

Respostas Induzidas da Imunidade Inata

3

No Capítulo 2, foram consideradas as defesas inatas – como barreiras epiteliais, proteínas antimicrobianas secretadas e sistema do complemento –, que agem imediatamente após se encontrarem com micróbios, com o objetivo de proteger o organismo contra uma infecção. Também há a introdução às células fagocíticas que se encontram sob as barreiras epiteliais, prontas para engolfar e digerir os microrganismos invasores que foram sinalizados para destruição pelo complemento. Além de fagocitar esses microrganismos diretamente, esses fagócitos iniciam, ainda, a próxima fase da resposta imune inata, induzindo uma resposta inflamatória que recruta novas células fagocíticas e moléculas efetoras circulantes para o local da infecção.

Neste capítulo, será visto atentamente o sistema antigo do receptor de reconhecimento do padrão utilizado pelas células fagocíticas do sistema imune inato para identificar patógenos e distingui-los de autoantígenos. Será visto como, além de direcionar a destruição imediata dos patógenos, o estímulo de alguns desses receptores em macrófagos e células dendríticas leva às suas células próprias que podem efetivamente apresentar o antígeno para linfócitos T, iniciando, dessa forma, uma resposta imune adaptativa. Na última parte do capítulo, será descrito como as citocinas e as quimiocinas produzidas por fagócitos ativados e células dendríticas induzem os estágios tardios da resposta imune inata, como a resposta de fase aguda. Será descrito, ainda, outro tipo celular do sistema imune inato, as células *natural killer* (NK), que contribuem para as respostas de defesa do hospedeiro contra vírus e outros patógenos intracelulares. Nos estágios tardios da resposta imune inata, ocorrem as primeiras etapas em direção ao início da resposta imune adaptativa; então, se a infecção não for eliminada pela imunidade inata, acontecerá uma resposta imune completa.

Reconhecimento do padrão pelas células do sistema imune inato

Embora o sistema imune inato não possua a especificidade fina da imunidade adaptativa, que é necessária para produzir a memória imune, ele consegue distinguir o próprio do não próprio. Já foi visto um exemplo disso no reconhecimento de superfícies microbianas pelo complemento (ver Cap. 2). Nesta parte do capítulo, serão vistos, de maneira mais detalhada, os receptores celulares que reconhecem patógenos e sinalizam para uma resposta celular imune inata. Padrões regulares de estrutura molecular estão presentes em diversos microrganismos, mas não ocorrem nas células do próprio organismo. Proteínas que reconhecem essas características surgem como receptores em macrófagos, neutrófilos e células dendríticas e como moléculas secretadas, como a lectina ligadora de manose (MBL, do inglês *mannose-binding lectin*) descrita no Capítulo 2. As características gerais desses **receptores de reconhecimento do padrão** contrastam com os receptores antígeno-específicos da imunidade adaptativa na Figura 3.1.

Os receptores de reconhecimento do padrão podem ser classificados em quatro grupos principais com base em sua localização celular e sua função: receptores

Figura 3.1 Comparação das características das moléculas de reconhecimento dos sistemas imunes inato e adaptativo. O sistema imune inato usa receptores codificados por genes completos herdados da linhagem germinal. Em contrapartida, o sistema imune adaptativo usa receptores de antígenos codificados em segmentos gênicos que são reunidos em genes completos de receptores de células T e B durante o desenvolvimento dos linfócitos, processo que leva à expressão de um receptor com especificidade única em cada célula individual. Os receptores do sistema imune inato não são distribuídos de forma clonal (i.e., em todas as células de um mesmo tipo), ao passo que os receptores de antígeno do sistema imune adaptativo estão distribuídos de forma clonal em todos os linfócitos de um mesmo tipo.

Característica do receptor	Imunidade inata	Imunidade adaptativa
Especificidade herdada no genoma	Sim	Não
É expresso por todas as células de um determinado tipo (p. ex., macrófagos)	Sim	Não
Ativa resposta imediata	Sim	Não
Reconhece uma ampla gama de patógenos	Sim	Não
Interage com uma gama de estruturas moleculares de um determinado tipo	Sim	Não
É codificado por múltiplos segmentos gênicos	Não	Sim
Requer rearranjo gênico	Não	Sim
Distribuição clonal	Não	Sim
É capaz de reconhecer ampla variedade de estruturas moleculares	Não	Sim

livres no soro (como MBL), os quais foram discutidos no Capítulo 2; receptores fagocíticos ligados à membrana; receptores de sinalização ligados à membrana; e receptores de sinalização citoplasmáticos. Os receptores fagocíticos primeiramente estimulam a ingestão dos patógenos que eles reconhecem. Os receptores de sinalização constituem um grupo diversificado que inclui receptores quimiotáticos, os quais guiam as células aos locais de infecção, e receptores que induzem a produção de moléculas efetoras que contribuem para as respostas da imunidade inata induzidas tardiamente. Nesta parte do capítulo, serão vistas, em primeiro lugar, as propriedades de reconhecimento dos receptores fagocíticos e dos receptores de sinalização que ativam mecanismos de morte de micróbios fagocíticos. Em seguida, será descrito um sistema de reconhecimento e sinalização de patógeno antigo evolutivo, que envolve receptores denominados receptores semelhantes ao Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*), os quais possuem papel-chave na defesa contra infecção em vertebrados e muitos invertebrados. Por fim, será vista uma classe recentemente descoberta de receptores de sinalização citoplasmáticos, sendo que alguns possuem efeitos similares aos TLRs, enquanto outros estão relacionados com defesas antivirais.

3.1 Após entrar no tecido, muitos patógenos são reconhecidos, ingeridos e mortos pelos fagócitos

Se um microrganismo cruzar uma barreira epitelial e replicar-se nos tecidos do hospedeiro, ele será imediatamente reconhecido pelas células fagocíticas residentes, na maioria dos casos. Existem três classes principais de células fagocíticas no sistema imune inato: macrófagos e monócitos, granulócitos e células dendríticas. Os **macrófagos** amadurecem continuamente a partir dos **monócitos**, que saem da circulação para migrar para os tecidos do organismo, e eles são a principal população de fagócitos residentes no tecido normal. Os macrófagos eram denominados de forma diferente dependendo do tecido no qual se encontravam; por exemplo, células microgliais no tecido neural e **células de Kupffer** no fígado. Essas células são denominadas, de maneira genérica, **fagócitos mononucleares**. Os macrófagos são encontrados, sobretudo, em grande quantidade no tecido conectivo: por exemplo, na camada submucosa do trato gastrointestinal; na camada submucosa dos brônquios e no interstício pulmonar – tecidos e espaços intercelulares ao redor dos sacos

Filme 3.1



de ar (alvéolos) -, e nos próprios alvéolos; ao longo de alguns vasos sanguíneos no fígado; e por todo o baço, onde removem células sanguíneas senescentes.

A segunda maior família de fagócitos compreende os granulócitos, os quais incluem **neutrófilos**, **eosinófilos** e **basófilos**. Entre eles, os neutrófilos são os que possuem maior atividade fagocítica e são os mais envolvidos imediatamente na imunidade inata contra agentes infecciosos. Ainda denominados leucócitos neutrofilicos polimorfonucleares (PMNs, do inglês *polymorphonuclear neutrophilic leukocytes*, ou polis), eles são células de vida curta que estão abundantes no sangue, mas não estão presentes no tecido saudável. Os macrófagos e os granulócitos possuem papel importante na imunidade inata pois podem reconhecer, ingerir e destruir muitos patógenos sem auxílio da resposta imune adaptativa. As células fagocíticas que varrem os patógenos que entraram representam um mecanismo antigo da imunidade inata, já que são encontradas nos invertebrados e nos vertebrados.

A terceira classe de fagócitos no sistema imune são as **células dendríticas** imaturas residentes nos tecidos. As células dendríticas crescem a partir de progenitores mieloides e linfoides no interior da medula óssea e migram por via sanguínea para os tecidos de todo o organismo e para os órgãos linfoides periféricos. As células dendríticas ingerem e destroem os micróbios, porém, ao contrário de macrófagos e neutrófilos, seu papel principal na defesa imune não é a linha de frente de morte direta em grande escala de micróbios. Existem dois tipos funcionais principais de células dendríticas: **células dendríticas convencionais (cDCs, do inglês *conventional dendritic cells*)** e **células dendríticas plasmocitoides (pDCs, do inglês *plasmacytoid dendritic cells*)**. O principal papel das cDCs é processar os micróbios ingeridos para gerar antígenos peptídicos que podem ativar células T e induzir uma resposta imune adaptativa, e produzir citocinas em resposta ao reconhecimento microbiano. As cDCs são, dessa forma, consideradas a ligação entre as respostas imunes inata e adaptativa. As pDCs são as principais produtoras de interferon (IFN) antiviral e são consideradas parte da imunidade inata. Elas serão discutidas de maneira mais detalhada adiante, neste capítulo.

Em função de a maioria dos microrganismos entrarem no organismo através da mucosa do intestino ou do trato respiratório, os macrófagos nos tecidos de submucosa são as primeiras células a encontrar a maioria dos patógenos, porém, eles são logo auxiliados pelo recrutamento de um grande número de neutrófilos para os locais de infecção. Macrófagos e neutrófilos reconhecem os patógenos por meio dos receptores de superfície celular que podem discriminar entre as moléculas de superfície dos patógenos e as moléculas do hospedeiro. Embora ambos sejam fagocíticos, os macrófagos e os neutrófilos possuem propriedades e funções distintas na imunidade inata.

Todas as células fagocíticas internalizam os patógenos pelo mesmo processo de **fagocitose**, o qual é iniciado quando certos receptores na superfície do patógeno se ligam a componentes de uma superfície microbiana. O patógeno ligado é primeiramente circundado pela membrana plasmática fagocitada e, então, internalizado em uma ampla membrana anexa à vesícula endocítica conhecida como **fagossomo**. O fagossomo então se torna acidificado, o que mata a maioria dos patógenos. O fagossomo funde-se com um ou mais lisossomas para gerar um **fagolisossoma**, na qual os conteúdos lisossômicos são liberados para destruir o patógeno (Fig. 3.2). Os neutrófilos, que são altamente especializados na morte intracelular de micróbios, contêm ainda grânulos citoplasmáticos denominados grânulos primários e secundários, os quais se fundem com o fagossomo e contêm enzimas e peptídeos antimicrobianos adicionais que atacam o micróbio (ver Seção 2.4). Outra via pela qual o material extracelular, incluindo material microbiano, pode ser capturado para o interior do compartimento endossômico das células e degradado é pela **endocitose mediada por receptor**, a qual não é restrita aos fagócitos. As células dendríticas e os outros fagócitos podem ainda capturar patógenos por um processo não específico denominado **macropinocitose**, no qual grandes quantidades de líquido extracelular e seus conteúdos são ingeridos.

Macrófagos e neutrófilos constitutivamente expressam um número de receptores de superfície celular que estimula a fagocitose e a morte intracelular de micróbios

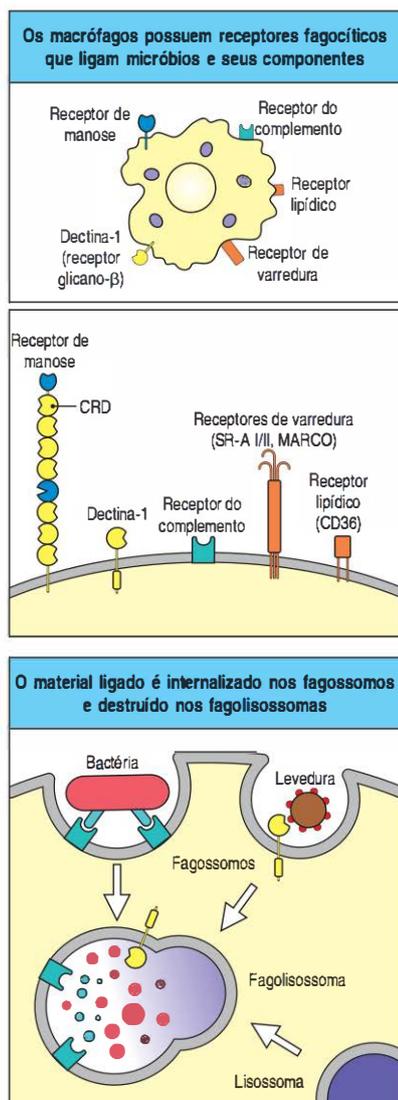


Figura 3.2 Os macrófagos expressam receptores capazes de prender micróbios por fagocitose. Primeira figura: macrófagos residentes nos tecidos do organismo estão entre as primeiras células a encontrar e responder aos patógenos. Eles carregam receptores de superfície celular que se ligam aos patógenos e seus componentes e induzem fagocitose do material ligado. Segunda figura: macrófagos expressam diversos tipos de receptores que interagem diretamente com os componentes microbianos, em particular, carboidratos e lipídeos. A dectina-1 é uma lectina tipo C formada ao redor de um domínio de reconhecimento de carboidrato (CRD) simples. O receptor de manose do macrófago contém muitos CRDs, com um domínio semelhante à fibronectina e uma região rica em cisteína em sua porção aminoterminal. Os receptores de varredura de classe A são formados a partir de domínios semelhantes a colágeno e foram trímeros. O receptor de proteína CD36 é um receptor de varredura de classe B que reconhece e internaliza lipídeos. Os macrófagos também expressam receptores do complemento, os quais internalizam a bactéria coberta pelo complemento. Terceira figura: a ligação de micróbios ou componentes microbianos a qualquer um desses receptores estimula a fagocitose e a captura para os fagossomos intracelulares. Os fagossomos fundem-se com os lisossomos, formando um fagolisossoma acidificado no qual o material ingerido é destruído por hidrolase lisossômica.

ligados a eles, embora alguns ainda sinalizem por outras vias para desencadear respostas como a produção de citocinas. Esses receptores fagocíticos incluem diversos membros da família semelhante à lectina tipo C (ver Fig. 3.2). **Dectina-1** é fortemente expressa por macrófagos e neutrófilos e reconhece β -1,3-glicanos ligados (polímeros de glicose), que são componentes comuns da parede celular fúngica em particular. As células dendríticas expressam, ainda, Dectina-1, bem como diversos outros receptores fagocíticos semelhantes à lectina tipo C, os quais serão discutidos em relação à captura de patógeno para processamento e apresentação antigênica no Capítulo 9. Outra lectina tipo C, o **receptor de manose (MR)**, do inglês *mannose receptor*) expresso por macrófagos e células dendríticas, reconhece diversos ligantes manossilados, incluindo alguns presentes em fungos, bactérias e vírus. Esse receptor já foi suspeito de possuir papel importante na resistência a micróbios. Contudo, experimentos com camundongos que não possuem esse receptor não dão suporte a essa ideia. Acredita-se, hoje, que o MR do macrófago funcione principalmente como receptor de eliminação para glicoproteínas do hospedeiro, como β -glicuronidase e hidrolases lisossômicas, que possuem cadeias laterais de carboidrato contendo manose e cujas concentrações extracelulares estão aumentadas durante a inflamação.

