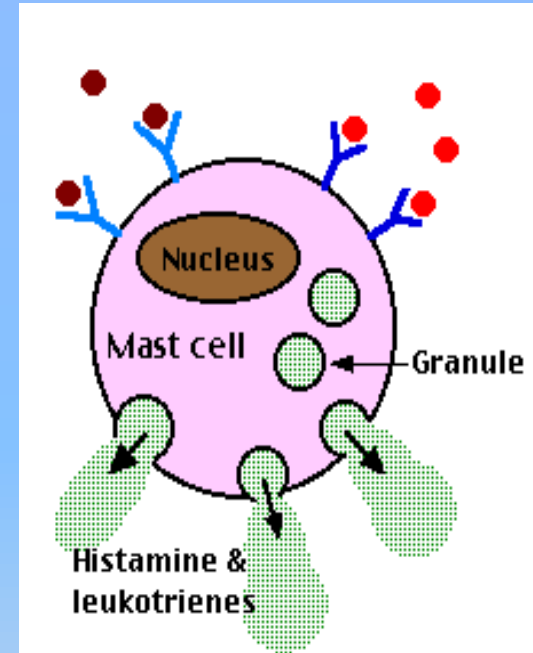


C Citólise mediada pelo complemento

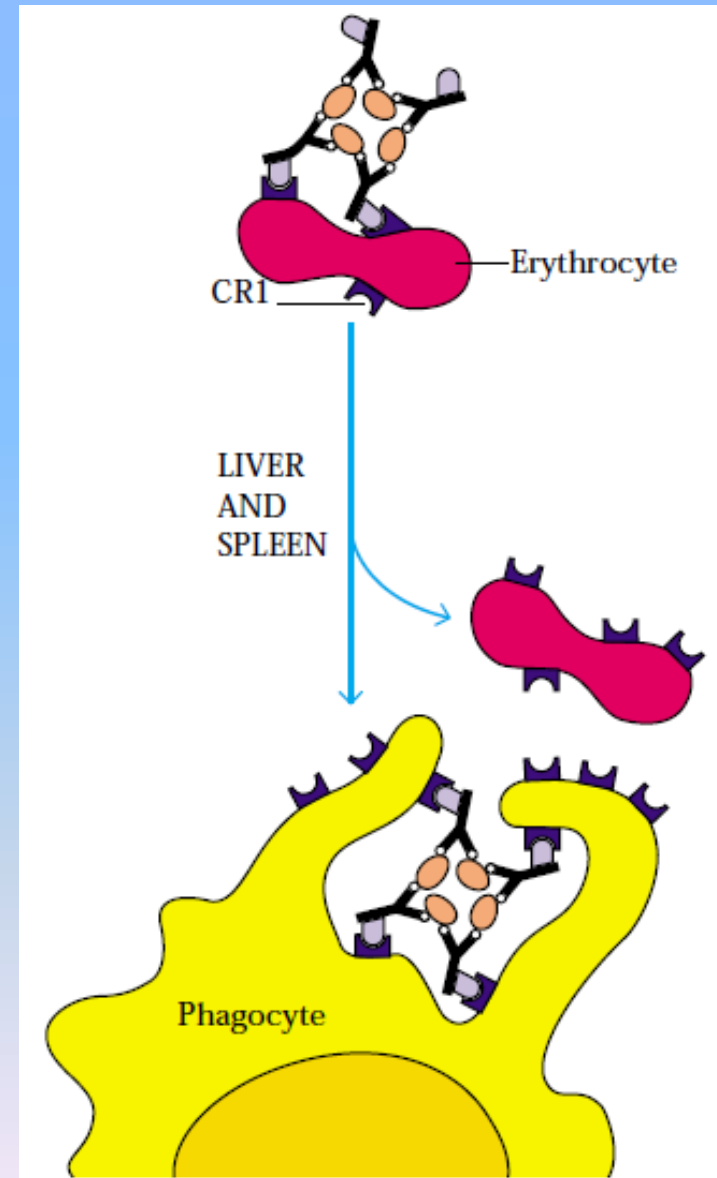
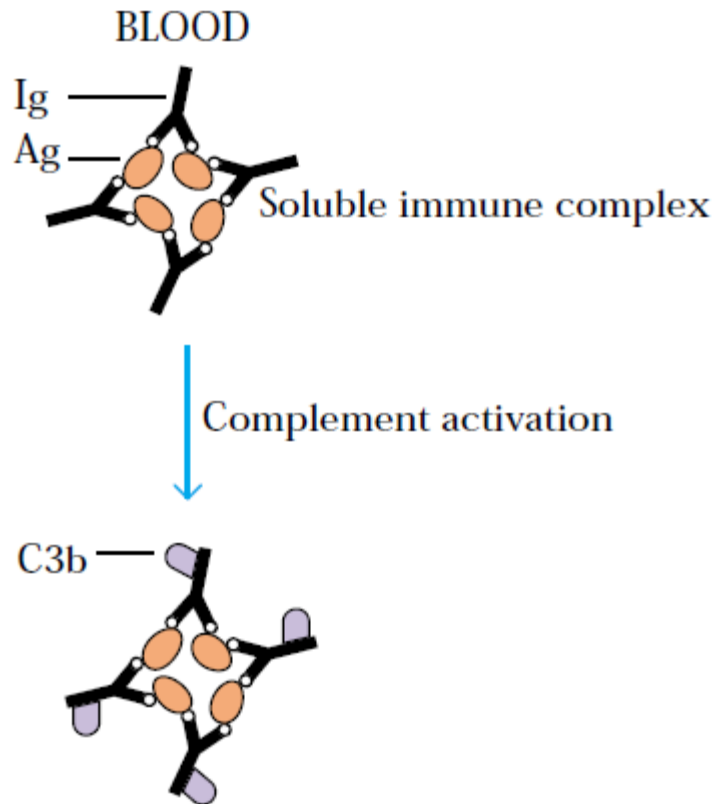