Um segundo grupo de receptores fagocíticos nos macrófagos, denominados **receptores de varredura**, reconhece diversos polímeros aniônicos e lipoproteínas acetiladas de baixa densidade. Esses receptores são estruturalmente heterogênicos, e são compostos por pelo menos seis famílias moleculares diferentes. Os receptores de varredura de classe A são proteínas de membrana compostas por trímeros de domínios de colágeno (ver Fig. 3.2). Eles incluem **SR-A I**, **SR-A II** e **MARCO** (do inglês *macrophage receptor with a collagenous structure* [receptor de macrófago com estrutura de colágeno]), os quais se ligam a diversos componentes da parede celular bacteriana e auxiliam a internalizar a bactéria, embora a base de sua especificidade seja pouco entendida. Os receptores de varredura de classe B ligam-se a lipoproteínas de alta densidade e internalizam lipídeos. Um desses receptores é CD36, o qual liga muitos ligantes, incluindo ácidos graxos de cadeia longa.

Um terceiro grupo de receptores de importância crucial na fagocitose de macrófagos e neutrófilos são os receptores do complemento discutidos no Capítulo 2, que ligam os micróbios revestidos pelo complemento. O receptor do complemento CR3 reconhece e fagocita diretamente micróbios transportando β -glicanos. Todos esses receptores atuam em conjunto na imunidade inata para facilitar a fagocitose de uma ampla variedade de microrganismos patogênicos.

3.2 Receptores acoplados à proteína G nos fagócitos ligam o reconhecimento microbiano com a eficiência aumentada de morte intracelular

A fagocitose de micróbios por macrófagos e neutrófilos é geralmente seguida pela morte do micróbio no interior do fagócito. Assim como os receptores fagocíticos, os macrófagos e os neutrófilos possuem outros receptores que sinalizam para estimular

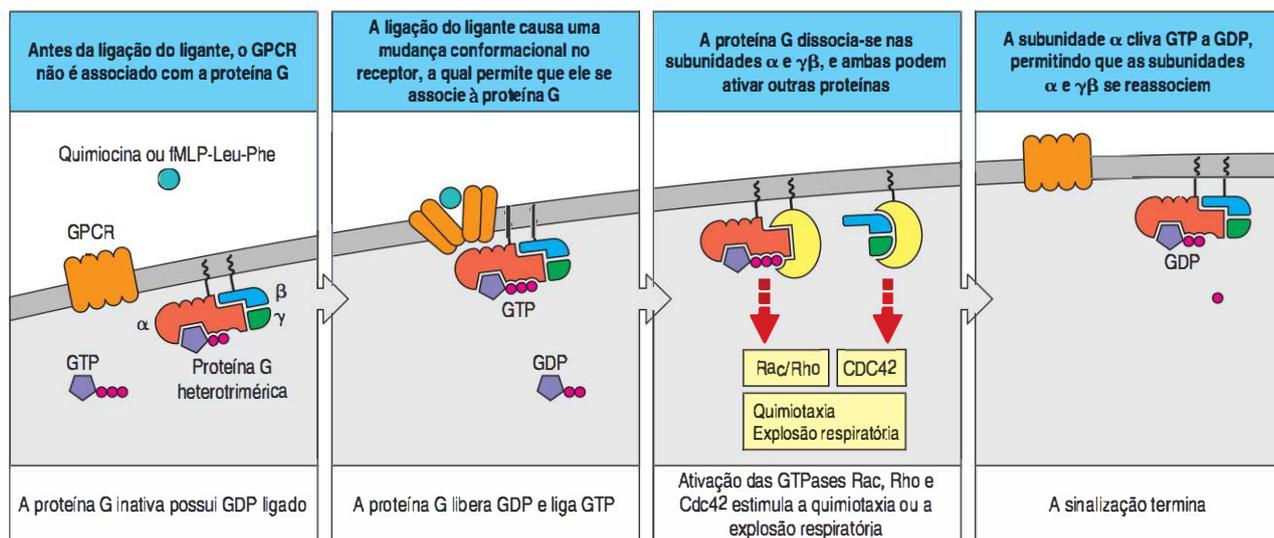
a morte antimicrobiana. Esses receptores pertencem a uma família evolutivamente antiga de **receptores acoplados à proteína G (GPCRs, do inglês *G-protein-coupled receptors*)**, que são caracterizados por sete segmentos membrana-abrangentes. Membros dessa família são cruciais para a função do sistema imune, pois também direcionam respostas a anafilatoxinas, como o fragmento do complemento C5a (ver Seção 2.14), e para diversas quimiocinas (peptídeos quimioatraentes e proteínas), recrutando fagócitos para os locais de infecção e promovendo a inflamação.

O **receptor fMet-Leu-Phe (fMLP)** é um receptor acoplado à proteína G que sente a presença da bactéria pelo reconhecimento de uma única característica dos polipeptídeos bacterianos. A síntese de proteína na bactéria é, em geral, iniciada com um resíduo *N*-formilmetionina (fMet), um aminoácido presente em procariontes, mas não em eucariontes. O receptor fMLP é nomeado com base em um tripeptídeo pelo qual possui alta afinidade, embora ainda se ligue a outros motivos peptídicos. Os polipeptídeos bacterianos que se ligam a esse receptor ativam vias de sinalização intracelular que direcionam a célula a se mover para a fonte mais concentrada de ligantes. A sinalização por meio do receptor fMLP ainda induz a produção de espécies reativas de oxigênio (ROs, do inglês *reactive oxygen species*) microbicidas no fagolisossoma. O receptor C5a reconhece o fragmento pequeno de C5 gerado quando as vias clássica ou de lectina são ativadas, geralmente pela presença de micróbios (ver Seção 2.14), e desencadeia respostas similares às do receptor fMLP. Dessa forma, o estímulo desses receptores guia monócitos e neutrófilos para o local de infecção e desencadeia o aumento da atividade antimicrobiana, e essas respostas celulares podem ser ativadas diretamente pela sensação direta de produtos bacterianos únicos ou por mensageiros como C5a que indicam o reconhecimento prévio de um micróbio.

Os receptores acoplados à proteína G são assim denominados pois a ligação de seus ligantes ativa um membro de uma classe de proteínas intracelulares GTP-ligadas denominadas **proteínas G**, algumas vezes denominadas **proteínas G heterotriméricas** para distingui-las da família de GTPases “pequenas” simbolizadas por Ras. As proteínas G heterotriméricas são compostas por três subunidades: G α , G β e G γ , das quais a subunidade α é similar às GTPases pequenas (Fig. 3.3). No estado de repouso, a proteína G está inativa, não associada ao receptor, e uma molécula de GDP é ligada à subunidade α . A ligação do ligante induz mudanças conformacionais no receptor que permitem a sua ligação à proteína G, o que resulta no deslocamento de GDP da proteína G e sua substituição com GTP. A proteína G ativa dissocia-se em dois componentes, a subunidade α e um complexo de subunidades β e γ . Cada um desses componentes pode interagir com outras moléculas de sinalização intracelular.



Figura 3.3 Os receptores acoplados à proteína G sinalizam por acoplamento com proteínas G heterotriméricas intracelulares. Os receptores acoplados à proteína G (GPCRs), como o receptor fMet-Leu-Phe (fMLP) e receptores de quimiocinas, sinalizam por meio de proteínas ligadas a GTP conhecidas como proteínas G heterotriméricas. Em um estado inativo, a subunidade α da proteína G que liga GDP é associada com as subunidades β e γ (primeira figura). A ligação do ligante ao receptor induz uma mudança conformacional que permite que o receptor interaja com a proteína G, o que resulta no deslocamento de GDP e ligação de GTP pela subunidade α (segunda figura). A ligação de GTP ativa a dissociação da proteína G na subunidade α e na subunidade $\beta\gamma$, e ambas podem ativar outras proteínas na face interna da membrana celular (terceira figura). No caso da sinalização fMLP nos macrófagos e nos neutrófilos, a subunidade α da proteína G ativada ativa indiretamente as GTPases Rac e Rho, enquanto a subunidade $\beta\gamma$ ativa indiretamente a GTPase Cdc42. As ações dessas proteínas resultam na montagem da NADPH oxidase. A sinalização por quimiocina atua por uma via similar e ativa a quimiotaxia. A resposta ativada cessa quando a atividade intrínseca da GTPase da subunidade α hidrolisa GTP a GDP, e as subunidades α e $\beta\gamma$ reassociam-se (quarta figura). O nível intrínseco de hidrólise de GTP por subunidades α é relativamente lento e a sinalização é regulada por proteínas ativadoras de GTPase adicionais (não mostrado), as quais aceleram o nível de hidrólise de GTP.



lular para transmitir e amplificar o sinal. As proteínas G podem ativar uma ampla variedade de alvos enzimáticos a jusante, como adenilato ciclase (que produz o segundo mensageiro cíclico AMP), fosfolipase C (cuja ativação origina o segundo mensageiro inositol 1,3,5-trifosfato [IP_3] e a liberação de Ca^{2+} livre) e reguladores das GTPases da família Ras, que, por sua vez, pode afetar o metabolismo celular, a motilidade, a expressão gênica e a divisão celular.

No caso de sinalização de fMLP e C5a, a subunidade α da proteína G ativada ativa indiretamente as GTPases pequenas Rac e Rho, enquanto a subunidade $\beta\gamma$ ativa indiretamente a GTPase pequena Cdc42. As ações dessas proteínas auxiliam no aumento da capacidade microbicida de macrófagos e neutrófilos que ingeriram os patógenos. Na fagocitose, macrófagos e neutrófilos produzem uma variedade de produtos tóxicos que auxiliam a matar os microrganismos engolfados (Fig. 3.4). O mais importante são os peptídeos antimicrobianos descritos na Seção 2.4, espécies reativas ao nitrogênio, como o óxido nítrico (NO), e as **espécies reativas ao oxigênio (ROS)**, como o ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O óxido nítrico é produzido por uma forma de alto rendimento de sintase de óxido nítrico, NOS2 induzível (iNOS2, do inglês *inducible NOS2*), cuja expressão é induzida por uma variedade de estímulos, incluindo fMLP. A ativação de receptores de fMLP e C5a está ainda diretamente envolvida na geração de ROSs.

O superóxido é gerado por um multicomponente, **NADPH oxidase** associado à membrana, também denominado **fagócito oxidase**. Em fagócitos não estimulados, essa enzima está inativa pois não está totalmente agregada. Um grupo de subunidades, o complexo citocromo b_{559} , está localizado nas membranas de grânulos neurofílicos secundários e lisossomas dos macrófagos; os outros componentes estão no citosol. A ativação de fagócitos induz a adição de subunidades citosólicas ao citocromo b_{559} associado à membrana para formar um NADPH oxidase funcional completo na membrana do fagolisossoma (Fig. 3.5). Os receptores fMLP e C5a participam do processo, ativando as GTPases da família Ras, como Rac2, que são necessárias para a junção do NADPH oxidase ativo.

A reação de NADP oxidase resulta em aumento transiente do consumo de oxigênio pela célula, que é conhecido como **erupção respiratória**. Ela gera ânion superóxido dentro do lúmen do fagolisossoma, que é convertido pela enzima superóxido

Figura 3.4 Agentes bactericidas produzidos ou liberados pelos fagócitos na ingestão de microrganismos. A maioria dos agentes listados são diretamente tóxicos aos micróbios e podem agir diretamente no fagolisossoma. Eles podem ser secretados no ambiente extracelular, e muitas dessas substâncias são tóxicas para as células hospedeiras. Outros produtos fagocitados sequestram nutrientes essenciais no ambiente extracelular, tornando-os inacessíveis aos micróbios e impedindo o crescimento microbiano. BPI, permeabilidade bacteriana indutora de proteína; NO, óxido nítrico.