Sistema Complemento: Funções

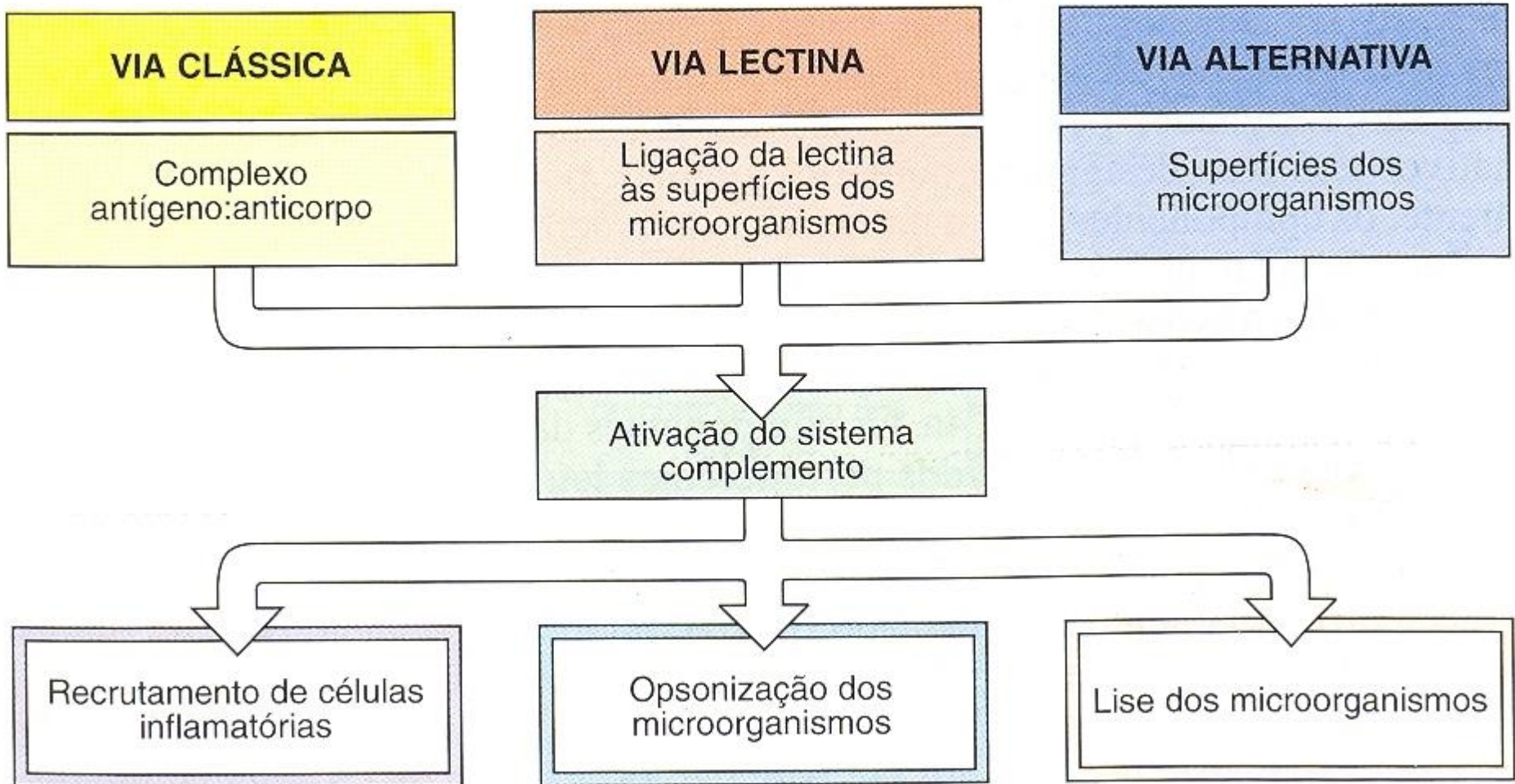
C3a, C5a :Anafilotoxinas
C3a:Quimiotaxia de
neutrófilos



Sistema Complemento: Funções