Mecanismos antimicrobianos dos fagócitos		
Classe de mecanismo	Produtos de macrófagos	Produtos de neutrófilos
Acidificação	pH = -3,5-4,0, bacteriostático ou bactericida	
Produtos tóxicos derivados do oxigênio	Superóxido O_2^- , peróxido de hidrogênio H_2O_2 , oxigênio livre $^1O_2^*$, radical hidroxila *OH , hipoclorito OCl^-	
Óxidos de nitrogênio tóxicos	Óxido nítrico (NO)	
Peptídeos antimicrobianos	Catelicidina, peptídeo derivado de elastase do macrófago	α -Defensinas (HNP1-4), β -defensina HBD4, catelicidina, azurocidina, BPI, lactoferricina
Enzimas	Lisozima: digere a parede celular de algumas bactérias gram-positivas Hidrolases ácidas (p. ex., elastase e outras proteases): destrói micróbios ingeridos	
Competidores		Lactoferrina (liga-se ao Fe^{2+}), proteína de ligação à vitamina B_{12}

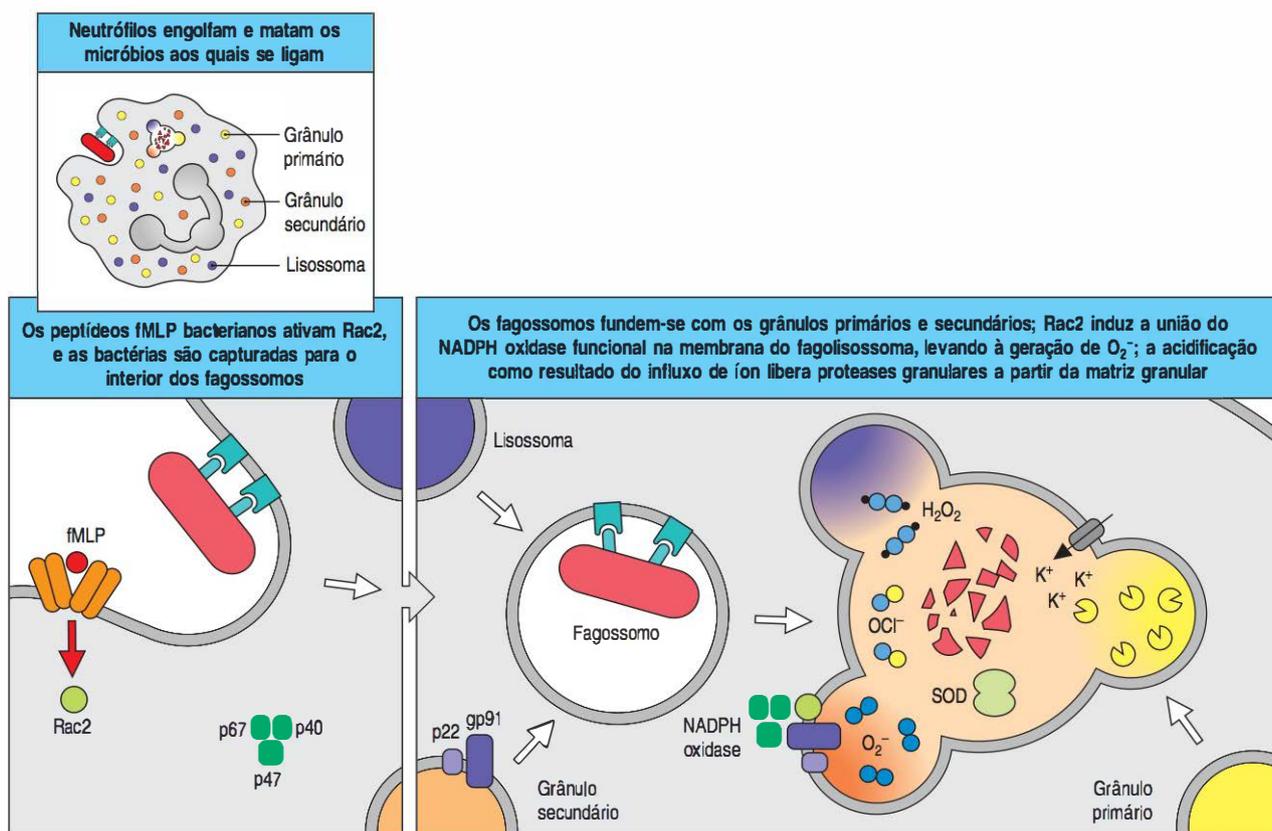


Figura 3.5 A explosão respiratória microbicida nos fagócitos é induzida pela união induzida por ativação do NADPH oxidase do fagócito. Os neutrófilos são altamente especializados na captura e morte de patógenos e contêm diversos tipos de grânulos citoplasmáticos diferentes, como os grânulos primários e secundários mostrados na primeira figura. Esses grânulos contêm peptídeos antimicrobianos e enzimas. Nos neutrófilos em repouso, as subunidades do citocromo b_{558} (gp91 e gp22) do NADPH oxidase estão localizadas nas membranas dos grânulos secundários. Os outros componentes da oxidase (p40, p47 e p67) estão localizados no citosol (segunda figura). Em conjunto com as ações dos receptores fagocíticos, a sinalização por receptores fMet-Leu-Phe (fMLP) ou C5a ativa Rac2. Isso induz a união das subunidades citosólicas com o citocromo b_{558} para formar NADPH oxidase ativo na membrana do fagolisossoma, o qual foi for-

mado pela fusão do fagossomo com lisossomas e grânulos primários e secundários (terceira figura). O NADPH oxidase ativo transfere um elétron de seu cofator FAD para o oxigênio molecular formando o íon O_2^- superóxido (azul) e outros radicais livres de oxigênio no lúmen do fagolisossoma (terceira figura). Íons de potássio e hidrogênio são, então, colocados no fagolisossoma para neutralizar o íon de superóxido carregado, aumentando a acidificação da vesícula. A acidificação dissocia enzimas granulares como catepsina G e elastase (amarelo) a partir de sua matriz de proteoglicano, levando à clivagem e à ativação pelas proteases lisossômicas. O_2^- é convertido pelo superóxido dismutase (SOD) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode matar microrganismos e é ainda convertido por outras enzimas e por reações químicas com íons de ferro (Fe^{2+}) para hipoclorito (OCl^-) microbicida e radical hidroxila ($\cdot OH$).

dismutase em H_2O_2 . Além disso, reações químicas e enzimáticas produzem uma variedade de químicos tóxicos a partir de H_2O_2 , incluindo radical hidroxila ($\cdot OH$), hipoclorito (OCl^-) e hipobrometo (OBr^-). Dessa maneira, o reconhecimento direto de polipeptídeos derivados de bactérias ou o reconhecimento de patógenos prévios pelo sistema do complemento ativa um mecanismo potente de morte no interior de macrófagos e neutrófilos que ingeriram micróbios via receptores fagocíticos. Devido ao fato de as enzimas hidrolíticas, os peptídeos de rompimento de membrana e as ROS poderem ser liberadas para o ambiente extracelular e serem tóxicas às células hospedeiras, a ativação fagocítica pode causar extenso dano tecidual.

Os neutrófilos não são células residentes dos tecidos e precisam ser recrutados para o local da infecção a partir da corrente sanguínea. Sua função exclusiva é ingerir e matar microrganismos. Embora os neutrófilos estejam eventualmente presentes em quantidade muito maior que a quantidade de macrófagos em alguns tipos de infecções agudas, eles possuem vida curta e morrem logo após completar um ciclo de

fagocitose e consumir seus grânulos primários e secundários. Os neutrófilos mortos e os que estão a ponto de morrer são os principais componentes do **pus** que se forma em abscessos e em feridas infectadas por certas bactérias extracelulares capsuladas, como estreptococos e estafilococos, que são, dessa forma, conhecidas como **formadoras de pus** ou **bactérias piogênicas**. Os macrófagos, em contrapartida, são células de vida longa e continuam a gerar novos lisossomas.

Pacientes com uma doença denominada **doença granulomatosa crônica (CGD)**, do inglês *chronic granulomatous disease*) possuem uma deficiência genética de NADPH oxidase, na qual seus fagócitos não produzem os derivados de oxigênio tóxicos característicos da explosão respiratória e, assim, são menos capazes de matar os microrganismos ingeridos e eliminar a infecção. A forma mais comum de CGD é uma doença ligada ao X que se origina de mutações de inativação no gene codificador da subunidade gp91 do citocromo b_{559} , localizado no cromossomo X. Pessoas com esses defeitos são raramente suscetíveis a infecções bacterianas e fúngicas, sobretudo na infância. Mutações autossômicas em outras subunidades do NADPH oxidase também podem causar CGD, porém, pode ser branda e ter início tardio.

Os macrófagos podem fagocitar patógenos e produzir a explosão respiratória imediatamente ao encontrar um microrganismo infectante e isso pode ser suficiente para prevenir que uma infecção se estabeleça. No século XIX, o imunologista **Elie Metchnikoff** acreditava que a resposta imune dos macrófagos englobava toda a defesa do hospedeiro; entretanto, invertebrados como a estrela-do-mar que ele estava estudando dependiam inteiramente da imunidade inata para superar a infecção. Embora esse não seja o caso em humanos e outros vertebrados, a resposta imune de macrófagos continua a proporcionar uma importante primeira linha de defesa que deve ser superada se o microrganismo for estabelecer uma infecção que possa ser passada a um novo hospedeiro.

Os patógenos desenvolveram, contudo, uma variedade de estratégias para evitar a destruição imediata por macrófagos e neutrófilos. Muitas bactérias extracelulares patogênicas revestem-se com uma espessa cápsula de polissacarídeo que não é reconhecida por nenhum receptor fagocítico. Nesses casos, no entanto, o sistema do complemento pode reconhecer superfícies microbianas, revesti-las com C3b e então sinalizá-las para fagocitose via receptores do complemento, como descrito no Capítulo 2. Outros patógenos (p. ex., as micobactérias) desenvolveram maneiras de crescer dentro dos fagossomos dos macrófagos pela inibição de sua acidificação e fusão com os lisossomas. Sem tais artifícios, o microrganismo precisa entrar no organismo em quantidade suficiente para simplesmente sobrecarregar as defesas inatas imediatas do hospedeiro e para estabelecer o foco da infecção.

3.3 O reconhecimento do patógeno e o dano tecidual iniciam uma resposta inflamatória

Um efeito importante da interação entre patógenos e macrófagos dos tecidos é a ativação de macrófagos e outras células imunes para liberar pequenas proteínas denominadas **citocinas** e **quimiocinas** (citocinas quimioatraentes) e outros mediadores químicos que estabelecem estado de **inflamação** no tecido, atrair monócitos e neutrófilos para o local da infecção e permitir que proteínas plasmáticas entrem no tecido pelo sangue. **Uma resposta inflamatória é geralmente iniciada dentro de horas após a infecção ou ferimento**. Os macrófagos são estimulados a secretar citocinas e quimiocinas **pró-inflamatórias** por meio de interações entre micróbios e produtos microbianos e receptores específicos expressos pelos macrófagos. Antes de examinar tais interações de maneira detalhada, serão descritos alguns aspectos gerais da inflamação e como ela contribui para a defesa do hospedeiro.

A inflamação possui três papéis essenciais para combater a infecção. O primeiro é levar moléculas efetoras adicionais e células do sangue para o local da infecção e, assim, aumentar a destruição de microrganismos invasores. O segundo é induzir a

coagulação sanguínea local, que promove uma barreira física à propagação da infecção na corrente sanguínea. O terceiro é promover o reparo do tecido danificado.

As respostas inflamatórias são caracterizadas por dor, vermelhidão, calor e edema no local da infecção, refletindo quatro tipos de mudança nos vasos sanguíneos locais, como mostrado na Figura 3.6. A primeira mudança é um aumento no diâmetro vascular, levando a fluxo sanguíneo local aumentado - daí o calor e a vermelhidão - e redução na velocidade do fluxo sanguíneo, sobretudo ao longo das paredes internas dos pequenos vasos sanguíneos. A segunda mudança consiste na ativação das células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos para expressar **moléculas de adesão celular** que promovem a ligação de leucócitos circulantes. A combinação entre fluxo sanguíneo retardado e moléculas de adesão permite que os leucócitos se fixem ao endotélio e migrem para dentro dos tecidos, processo denominado **extravasamento**. Todas essas mudanças são iniciadas por citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias produzidas por macrófagos ativados.

Após o início da inflamação, os primeiros leucócitos atraídos para o local da infecção são os neutrófilos. Estes são seguidos por monócitos, que se diferenciam em macrófagos no tecido (Fig. 3.7). Os monócitos também são capazes de originar células dendríticas nos tecidos, dependendo dos sinais precisos que recebem de seu ambiente: por exemplo, o fator estimulante de colônias granulocíticas e macrófágicas (GM-CSF, do inglês *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), junto com a interleucina (IL)-4, induzirá os monócitos a se diferenciarem em células dendríticas, enquanto o fator estimulante de colônias macrófágicas (M-CSF, do inglês *macrophage colony-stimulating factor*) induz a diferenciação em macrófagos. Nos estágios tardios da inflamação, outros leucócitos, como eosinófilos e linfócitos (ver Seção 1.3), também entram no local infectado.

A terceira maior mudança nos vasos sanguíneos locais é o aumento da permeabilidade vascular. Assim, em vez de estarem juntas, as células endoteliais que revestem as paredes dos vasos sanguíneos separam-se, levando à saída de líquido e proteínas a partir do sangue e seus locais de acumulação no tecido. Isso explica o inchaço, ou **edema**, e dor - bem como a acumulação nos tecidos de proteínas plasmáticas, como complemento e MBL, que auxiliam na defesa do hospedeiro. As mudanças que ocorrem no endotélio como resultado da inflamação são geralmente conhecidas como **ativação endotelial**. A quarta mudança, a **coagulação em microvasos no local da infecção**, previne o espalhamento do patógeno via sangue.