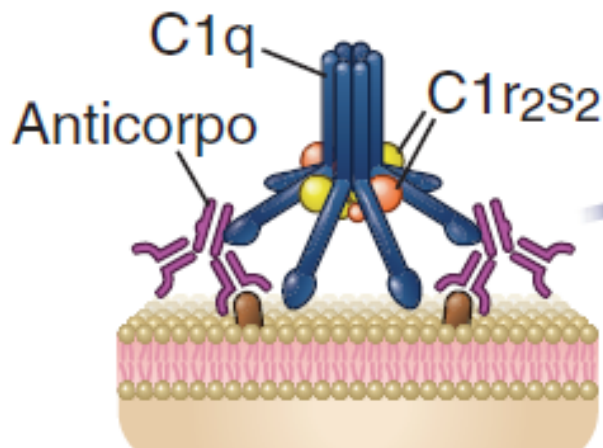
Resumo do Sistema Complemento



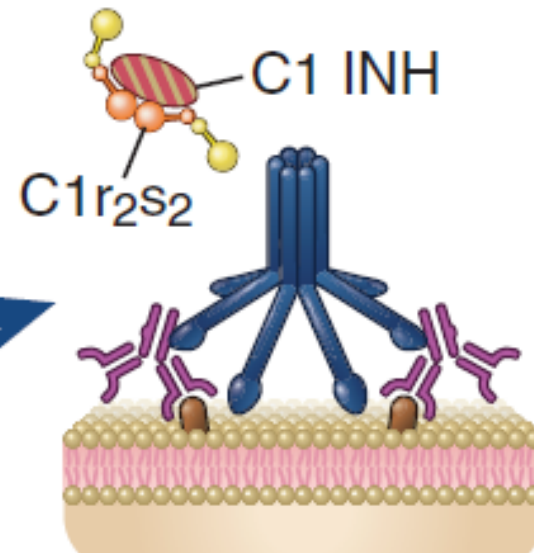
Reguladores do Sistema Complemento

Inibidor de C1 (C1 INH)