Essas mudanças são induzidas por uma variedade de mediadores inflamatórios liberados como consequência do reconhecimento de patógenos pelos macrófagos e, mais adiante, por neutrófilos e outros leucócitos. **Macrófagos e neutrófilos secretam mediadores lipídicos de inflamação - prostaglandinas, leucotrienos e fator ativador de plaquetas (PAF, do inglês *platelet-activating factor*)** -, os quais são rapidamente produzidos por vias enzimáticas que degradam membranas fosfolipídicas. Suas ações são seguidas pelas ações de quimiocinas e citocinas que são sintetizadas e secretadas pelos macrófagos em resposta aos patógenos. A citocina **fator de**

Figura 3.6 A infecção estimula os macrófagos a liberar citocinas e quimiocinas que iniciam a resposta inflamatória. As citocinas produzidas nos locais de infecção pelos macrófagos dos tecidos causam dilatação dos pequenos vasos sanguíneos locais e alterações na parede das células endoteliais. Essas mudanças fazem os leucócitos, como monócitos e neutrófilos, passarem do interior dos vasos sanguíneos (extravasamento) para o tecido infectado, guiados pelas quimiocinas produzidas pelos macrófagos ativados. Os vasos sanguíneos também se tornam mais permeáveis, permitindo que as proteínas plasmáticas e os líquidos vazem para os tecidos. Juntas, essas mudanças causam os sinais característicos da inflamação, como calor, dor, vermelhidão e edema no local da infecção.

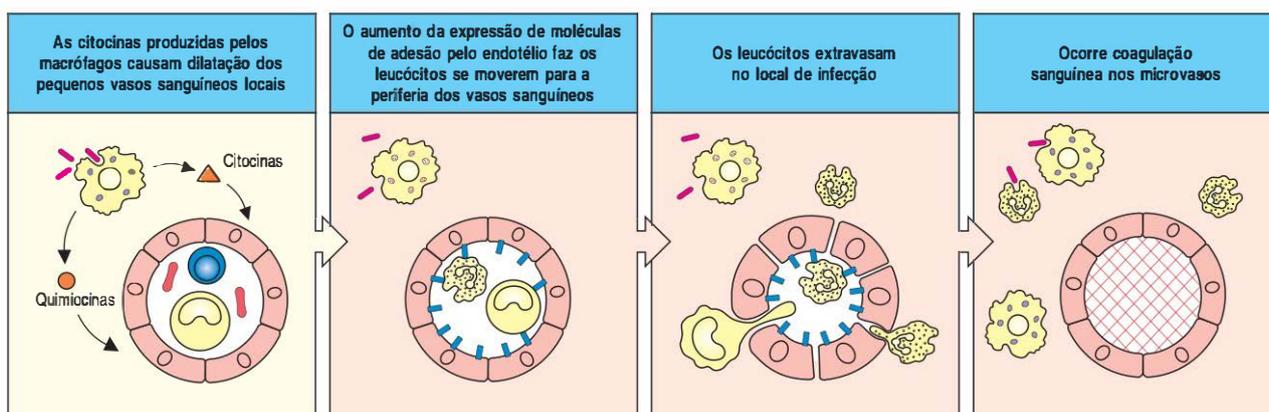
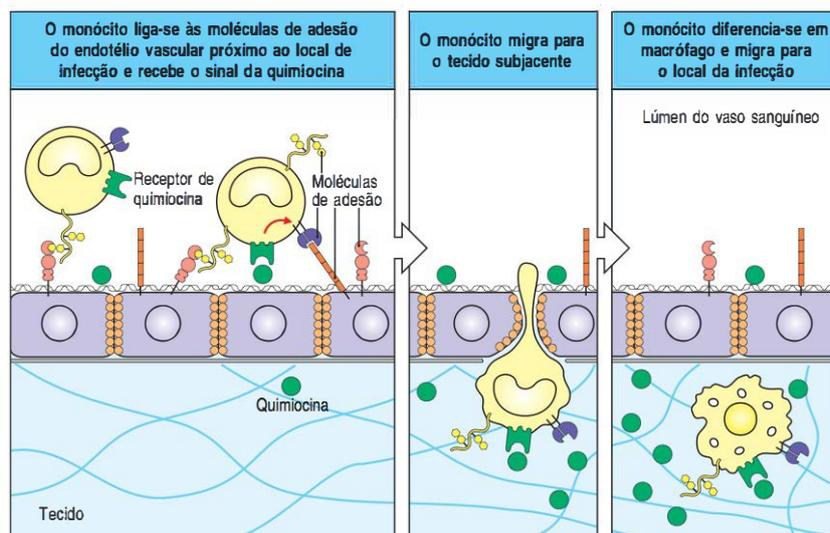


Figura 3.7 Os monócitos circulantes no sangue migram para os tecidos infectados e inflamados. As interações iniciais são mediadas por moléculas de adesão que capturam os monócitos da circulação e causam a aderência destes no endotélio vascular. As quimiocinas ligadas ao endotélio vascular sinalizam para que os monócitos migrem através do endotélio para o tecido subjacente. Os monócitos, agora diferenciados em macrófagos, continuam sua migração para o local da infecção sob a influência das quimiocinas liberadas durante a resposta inflamatória. Os monócitos que saem do sangue são, ainda, capazes de diferenciar-se em células dendríticas (não mostrado) dependendo dos sinais que recebem do ambiente.



necrose tumoral- α (TNF- α , também conhecido simplesmente por TNF [do inglês *tumor necrosis factor*]), por exemplo, é um potente ativador de células endoteliais. O TNF- α e as citocinas relacionadas serão descritos de maneira mais detalhada na Seção 3.17.

Além de estimular a explosão respiratória nos fagócitos e agir como quimioatraente para neutrófilos e monócitos (ver Seção 3.2), C5a também promove inflamação pelo aumento da permeabilidade vascular e indução da expressão de certas moléculas de adesão no endotélio. C5a ativa, ainda, **mastócitos** locais (ver Seção 1.3), que são estimulados a liberar seus grânulos contendo a pequena molécula inflamatória histamina e o TNF- α , bem como catelicidinas.

Se tiver ocorrido um ferimento, **os vasos sanguíneos danificados desencadeiam imediatamente duas cascatas enzimáticas protetoras. Uma é o sistema de quinina das proteases plasmáticas, que é desencadeado pelo dano tecidual e é uma cascata de protease similar ao sistema do complemento, no qual as enzimas estão inicialmente em forma inativa ou zimógena. O dano tecidual desencadeia uma cascata enzimática na qual uma protease ativada cliva e ativa a próxima protease, resultando na produção de diversos mediadores inflamatórios, incluindo o peptídeo vasoativo bradiquinina. A bradiquinina causa aumento na permeabilidade vascular que promove o influxo de proteínas plasmáticas para o local da lesão tecidual. Ela ainda causa dor, que, embora seja desagradável para a vítima, chama a atenção para o problema e leva à imobilização da parte afetada do corpo, o que ajuda a limitar a propagação da infecção.**

O sistema de coagulação é outra cascata de protease desencadeada no sangue após o dano nos vasos sanguíneos. Sua ativação leva à formação de um coágulo de fibrina, cuja função normal é prevenir a perda sanguínea. Com relação à imunidade inata, contudo, o coágulo cobre fisicamente os microrganismos infecciosos e previne sua entrada na corrente sanguínea. A cascata de quinina e a cascata de coagulação sanguínea são, ainda, desencadeadas por células endoteliais ativadas e, assim, elas podem possuir papéis importantes na resposta inflamatória a patógenos, mesmo se o ferimento ou a lesão bruta do tecido não tiver ocorrido. Dessa forma, minutos após a penetração de um patógeno nos tecidos, a resposta inflamatória causa influxo de proteínas e células que podem controlar a infecção. Forma-se, ainda, uma barreira física no formato de coágulos sanguíneos para limitar a propagação da infecção e tornar o hospedeiro totalmente consciente do local da infecção.

3.4 Os TLRs representam um sistema antigo de reconhecimento de patógeno

A produção de citocinas e quimiocinas pelos macrófagos é resultado do estímulo de receptores de sinalização nessas células por uma ampla variedade de componentes do patógeno. Desses receptores, os **receptores semelhantes ao Toll (TLRs, do inglês *Toll-like receptors*)** representam um sistema de defesa do hospedeiro evolutivamente antigo. O receptor de proteína **Toll** foi primeiramente identificado como um gene que controlava o padrão embrionário dorsoventral correto da mosca-da-fruta *Drosophila melanogaster*. Porém, em 1996, descobriu-se que, no inseto adulto, a sinalização Toll induz a expressão de diversos mecanismos de defesa do hospedeiro, incluindo peptídeos antimicrobianos como drosomicina (ver Fig. 2.9), e que é fundamental para a defesa contra bactérias gram-positivas e patógenos fúngicos. Peptídeos antimicrobianos parecem ser a forma mais precoce de defesa contra infecção (ver Seção 2.4), e, assim, os receptores que reconhecem os patógenos e enviam sinais para a produção de peptídeos antimicrobianos possuem uma boa reivindicação em ser os receptores mais precoces dedicados à defesa contra a infecção em organismos multicelulares.

Descobriu-se que mutações no Toll de *Drosophila* ou em proteínas de sinalização ativadas pelo Toll diminuam a produção de peptídeos antimicrobianos e levavam à suscetibilidade de um inseto adulto a infecções fúngicas (Fig. 3.8). Subsequentemente, homólogos do Toll, denominados receptores semelhantes ao Toll, foram encontrados em outros animais, incluindo mamíferos, nos quais estão associados à resistência a infecções virais, bacterianas ou fúngicas. Em plantas, proteínas com domínios semelhantes às regiões de ligação ao ligante de proteínas TLR estão envolvidas na produção de peptídeos antimicrobianos, indicando a antiga associação desses domínios com esse meio de defesa do hospedeiro.

3.5 Os TLRs dos mamíferos são ativados por diferentes padrões moleculares associados aos patógenos

Existem 10 genes *TLR* expressos em humanos (13 em camundongos), e cada um é dedicado a reconhecer um grupo distinto de padrões moleculares que não são encontrados em células de vertebrados saudáveis. Esses padrões são característicos de componentes de microrganismos patogênicos em um ou outro estágio da infecção e são geralmente denominados **padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*)**. Entre eles, os TLRs dos mamíferos reconhecem os padrões moleculares característicos de bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e vírus. As paredes e membranas celulares bacterianas são compostas por arranjos repetidos de proteínas, carboidratos e lipídeos, e muitos deles não são encontrados em células animais. Entre eles, os **ácidos lipoteicoicos** das paredes celulares de bactérias gram-positivas e o **lipopolissacarídeo (LPS)** da membrana externa da bactéria gram-negativa (ver Fig. 2.7) são particularmente importantes no reconhecimento de bactérias pelo sistema imune inato, e são reconhecidos por TLRs. Outros componentes microbianos possuem estrutura repetitiva. Os flagelos bacterianos são formados por um subgrupo de proteínas repetidas e o DNA bacteriano possui abundantes repetições não metiladas de CpG dinucleotídico (que é geralmente metilado no DNA de mamíferos). Os vírus produzem, quase invariavelmente, RNA de fita dupla como parte de seus ciclos de vida, um tipo de RNA não característico de células de mamíferos saudáveis. Todos são reconhecidos por TLRs.

Os TLRs dos mamíferos e os ligantes microbianos conhecidos que eles reconhecem estão listados na Figura 3.9. Devido à existência de relativamente poucos genes *TLR*, os TLRs possuem especificidade limitada quando comparados com os receptores de antígenos do sistema imune adaptativo. Contudo, eles podem reconhecer elementos da maioria dos micróbios patogênicos e são expressos por diversos tipos celulares, incluindo macrófagos fagocíticos e células dendríticas, células B e certos tipos de células epiteliais, permitindo o início das respostas antimicrobianas em diversos tecidos.



Filme 3.3



Figura 3.8 O Toll é necessário para as respostas antifúngicas na *Drosophila melanogaster*. Insetos que possuem deficiência no receptor Toll estão drasticamente mais suscetíveis a infecções fúngicas quando comparados a insetos do tipo selvagem. Isso é ilustrado aqui pelo crescimento descontrolado das hifas do patógeno normalmente fraco *Aspergillus fumigatus* em um inseto com deficiência de Toll. (Foto cortesia de J.A. Hoffmann.)

Reconhecimento imune inato pelos TLRs de mamíferos		
Receptor TCR	Ligante	Distribuição celular
Heterodímero TLR-1:TLR-2	Lipomananos (micobactérias) Lipoproteínas (lipopeptídeos diacil; lipopeptídeos triacil) Ácidos lipoteicoicos (bactérias gram-positivas)	Monócitos, células dendríticas, mastócitos, eosinófilos, basófilos
Heterodímero TLR-2:TLR-6	β-glicanos de parede celular (bactérias e fungos) Zimosano (fungos)	
TLR-3	dsRNA (vírus)	Células NK
TLR-4 (mais MD-2 e CD14)	LPSs (bactérias gram-negativas) Ácidos lipoteicoicos (bactérias gram-positivas)	Macrófagos, células dendríticas, mastócitos, eosinófilos
TLR-5	Flagelina (bactérias)	Epitélio intestinal
TLR-7	ssRNA (vírus)	pDCs, células NK, eosinófilos, células B
TLR-8	ssRNA (vírus)	Células NK
TLR-9	DNA com CpG não metilado (bactérias e herpes-vírus)	pDCs, eosinófilos, células B, basófilos
TLR-10	Desconhecido	pDCs, eosinófilos, células B, basófilos
TLR-11 (somente em camundongos)	Profilina e proteínas semelhantes à profilina (<i>Toxoplasma gondii</i> , bactérias uropatogênicas)	Macrófagos, células dendríticas, células epiteliais do fígado, dos rins e da bexiga

Figura 3.9 Reconhecimento imune inato pelos receptores semelhantes ao Toll (TLRs). Cada um dos TLRs com especificidade conhecida reconhece um ou mais padrões moleculares de microrganismos, geralmente pela interação direta com as moléculas da superfície dos patógenos. Alguns TLRs de proteínas formam heterodímeros (p. ex., TLR-1:TLR-2 e TLR-6:TLR-2). dsRNA, RNA de fita dupla; LPS, lipopolissacarídeo; NK, *natural killer*; pDCs, células dendríticas plasmocitoides; ssRNA, RNA de fita simples.

Os TLRs são sensores para a presença de micróbios nos espaços extracelulares. Alguns TLRs de mamíferos são receptores de superfície celular similares ao Toll de *Drosophila*, porém, outros são localizados intracelularmente nas membranas dos endossomas, onde detectam patógenos ou seus componentes que foram levados para o interior da célula por fagocitose, endocitose mediada por receptor ou macropinocitose (Fig. 3.10). Eles são proteínas transmembrana de passagem única com região extracelular composta por 18 a 25 cópias de **repetição rica em leucina (LRR, do inglês *leucine-rich repeat*)**. Essas múltiplas LRRs criam uma proteína *scaffold* em forma de ferradura que é adaptável para a ligação do ligante e o reconhecimento de superfícies externas (convexas) e internas (côncavas). Os TLRs dos mamíferos são ativados quando a ligação de um ligante os induz a formar dímeros ou oligômeros. Todas as proteínas dos TLRs dos mamíferos possuem um **domínio TIR** (do inglês *Toll-IL-1 receptor [receptor do Toll de IL-1]*) na sua cauda citoplasmática, o qual interage com outros domínios do tipo TIR, geralmente em outras moléculas de sinalização. Seu nome é originário do fato de o receptor para a citocina **interleucina 1β (IL-1β)** possuir um domínio TIR em sua cauda citoplasmática e sinalizar pela mesma via ativada por alguns TLRs, embora as regiões extracelulares dos receptores de IL-1 sejam compostas por domínios semelhantes a imunoglobulinas e não por LRRs. Anos após a descoberta dos TLRs de mamíferos, não se sabia se eles faziam contato direto com produtos microbianos ou se sentiam a presença de micróbios por alguma forma indireta. O Toll de *Drosophila*, por exemplo, não é um receptor de reconhecimento do padrão clássico. Ele não reconhece produtos patogênicos diretamente; em vez disso, ele é ativado quando se liga à versão clivada de uma proteína própria, Spätzle. *Drosophila* possui outras moléculas diretas de reconhecimento do patógeno e elas desencadeiam a cascata proteolítica que acaba na clivagem de Spätzle. Contudo, recentes estruturas de cristais de raio X de três TLRs diméricos de mamíferos ligados a seus ligantes mostram que pelo menos alguns TLRs de mamíferos fazem contato direto com os ligantes microbianos.

TLR-1, TLR-2 e TLR-6 de mamíferos são receptores de superfície celular que são ativados por diversos ligantes, incluindo o ácido lipoteicoico e as **lipoproteínas diacil**

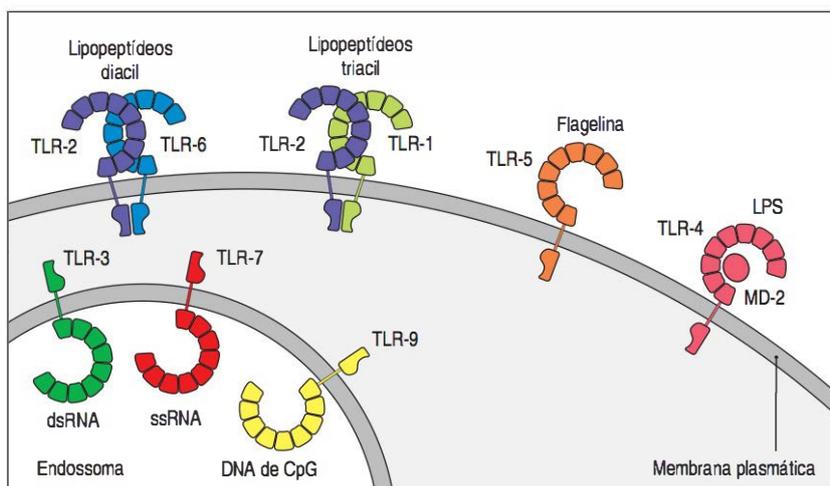


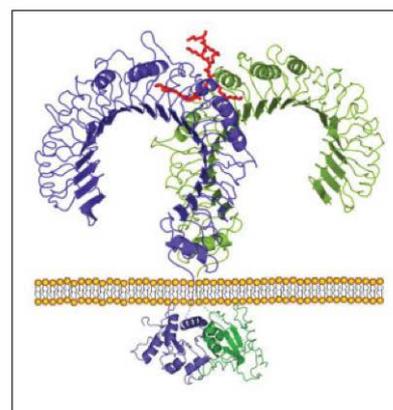
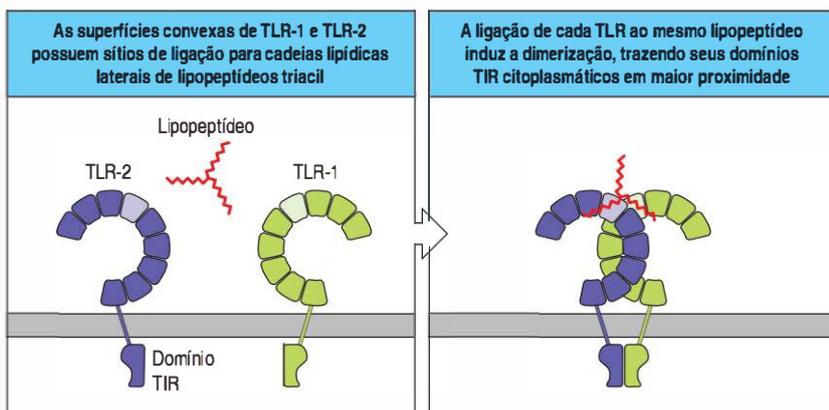
Figura 3.10 Localizações celulares dos receptores semelhantes ao Toll (TLRs) de mamíferos. Alguns TLRs estão localizados na superfície celular de células dendríticas, macrófagos e outras células, onde são capazes de detectar moléculas extracelulares dos patógenos. Acredita-se que os TLRs atuem como dímeros; somente os que atuam como heterodímeros são mostrados aqui na forma dimérica. Os outros atuam como homodímeros. Os TLRs localizados intracelularmente, na parede do endossoma, podem reconhecer componentes microbianos, como DNA, que são acessíveis somente depois que o micróbio tiver sido destruído. Os lipopeptídeos diacil e triacil reconhecidos pelos receptores heterodiméricos TLR-6:TLR-2 e TLR-1:TLR-2, respectivamente, são derivados do ácido lipoteicoico da parede celular de bactérias gram-positivas e de lipoproteínas da superfície de bactérias gram-negativas. dsRNA, RNA de fita dupla; ssRNA, RNA de fita simples.

e **triacil** de bactérias gram-negativas. Eles são encontrados em macrófagos, células dendríticas, eosinófilos, basófilos e mastócitos. A ligação do ligante induz a formação de heterodímeros de TLR-2 e TLR-1 ou de TLR-2 e TLR-6.

A estrutura de cristais de raios X de um ligante lipopeptídico triacil sintético ligado a TLR-1 e TLR-2 mostra exatamente como ele induz a dimerização (Fig. 3.11). Duas das três cadeias lipídicas ligam-se à superfície convexa de TLR-2, enquanto a terceira se liga à superfície convexa de TLR-1. A dimerização aproxima os domínios TIR citoplasmáticos das cadeias de TLR para iniciar a sinalização. Presume-se que interações similares ocorram com ligantes lipopeptídicos diacil que induzem a dimerização de TLR-2 e TLR-6. O reconhecimento de alguns ligantes pelo heterodímero TLR-2:TLR-6, como ácidos graxos de cadeia longa e β -glicanos de parede celular, necessita de um correceptor associado. O receptor de varredura CD36, que liga ácidos graxos de cadeia longa, e a Dectina-1, que liga os β -glicanos (ver Seção 3.1), cooperam com TLR-2 no reconhecimento do ligante.

O **TLR-5** é expresso na superfície celular de macrófagos, células dendríticas e células epiteliais intestinais. Ele reconhece a flagelina, a subunidade da proteína do flagelo bacteriano. O TLR-5 reconhece um sítio altamente conservado na flagelina que é oculto e inacessível no filamento flagelar agregado. Isso significa que o receptor só é ativado por flagelina monomérica, a qual é produzida pela quebra enzimática de bactérias flageladas no espaço extracelular. Camundongos, mas não humanos, expressam **TLR-11**, o qual divide com TLR-5 a habilidade de reconhecer uma proteína intacta. O TLR-11 é expresso por macrófagos e células dendríticas e, ainda, por células epiteliais do fígado, dos rins e da bexiga. Camundongos deficientes de TLR-11 desenvolvem infecções urinárias causadas por cepas uropatogênicas de

Figura 3.11 Reconhecimento direto dos padrões moleculares associados aos patógenos por receptor semelhante ao Toll (TLR)-1 e TLR-2. TLR-1 e TLR-2 estão localizados nas superfícies celulares (figura à esquerda), onde podem reconhecer diretamente lipoproteínas triacil bacterianas (figura central). As superfícies convexas de seus domínios extracelulares possuem sítios de ligação para cadeias lipídicas laterais de lipopeptídeos triacil. Na estrutura cristal (figura à direita), o ligante é um lipídeo sintético que pode ativar dímeros TLR-1:TLR-2. Ele possui três cadeias de ácidos graxos ligados a um polipeptídeo principal. Duas cadeias de ácidos graxos ligam-se a um bolso na superfície convexa do ectodomínio TLR-2, e a terceira cadeia se associa a um canal hidrofóbico na superfície convexa de ligação de TLR-1, induzindo a dimerização de duas subunidades de TLR e aproximando seus domínios TIR citoplasmáticos para iniciar a sinalização. (Estrutura cortesia de Jie-Oh Lee.)



Escherichia coli, embora um ligante bacteriano para TLR-11 ainda não tenha sido identificado. O TLR-11 pode ser ativado pela proteína profilina ligada à actina dos mamíferos. O parasito protozoário *Toxoplasma gondii* expressa uma proteína similar à profilina, e camundongos com ausência de TLR-11 desenvolvem dano tecidual mais grave na infecção com *Toxoplasma*, sugerindo que a proteína do *Toxoplasma* pode ser um ligante natural para TLR-11.

Nem todos os TLRs dos mamíferos são receptores de superfície celular. Os TLRs que reconhecem ácidos nucleicos estão localizados nas membranas dos endossomos, para onde são transportados via retículo endoplasmático. O TLR-3 é expresso por macrófagos, células epiteliais intestinais, células dendríticas e células NK. Ele reconhece o RNA de fita dupla (dsRNA, do inglês *double-stranded RNA*), que é um replicador intermediário de muitos tipos de vírus, não apenas para os com genomas de RNA. O dsRNA é internalizado pela endocitose direta de vírus com genoma de RNA de fita dupla, como o rotavírus, ou pela fagocitose de células que estão morrendo nas quais o vírus está se replicando, e encontra os TLRs quando a vesícula endocítica internaliza ou o fagossomo se funde com o endossoma contendo TLR. Análises cristalográficas mostram que o TLR-3 se liga diretamente ao dsRNA. O ectodomínio de TLR-3 (o domínio de ligação do ligante) possui dois sítios de contato para dsRNA: um na porção aminoterminal e outro próximo da porção carboxiterminal da membrana proximal. A simetria dupla do dsRNA permite que ele se ligue simultaneamente a dois ectodômios de TLR-3, induzindo a dimerização que junta seus domínios TIR e ativa a sinalização intracelular. Mutações no ectodomínio do TLR-3 humano, o qual produz perda de função que age predominantemente no receptor mutado, têm sido associadas à encefalite causada por falha no controle do herpes-vírus simples.

TLR-7 e TLR-9, assim como TLR-3, são sensores nucleotídicos endossômicos envolvidos no reconhecimento dos vírus. Eles são encontrados em pDCs, células NK, células B e eosinófilos. O TLR-7 é ativado por RNA de fita simples (ssRNA, do inglês *single-stranded RNA*). O ssRNA é um componente das células de mamíferos saudáveis, mas está normalmente confinado ao núcleo e ao citoplasma e não está presente nos endossomos. Muitos genomas de vírus, por exemplo, os do flavivírus (como o vírus do oeste do Nilo) e da raiva, são ssRNA. Quando partículas extracelulares desses vírus sofrem endocitose por macrófagos ou células dendríticas, eles são descobertos no ambiente ácido de endossomos e lisossomos, expondo o genoma do ssRNA para reconhecimento pelo TLR-7. Em situações anormais, o TLR-7 pode ser ativado por ssRNA autoderivado. Normalmente, as RNases extracelulares degradam o ssRNA liberado das células apoptóticas durante a lesão tecidual. Porém, em um modelo de camundongos de lúpus nefrótico, uma condição inflamatória dos rins, observou-se que o reconhecimento TLR-7 do auto-ssRNA contribui para a doença. Contudo, ainda não está claro se autoimunidade similar nos humanos é causada por essa via.

O TLR-9 reconhece dinucleotídeos CpG não metilados. Nos genomas de mamíferos, os dinucleotídeos CpG no DNA genômico são altamente metilados na citosina pelas metiltransferases de DNA. Porém, nos genomas de bactérias e vários vírus, os dinucleotídeos CpG permanecem não metilados e representam outro PAMP.