C1q liga-se aos anticorpos complexados ao antígeno, resultando na ativação de C1r₂s₂



C1 INH impede que C1r₂s₂ se torne proteoliticamente ativo



Reguladores do Sistema Complemento

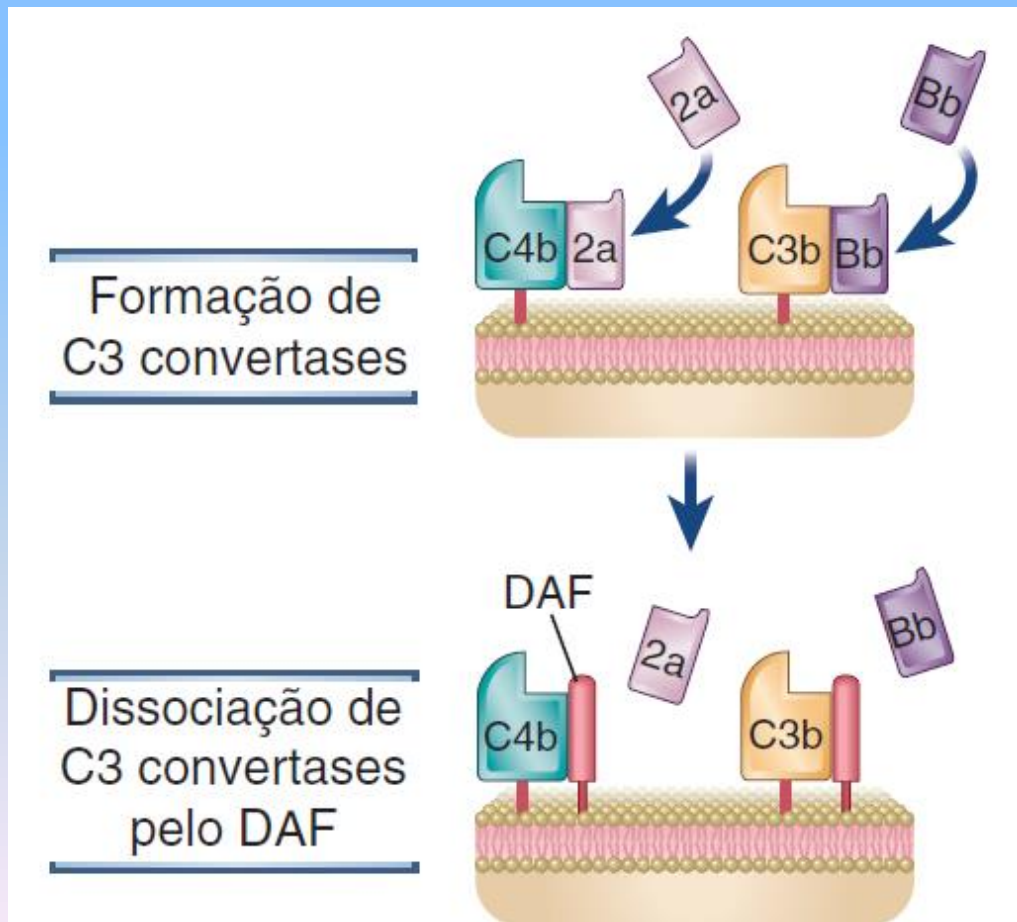
DAF: Fator de Aceleração do Decaimento (liga C3b e C4b)

MCP: Proteína Co-fator de Membrana (liga C3b e C4b)

CR1: Receptor do Complemento Tipo I (liga C3b e C4b)

Fator H: (liga C3b, inibe principalmente via alternativa)

C4BP: (liga C4b, inibe via clássica e das lectinas)