A entrega de TLR-3, TLR-7 e TLR-9 do retículo endoplasmático para o endossoma depende de sua interação com uma proteína específica, UNC93B1, a qual é composta por 12 domínios transmembrana. Camundongos com ausência dessa proteína possuem defeitos na sinalização por esses TLRs endossômicos. Mutações humanas raras em UNC93B1 foram identificadas como causa da suscetibilidade para encefalite por herpes simples, de maneira similar à deficiência de TLR-3, mas não prejudicam a imunidade a diversos outros patógenos virais, provavelmente devido à existência de outros sensores virais, os quais serão discutidos adiante neste capítulo.

3.6 O TLR-4 reconhece o LPS bacteriano em associação com as proteínas acessórias MD-2 e CD14 do hospedeiro

Nem todos os TLRs dos mamíferos ligam-se a seus ligantes de maneira tão direta. O TLR-4 é expresso por diversos tipos de células do sistema imune, incluindo células

dendríticas e macrófagos. Ele é importante para sentir e responder a diversas infecções bacterianas. O TLR-4 reconhece o LPS bacteriano por um mecanismo que é parcialmente direto e parcialmente indireto. O LPS é um componente da parede de células de bactérias gram-negativas, como *Salmonella*, que há muito se sabe que induz reação no hospedeiro infectado. A injeção sistêmica de LPS causa colapso dos sistemas circulatório e respiratório, condição conhecida como **choque**. Esses efeitos drásticos do LPS são conhecidos nos humanos como **choque séptico**, o qual resulta de uma infecção bacteriana sistêmica descontrolada, ou **seps**. Nesse caso, o LPS induz supersecreção de citocinas, principalmente TNF- α (ver Seção 3.16). Camundongos mutantes com ausência da função de TLR-4 são resistentes ao choque séptico induzido por LPS, mas são altamente sensíveis a patógenos transportando LPS, como *Salmonella typhimurium*, um patógeno natural de camundongos. Na verdade, TLR-4 foi identificado como o receptor para LPS por clonagem posicional de seu gene de uma cepa de camundongo C3H/HeJ resistente ao LPS, o qual abriga uma mutação naturalmente ocorrida na cauda citoplasmática de TLR-4 que interfere na habilidade de o receptor sinalizar. Quando o choque séptico for discutido de maneira mais detalhada adiante neste capítulo, será possível ver que essa é uma consequência indesejada das mesmas ações efetoras de TNF- α que são importantes na contenção de infecções locais.

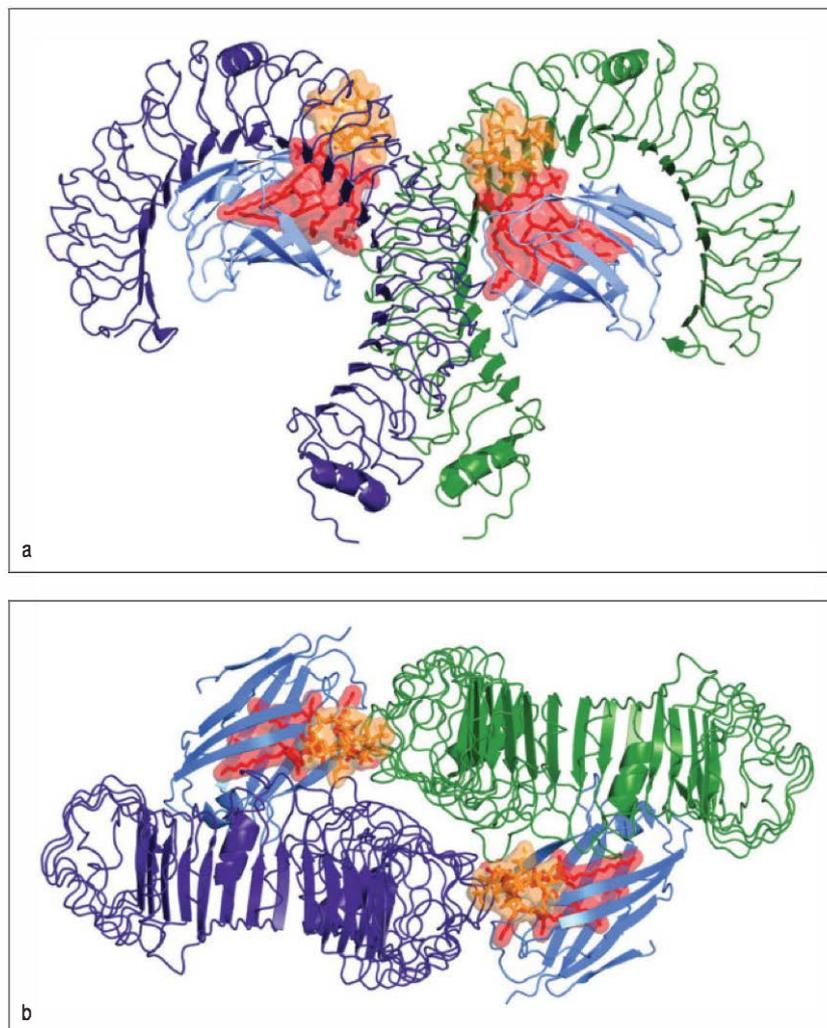
O LPS varia em composição entre diferentes bactérias, mas é composto essencialmente por núcleo polissacarídico anexado a um lipídeo anfipático, lipídeo A, com número variável de cadeias de ácidos graxos por molécula (ver Fig. 2.7). Para reconhecer o LPS, o ectodomínio de TLR-4 utiliza uma proteína acessória, **MD-2**. A MD-2 inicialmente se liga ao TLR-4 dentro da célula e é necessária para o tráfego correto de TLR-4 para a superfície celular e para o reconhecimento do LPS. MD-2 associa-se à parte central do ectodomínio curvado de TLR-4, deslocando-se para um dos lados como mostrado na Figura 3.12. Quando o complexo TLR-4-MD-2 encontra o LPS, cinco cadeias lipídicas de LPS ligam-se a uma bolsa profunda hidrofóbica de MD-2, mas não diretamente ao TLR-4, enquanto uma sexta cadeia continua exposta na superfície de MD-2. Essa cadeia lipídica e partes da espinha dorsal do LPS polissacarídico ligam-se diretamente a uma região na superfície convexa do ectodomínio de uma segunda molécula de TLR-4. Assim, a dimerização de TLR-4 necessária para ativar a sinalização intracelular depende de interações diretas e indiretas com o LPS.

A ativação de TLR-4 pelo LPS envolve duas outras proteínas acessórias além de MD-2. O LPS é um componente integral da membrana externa de bactérias gram-negativas, porém, durante uma infecção, pode se separar da membrana e ser capturado pela **proteína ligadora de LPS** presente no sangue e no líquido extracelular dos tecidos. O LPS é transferido da proteína ligadora de LPS para uma segunda proteína, **CD14**, a qual está presente na superfície de macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. CD14, por si só, pode atuar como receptor fagocítico, mas em macrófagos e células dendríticas pode atuar, ainda, como proteína acessória para TLR-4.

3.7 Os TLRs ativam os fatores de transcrição NF κ B, AP-1 e IRF para induzir a expressão de citocinas inflamatórias e IFNs tipo I

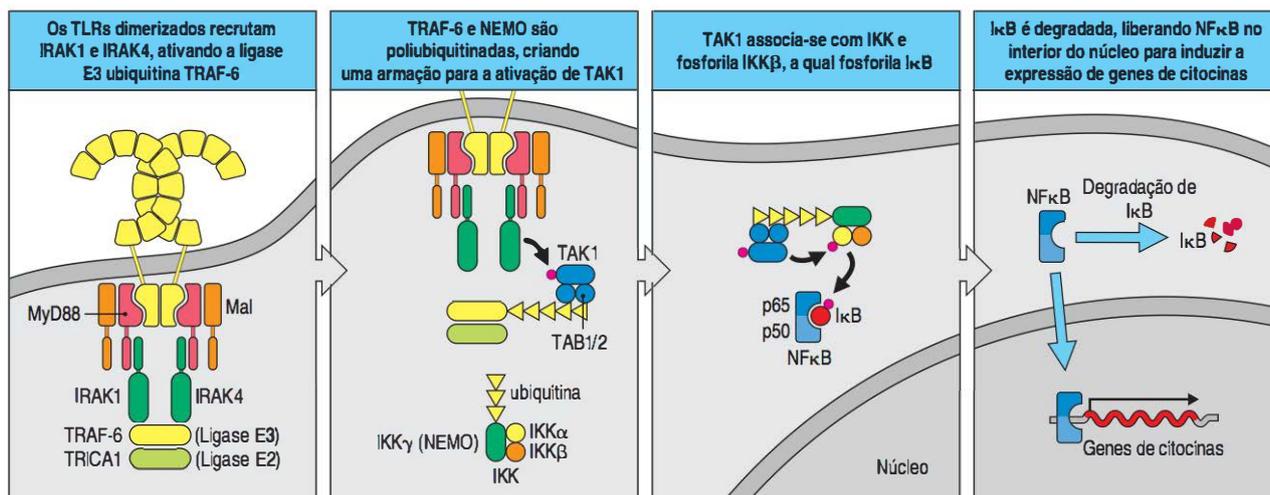
A sinalização pelos TLRs de mamíferos em vários tipos celulares induz uma gama diversa de respostas intracelulares que, juntas, resultam na produção de citocinas inflamatórias, fatores quimiotáticos, peptídeos antimicrobianos e citocinas antivirais **interferon (IFN)- α** e **IFN- β** , que são **IFNs tipo I**. Essa produção é possível pois a sinalização de TLR é capaz de ativar diversas vias de sinalização diferentes em que cada uma ativa diferentes fatores de transcrição. Uma via ativa os fatores de transcrição **NF κ B** (Fig. 3.13), os quais estão relacionados ao DIF, o fator ativado pelo Toll de *Drosophila*. Os TLRs de mamíferos ainda ativam diversos membros da família do fator de transcrição **fator regulador de interferon (IRF**, do inglês *interferon regulatory factor*) por uma segunda via, e ativam membros da família da proteína ativadora 1 (**AP-1**, do inglês *activator protein 1*), como c-Jun, por outra via de sinalização envolvendo **proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs**, do inglês

Figura 3.12 O receptor semelhante ao Toll (TLR)-4 reconhece o lipopolissacarídeo (LPS) juntamente com a proteína acessória MD-2. Figura a: vista lateral do complexo simétrico de TLR-4, MD-2 e LPS. As espinhas dorsais de polipeptídeos de TLR-4 são mostradas em verde e azul-escuro. A estrutura contém toda a região extracelular de TLR-4, composta pela região de repetição rica em leucina (LRR) (mostrado em verde e azul-escuro), mas não possui o domínio de sinalização intracelular. A proteína MD-2 é mostrada em azul-claro. Cinco das cadeias acil de LPS (mostrado em vermelho) estão inseridas em um bolso hidrofóbico dentro de MD-2. O restante do glicano de LPS e uma cadeia lipídica (em laranja) fazem contato com a superfície convexa de um TLR-4. Figura b: a vista superior da estrutura mostra que uma molécula de LPS faz contato com uma subunidade de TLR-4 em sua superfície convexa (externa), enquanto se liga a uma molécula de MD-2 que está anexa a outra subunidade TLR-4. A proteína MD-2 desloca-se para um lado da região de LRR de TLR-4. (Estrutura cortesia de Jie-Oh Lee.)



mitogen-activated protein kinases). NF κ B e AP-1 atuam primariamente na indução da expressão de citocinas pró-inflamatórias e fatores quimiotáticos, enquanto os fatores IRF são particularmente importantes para a indução de IFNs antivirais tipo I. Descreve-se aqui como a sinalização de TLR induz a produção de citocinas e IFNs; adiante, neste capítulo, será discutido como essas proteínas exercem seus efeitos.

A sinalização de TLR é ativada pela dimerização induzida pelo ligante de dois ectodômios de TLR, os quais aproximam seus domínios TIR citoplasmáticos, permitindo que eles interajam com os domínios TIR das moléculas adaptadoras citoplasmáticas que iniciam a sinalização intracelular. Existem quatro adaptadores utilizados pelos TLRs de mamíferos: MyD88 (do inglês *myeloid differentiation factor 88* [fator de diferenciação mieloide 88]), MAL (do inglês *MyD88 adaptor-like* [adaptador semelhante a MyD88]), TRIF (do inglês *TIR domain-containing adaptor-inducing IFN- β* [domínio TIR contendo IFN- β induzido por adaptador]) e TRAM (do inglês *TRIF-related adaptor molecule* [molécula adaptadora relacionada a TRIF]). É significativo o fato de diferentes TLRs interagirem com diferentes combinações desses adaptadores. TLR-5, TLR-7 e TLR-9 interagem apenas com MyD88, o qual é necessário para a sinalização. TLR-3 interage apenas com TRIF, o qual é também necessário para a sinalização. Outros TLRs utilizam MyD88 pareado com MAL ou utilizam TRIF pareado com TRAM. A sinalização pelos heterodímeros de TLR-2 (TLR-2/1 e TLR-2/6) requer MyD88/MAL. A sinalização de TLR-4 utiliza os pares de adaptadores MyD88/MAL e TRIF/TRAM. É importante notar que a escolha do adaptador influencia quais sinais serão ativados pelo TLR. Primeiramente, será considerada a via de sinalização desencadeada pelos



TLRs que utiliza MyD88 e, então, a via de sinalização estimulada pelos ácidos nucleicos virais que levam à produção de IFN.

Dois domínios de proteínas de MyD88 são responsáveis por sua função como adaptador: um domínio TIR na porção carboxiterminal e um **domínio de morte** na porção aminoterminal. Os domínios de morte formam heterodímeros com domínios de morte similares em outras proteínas de sinalização intracelular, e será possível encontrá-los adiante em outras vias de sinalização. Eles são assim denominados pois foram primeiramente identificados em proteínas de sinalização envolvidas na apoptose ou morte celular programada. O domínio TIR e o domínio de morte são essenciais para a função de MyD88, como demonstrado por raras mutações no MyD88 em humanos. Mutações em qualquer um dos domínios estão associadas com imunodeficiência caracterizada por infecções bacterianas recorrentes. O domínio TIR MyD88 interage com o domínio TIR do TLR, enquanto o domínio de morte recruta e ativa duas proteínas quinases serinas treoninas – **IRAK4** (do inglês *IL-1 receptor associated kinase 4* [receptor de IL-1 associado à quinase 4]) e **IRAK1** – via seus domínios de morte. O complexo IRAK recruta TRAF-6, uma ubiquitina ligase E3. A ligase E2 TRICA1, agindo em cooperação com TRAF-6, gera então uma varredura de cadeias de poliubiquitina em TRAF-6 e na proteína NEMO que recruta e ativa a quinase serina treonina TAK1.

A TAK1 possui duas funções importantes. Ela ativa certas MAPKs, como a quinase terminal c-Jun (JNK) e MAPK14 (p38 MAPK), as quais ativam os fatores de transcrição da família AP-1. TAK1 também fosforila e ativa o complexo de **quinase IκB (IKK, do inglês *IκB kinase*)**, o qual é composto por três proteínas: IKKα, IKKβ e IKKγ (conhecido ainda como proteína **NEMO, do inglês *NFκB essential modifier*** [modificador essencial NFκB]). O IKK ativado fosforila IκB, que então libera NFκB. Este move-se para o interior do núcleo, onde induz a transcrição dos genes para citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α, IL-1β e IL-6. As ações dessas citocinas na resposta imune inata estão descritas na segunda metade deste capítulo. O desfecho da ativação de TLR depende, ainda, do tipo celular. A ativação de TLR-4 via MyD88 em células epiteliais especializadas, como as células de Paneth do intestino (ver Seção 2.4), resulta na produção de peptídeos antimicrobianos, um exemplo mamífero da antiga função das proteínas semelhantes ao Toll.

A habilidade de os TLRs ativarem NFκB é crucial para o papel de alertar o sistema imune para a presença de patógenos bacterianos. Raros exemplos de mutações inativas na IRAK4 nos humanos causam uma imunodeficiência, a **deficiência IRAK4**, que se assemelha à deficiência MyD88 que é caracterizada por infecções bacterianas recorrentes. Mutações na NEMO de humanos produzem uma síndrome conhecida como **displasia ectodérmica hipo-hidrótica ligada ao X com imunodeficiência** ou **deficiência NEMO**, a qual é caracterizada por imunodeficiência e defeitos de desenvolvimento.

Figura 3.13 A sinalização do receptor semelhante ao Toll (TLR) pode ativar o fator de transcrição NFκB, o qual induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias. Primeira figura: os TLRs sinalizam via domínios TIR citoplasmáticos, os quais são aproximados pela dimerização de seus ectodomínios pelo ligante. Alguns TLRs que utilizam a proteína adaptadora MyD88 utilizam o par MyD88/MAL. O domínio de morte MyD88 recruta as quinases serinas treoninas IRAK1 e IRAK4, em associação com a ligase E3 ubiquitina TRAF-6. IRAK sofre autoativação e fosforila TRAF-6, ativando sua atividade de ligase E3. Segunda figura: TRAF-6 coopera com uma ligase E2, TRICA1, para ubiquitinar a própria TRAF-6 e NEMO, um componente do complexo IKK, criando armações de poliubiquitinas nessas proteínas. Essas armações de poliubiquitinas são construídas pela ligação de ubiquitina pela sua lisina 63 (K63) e não sinalizam para a degradação de proteína no proteossoma (ver Seção 7.5). Proteínas adaptadoras TAB-1 e TAB-2, que formam um complexo com TAK1, ligam-se à armação de ubiquitina na TRAF-6, permitindo que TAK1 seja fosforilado por IRAK. Terceira figura: TAK1 pode, então, associar-se com a armação de ubiquitina em NEMO, permitindo que TAK1 fosforile IKKβ, que é ativada e fosforila IκB. Quarta figura: IκB fosforilado é marcado pela ubiquitinação (não mostrado) para sofrer degradação, liberando NFκB, o qual é composto por duas subunidades, p50 e p65. NFκB entra no núcleo e ativa a transcrição de muitos genes, incluindo os que codificam citocinas inflamatórias. TAK1 também estimula a ativação das proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAPKs) JNK e p38, que fosforilam e ativam os fatores de transcrição AP-1 (não mostrado).

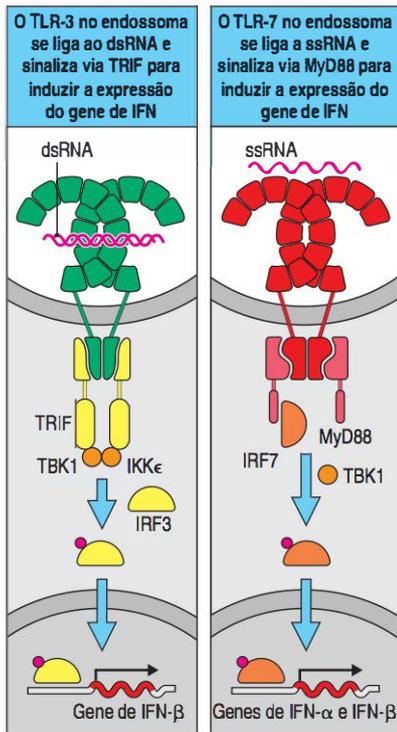


Figura 3.14 A expressão de interferon (IFN) antiviral em resposta a ácidos nucleicos virais pode ser estimulada por duas vias distintas de diferentes receptores semelhantes ao Toll (TLRs). Figura à esquerda: TLR-3 sente os vírus de RNA de fita dupla (dsRNA) e sinaliza pela via independente de MyD88 que utiliza a proteína adaptadora estruturalmente semelhante TRIF. Via seu domínio de morte, TRIF ativa as quinases serinas treoninas IκKε (IKKε) e TBK1. Pelo envolvimento de TRAF3 e TRAF6 (não mostrado), ocorre a fosforilação do fator de transcrição IRF3, o qual entra no núcleo e induz a expressão do gene de IFN-β. Figura à direita: TLR-7 detecta RNA de fita simples (ssRNA) e sinaliza via MyD88 para fosforilar e ativar o fator de transcrição IRF7. Este entra no núcleo e liga a expressão de genes de IFN-β e IFN-α.

Os ácidos nucleicos sentem a sinalização de TLRs – TLR-7, TLR-8 e TLR-9 –, unicamente por MyD88 para ativar os fatores de transcrição IRF que induzem a produção dos IFNs antivirais tipo I (Fig. 3.14). Na ausência de infecção, os IRFs são mantidos no citoplasma em um formato inativo e apenas se tornam transcricionalmente ativos após serem fosforilados nos resíduos de serina e treonina localizados em suas porções carboxiterminais. Dos nove membros da família IRF, IRF3 e IRF7 são particularmente importantes na sinalização de TLR. MyD88 pode interagir, novamente por meio de seu domínio de morte, diretamente com IRF7 no compartimento endossômico. Dessa maneira, os TLRs endossômicos – TLR-7 e TLR-9 – podem ativar IRF7, resultando na produção de IFN-α e IFN-β por células como as células dendríticas plasmocitoides. Além disso, o TLR-3, que reconhece o RNA de fita dupla, pode ativar uma via de sinalização independente de MyD88 pelo recrutamento da proteína adaptadora TRIF. A TRIF, ao contrário de MyD88, liga-se e ativa as quinases IκKε e TBK1. Estas, por sua vez, fosforilam IRF3, que induz a expressão de IFN-β. TLR-4 pode, ainda, ativar essa via pela ligação de TRIF em vez de MyD88.

A habilidade coletiva de os TLRs ativarem IRFs e NFκB significa que eles podem estimular respostas antivirais ou antibacterianas quando necessário. Na deficiência de IRAK4 em humanos, por exemplo, nenhuma suscetibilidade extra para infecções virais foi observada. Isso poderia sugerir que a ativação de IRF não está prejudicada e a produção de IFNs antivirais não está afetada. Os TLRs são expressos por diferentes tipos celulares envolvidos na imunidade inata e por algumas células epiteliais, e a resposta gerada por eles se diferenciará em alguns aspectos, dependendo do tipo celular que está sendo ativado.

3.8 Os receptores semelhantes ao NOD atuam como sensores intracelulares de infecção bacteriana

Todos os TLRs estão localizados nas superfícies celulares ou nas vesículas intracelulares das membranas, e sentem a presença de patógenos extracelulares. Outra grande família de receptores que utiliza os domínios de varredura LRR para detectar produtos patogênicos está localizada no citoplasma. Eles são os **receptores semelhantes ao NOD** (NLRs, do inglês *NOD-like receptors*), os quais contêm um domínio de oligomerização de nucleotídeo-ligante (NOD, do inglês *nucleotide-binding oligomerization domain*) centralmente localizado e um domínio LRR próximo à porção carboxiterminal. Os NLRs são sensores intracelulares para produtos microbianos e ativam NFκB para iniciar as mesmas respostas inflamatórias que os TLRs. Os NLRs são considerados uma família muito antiga de receptores da imunidade inata pois as proteínas de resistência (R) que fazem parte das defesas de plantas contra patógenos são homólogos NLR.

Subfamílias de NLRs podem ser distinguidas na base dos domínios de proteínas encontrados próximos às porções aminoterminais. A subfamília NOD possui uma porção aminoterminal **domínio de recrutamento de caspases** (CARD, do inglês *caspase recruitment domain*) (Fig. 3.15), inicialmente reconhecida por seu papel em mediar interações com a família de proteases denominadas **caspases** (proteases ácidas cisteína-aspártica), as quais são importantes em diversas vias intracelulares, incluindo as que levam à morte celular por apoptose. CARD está relacionado ao domínio de morte em MyD88 e pode dimerizar com os domínios CARD em outras proteínas. As proteínas NOD reconhecem fragmentos dos peptídeoglicanos da parede celular bacteriana, embora não se saiba se isso ocorre por ligação direta ou por proteínas acessórias. **NOD1** sente o **ácido diaminopimélico γ-glutamil** (iE-DAP), um produto de separação de peptídeoglicanos de bactérias gram-negativas como *Salmonella* e *Listeria*, as quais entram no citoplasma celular, enquanto **NOD2** reconhece o **dipeptídeo muramila**, o qual está presente nos peptídeoglicanos da maioria das bactérias.

Quando NOD1 ou NOD2 reconhecem seus ligantes, eles recrutam a quinase serina treonina contendo CARD **RIPK2** (conhecida ainda como RICK e RIP2). RIPK2 ativa a quinase TAK1, a qual ativa NFκB via ativação de IKK, como mostrado na Figura 3.13. NFκB induz, então, a expressão de genes para citocinas inflamatórias. Mantendo seu papel como sensores para componentes bacterianos, as proteínas NOD são expressas em

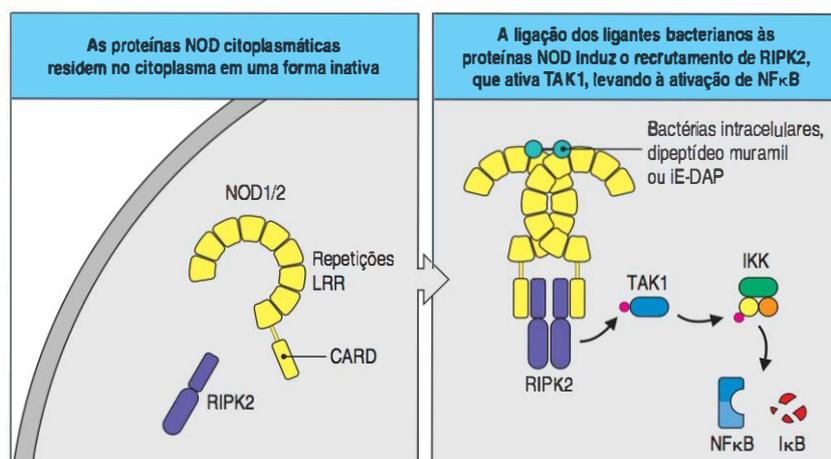


Figura 3.15 Proteínas NOD intracelulares sentem a presença de bactérias, reconhecendo peptídeos bacterianos e ativando NFκB a induzir a expressão de genes pró-inflamatórios. A degradação dos peptídeos da parede celular bacteriana produz dipeptídeo muramyl, que é reconhecido por NOD2, que atua como sensor intracelular geral da presença bacteriana. NOD1 reconhece o ácido diaminopimélico γ -glutamil (iE-DAP), um produto de destruição das paredes celulares de bactérias gram-negativas. A presença desses ligantes induz o recrutamento e a ativação da quinase serina treonina RIPK2, a qual fosforila a quinase TAK1. Isso leva à ativação de NFκB pela via mostrada na Figura 3.13.

células que são expostas, rotineiramente, a bactérias. Essas células incluem células epiteliais que formam a barreira que a bactéria deve cruzar para estabelecer uma infecção no organismo, e macrófagos e células dendríticas que ingerem bactérias que cruzaram a barreira. Os macrófagos e as células dendríticas expressam TLRs, bem como NOD1 e NOD2, e são ativados por ambas as vias. Nas células epiteliais, contudo, os TLRs são expressos fracamente ou não são expressos, e NOD1 é um ativador importante da resposta imune inata nessas células. NOD2 parece possuir um papel mais especializado, sendo fortemente expresso nas células de Paneth do intestino, onde regula a expressão de peptídeos antimicrobianos potentes, como as α e β -defensinas (ver Cap. 2).