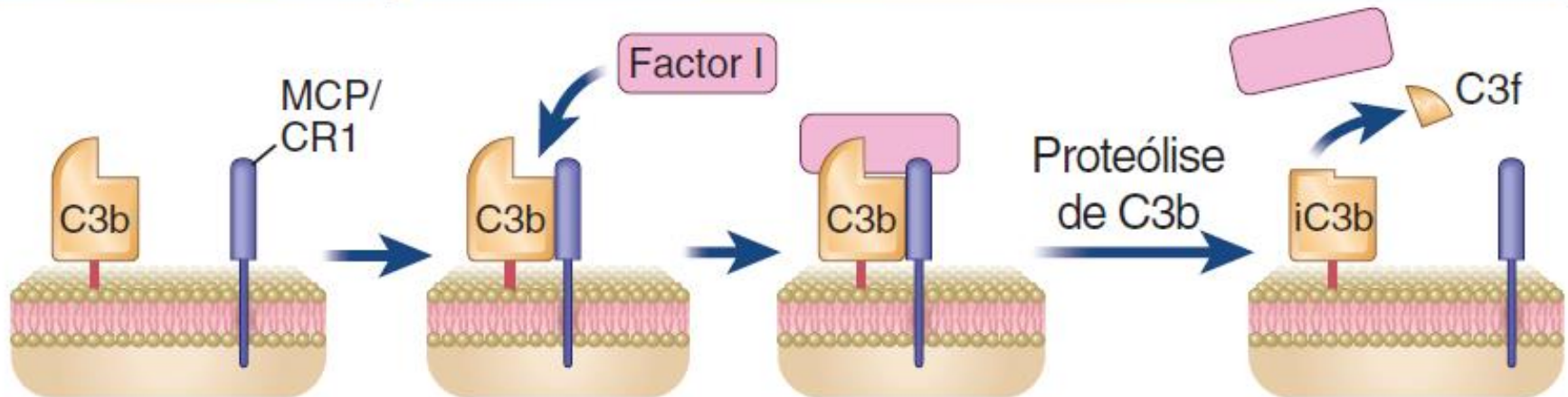
Reguladores do Sistema Complemento

Fator I:

- usa MCP, CR1, fator H, e C4BP
como co-fatores para degradar C3b

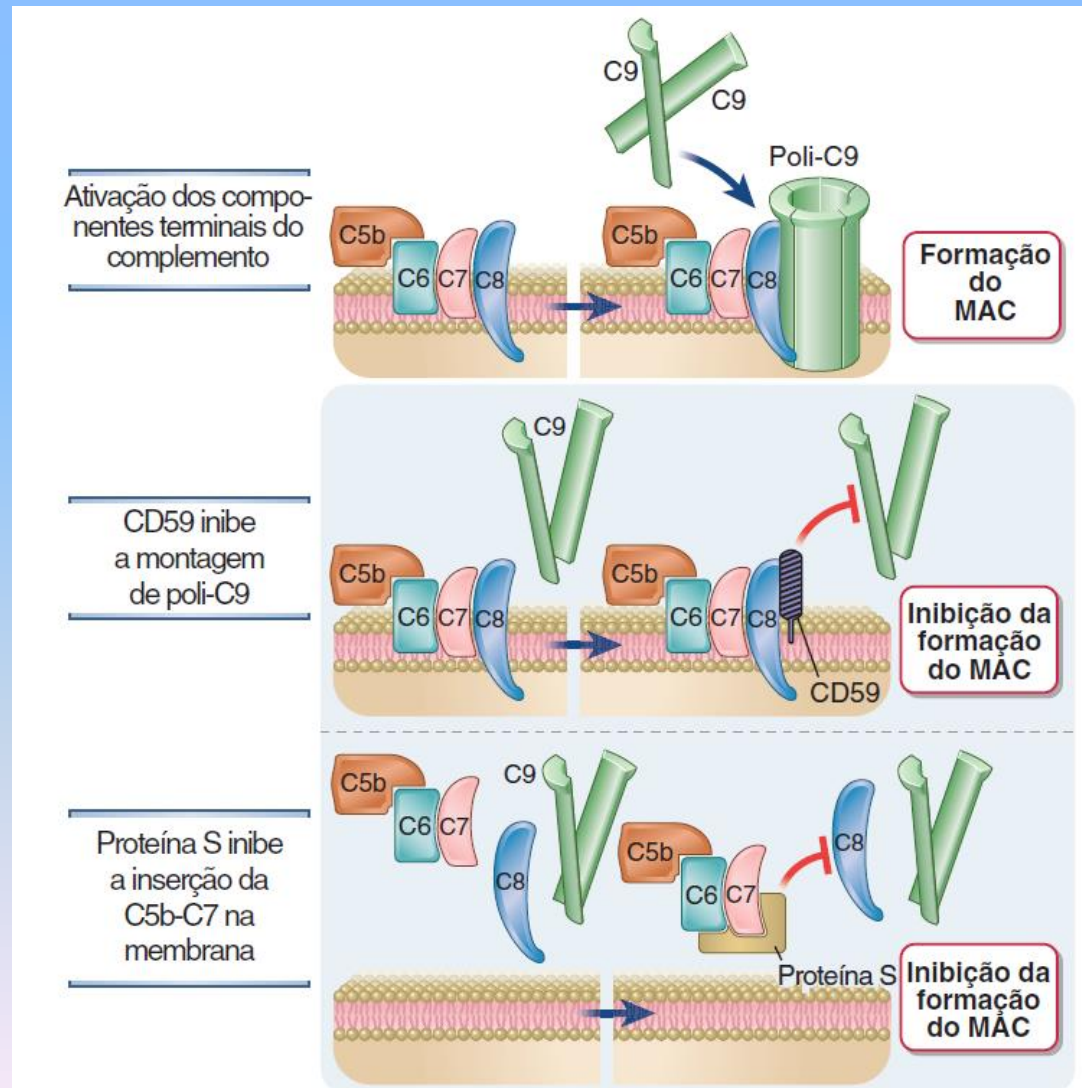
Adesão covalente
de C3b (ou C4b)
às células

MCP (e CR1) agem como cofatores para
clivagem proteolítica de C3b mediada pelo
Fator I, produzindo iC3b



Reguladores do Sistema Complemento

CD59 Proteína S



Reguladores do Sistema Complemento: resumo

TABELA 13.9 Reguladores da Ativação do Complemento

Receptor	Estrutura	Distribuição	Interação com	Função
Inibidor de C1 (C1 INH)	104 kDa	Proteína plasmática; conc. 200 µg/mL	C1r, C1s	Inibidor de serina protease; liga-se a C1r a C1s e os dissocia de C1q
Fator I	Dímero de 88 kDa com subunidades de 50 e 38 kDa	Proteína plasmática; conc. 35 µg/mL	C4b, C3b	Serina protease; cliva C3b e C4b usando o fator H, MCP, C4BP ou CR1 como cofatores
Fator H	150 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 480 µg/mL	C3b	Liga-se a C3b e desloca Bb Cofator para clivagem de C3b mediada pelo Fator I
Proteína ligante de C4 (C4BP)	570 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 300 µg/mL	C4b	Liga-se a C4b e desloca C2 Cofator para clivagem de C4b mediada pelo Fator I
Proteína cofatora de membrana (MCP, CD46)	45-70 kDa; quatro CCPRs	Leucócitos, células epiteliais, células endoteliais	C3b, C4b	Cofator para clivagem de C3b e de C4b mediada pelo Fator I
Fator de aceleração de decaimento (DAF)	70 kDa; 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 kDa; ligada a GPI	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C7, C8	Bloqueia a ligação de C9 e evita a formação de MAC

Doenças / Imunodeficiências

Edema angioneurótico hereditário:

- deficiência de C1INH***
- ativação espontânea e crônica criando subprodutos inflamatórios***

Deficiência genética do fator I:

- ativação descontrolada depleta o complemento***
- aumento da susceptibilidade a infecções***

Hemoglobinúria paroxística noturna:

- CD59 não funcional***
- episódios de lise intravascular das hemácias***