Consistente com isso, a perda de função por mutações em NOD2 em humanos está associada a uma condição inflamatória do intestino denominada **doença de Crohn** (discutida no Cap. 15). Alguns pacientes com essa condição carregam mutações no domínio LRR de NOD2 que prejudicam sua habilidade de sentir o dipeptídeo muramyl e ativar NFκB. Acredita-se que isso diminua a produção de defensinas e outros peptídeos antimicrobianos, enfraquecendo, assim, a função natural da barreira do epitélio intestinal e levando à inflamação característica dessa doença. Mutações com ganho de função em NOD2 humano produzem uma desordem inflamatória chamada de **síndrome de Blau**, a qual é caracterizada pela inflamação espontânea nas articulações, nos olhos e na pele. A ativação de mutações nos domínios NOD parece promover a cascata de sinalização na ausência de ligante, levando a uma resposta inflamatória inapropriada na ausência de patógenos.

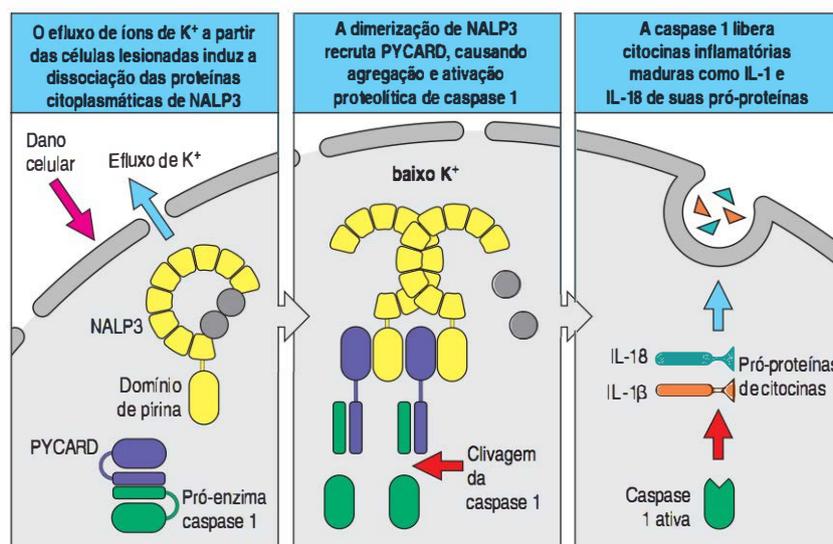
Outra grande subfamília de proteínas NLR possui um domínio de **pirina** na sua porção aminoterminal e é conhecida como família NLRP (Fig. 3.16). Os domínios de pirina estão estruturalmente relacionados a CARD e a domínios de morte, e interagem com outros domínios de pirina. Os humanos possuem 14 proteínas NLR que contêm domínios de pirina. A melhor caracterizada é a **NALP3** (ainda denominada **NLRP3** ou **criopirina**), a qual é um importante sensor de dano ou estresse celular. Em células estressadas, como as expostas à infecção, ela associa-se a uma proteína adaptadora e à caspase 1 protease para formar um complexo denominado **inflamassoma**. A caspase 1 é necessária para o processo proteolítico de algumas citocinas pró-inflamatórias, o qual é necessário antes que possam ser expressas. Em células saudáveis, o domínio LRR de NALP3 está ligado a proteínas acessórias que mantêm NALP3 em estado monomérico inativo. Uma ampla variedade de estímulos celulares ativa NALP3, e acredita-se que o estimulador comum seja o efluxo de íons K^+ citoplasmáticos que ocorre em células estressadas. A consequente baixa concentração de K^+ intracelular causa a dissociação das proteínas acessórias de NALP3. O inflamassoma fornece um quadro estrutural no qual a caspase 1 se torna enzimaticamente ativa após a clivagem autocatalítica dependente de ATP da pró-caspase. As proteínas NALP1 e NALP2 relacionadas formam inflamassomas similarmente.

Outro membro da família de domínio de pirina, **AIM2** (ausente no melanoma 2) substituiu o domínio LRR de NALP3 com um domínio **HIN** (inversão H), nomeado



Filme 3.4

Figura 3.16 As proteínas NALP sentem a lesão celular e ativam o processamento de citocinas pró-inflamatórias. Sob condições fisiológicas normais, o domínio LRR de NALP3 associa-se a proteínas citoplasmáticas, as quais se presume que previnam a dimerização de NALP3 via região LRR. Quando as células são lesadas ou colocadas sob estresse, acredita-se que o efluxo característico de íons de K^+ desencadeie a dissociação dessas proteínas de NALP3, permitindo sua dimerização (segunda figura). Os domínios de pirina de NALP3 recrutam complexos da proteína adaptadora PYCARD associada à pró-enzima caspase 1 por meio de seus domínios CARD (C). A agregação das pró-enzimas leva estas a passarem por autoativação via clivagem proteolítica para formar caspases ativas. A caspase 1 ativa cliva as formas de pró-proteínas de citocinas pró-inflamatórias para liberar as citocinas maduras, que podem ser, então, secretadas.



para a recombinase HIN de DNA da *Salmonella* que medeia a inversão de DNA entre os antígenos H flagelares. Em AIM2, o domínio HIN reconhece o genoma de DNA de fita dupla e engatilha a ativação de caspase 1 por meio do domínio de pirina AIM2. O AIM2 é importante para as respostas celulares *in vitro* para o vírus da vaccínia e seu papel *in vivo* tem sido demonstrado pela suscetibilidade aumentada de camundongos deficientes de AIM2 para a infecção por *Francisella tularensis*, o agente causador de tularemia.

Ainda não está claro se NALP3 ou outros NLRPs funcionam como receptores para produtos microbianos específicos. O inflamassoma, contudo, tem sido envolvido em ações de diversos químicos indutores de inflamação e em algumas doenças inflamatórias. Por exemplo, os efeitos estimuladores do adjuvante imunológico (ver Seção 3.10) hidróxido de alumínio (alum) depende de NALP3 e da via do inflamassoma. Sabe-se, há muitos anos, que a doença da **gota** é causada por cristais de urato monossódico depositados nos tecidos cartilaginosos das articulações, causando a inflamação. Porém, como os cristais de urato causam a inflamação era um mistério. Embora o mecanismo preciso ainda não esteja claro, hoje se sabe que os cristais de urato ativam o inflamassoma NALP3 e que isso induz as citocinas inflamatórias que causam os sintomas da gota. Mutações no domínio NOD de NALP2 e NALP3 podem ativar inflamassomas inapropriadamente e constituem a causa de algumas **doenças autoinflamatórias** hereditárias, nas quais a inflamação ocorre na ausência de infecção. Mutações em NALP3 em humanos estão associadas às síndromes de febre periódica hereditárias **síndrome autoinflamatória familiar fria** e **síndrome de Muckle-Wells** (discutidas em mais detalhes no Cap. 13). Os macrófagos de pacientes com essas condições mostram produção espontânea de citocinas inflamatórias como IL-1 β como resultado da ativação da via NF κ B.

3.9 As helicases semelhantes a RIG-I detectam RNAs virais citoplasmáticos e estimulam a produção de IFN

TLR-3, TLR-7 e TLR-9 podem detectar RNAs e DNAs virais, porém, eles interagem principalmente com o material extracelular entrando na via endocítica em vez de interagir com os ácidos nucleicos presentes no citoplasma das células infectadas por vírus como resultado da replicação viral. Os RNAs virais citoplasmáticos são percebidos por proteínas denominadas **helicases semelhantes a RIG-I** (RLHs, do inglês *RIG-I-like helicases*), as quais possuem um domínio de RNA semelhante à helicase que se liga aos RNAs virais, e dois domínios aminoterminais CARD que interagem com proteínas adaptadoras e ativam a sinalização quando os RNAs virais são ligados. O primeiro desses sensores a ser descoberto foi **RIG-I** (do inglês *retinoic*

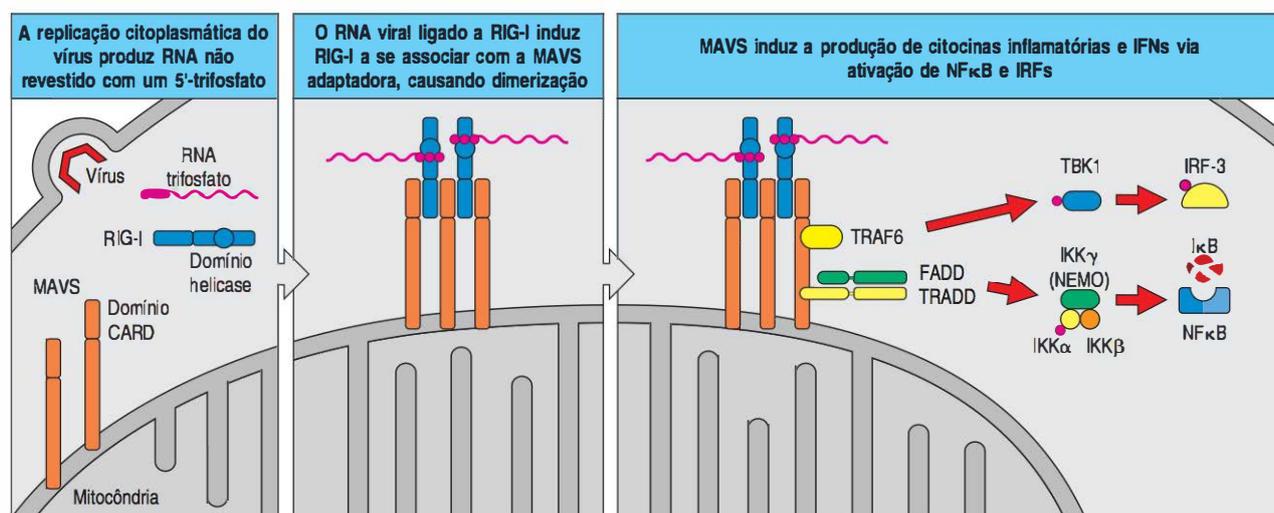
acid-inducible gene 1 [**gene 1 induzido por ácido retinoico**]). RIG-I é amplamente expresso através de tecidos e tipos celulares e serve como sensor intracelular para diversos tipos de infecções. Camundongos deficientes de RIG-I são altamente suscetíveis a infecção por diversos tipos de vírus de ssRNA, incluindo paramixovírus, ortomixovírus e flavivírus, mas não picornavírus.

Inicialmente, acreditava-se que RIG-I reconhecesse dsRNA longo, porém, mais tarde, estudos mostraram que ele reconhece diferenças específicas entre transcrições de ssRNA virais e eucarióticas, embora pareça ainda capaz de perceber a presença de dsRNAs de finais curtos. Quando o RNA eucariótico é primeiramente transcrito no núcleo, ele contém um grupo 5'-trifosfato em seu nucleotídeo inicial que sofre modificação enzimática. Por exemplo, mRNAs sofrem tamponamento pela adição de uma 7-metilguanossina ao 5'-trifosfato. A maioria dos vírus de RNA, contudo, não se replicam no núcleo e seus transcritos não passam por essa modificação. Estudos bioquímicos determinaram que RIG-I percebe o final do ssRNA 5'-trifosfato não modificado. Os transcritos de RNA do flavivírus possuem o 5'-trifosfato não modificado, assim como os transcritos de vários outros vírus de ssRNA, o que explica por que eles são detectados por RIG-I. Em contrapartida, os picornavírus, que incluem poliovírus e hepatite A, replicam-se por um mecanismo que envolve o anexo covalente de uma proteína viral para a extremidade 5' do RNA viral, de modo que o 5'-trifosfato está ausente, o que explica por que RIG-I não está envolvido em percebê-los.

O MDA-5 (do inglês *melanoma differentiation-associated 5* [melanoma associado à diferenciação 5]), ainda denominado *helicard*, é similar ao RIG-I em estrutura, porém, ele percebe dsRNA. Ao contrário de camundongos deficientes de RIG-I, camundongos deficientes de MDA-5 estão suscetíveis aos picornavírus, indicando que esses dois sensores de RNAs virais possuem papéis essenciais, porém, distintos, na defesa do hospedeiro. Mutações que inativam os alelos de RIG-I ou MDA-5 em humanos têm sido relatadas, porém, essas mutações não estão associadas à imunodeficiência. Estudos de associação do genoma associaram, contudo, mutações previstas a inativar o MDA-5 humano com diminuição do risco de desenvolvimento do diabetes tipo I, doença causada pela destruição imune das células β produtoras de insulina do pâncreas. A razão para essa associação ainda permanece incerta.

A percepção dos RNAs virais por RIG-I e MDA-5 induz a produção de IFNs tipo I, apropriados para a defesa contra infecção viral. Quando RIG-I ou MDA-5 detectam um ligante de RNA viral no citosol, seu domínio CARD interage com a proteína adaptadora contendo CARD denominada MAVS que é anexada à membrana mitocondrial externa (Fig. 3.17). A associação de RIG-I ou MDA-5 com MAVS ativa uma via de sinalização que envolve TRAF6 e que ativa TBK1 (ver Fig. 3.14). Isso leva à ativação de IRF3 e induz a produção de IFN-β e IFN-α. A ativação de RIG-I e MDA-5

Figura 3.17 RIG-I e MDA-5 são sensores citoplasmáticos de RNA viral. Primeira figura: antes de detectar RNA viral, RIG-I e MDA-5 são citoplasmáticos, e a proteína adaptadora MAVS é anexada à membrana mitocondrial externa. Segunda figura: a detecção de RNA 5'-trifosfato descoberto por RIG-I ou dsRNA viral por MDA-5 leva seus domínios CARD a interagirem com o domínio CARD aminoterminal de MAVS, o que induz a dimerização de MAVS. Terceira figura: uma região rica em prolina de MAVS é envolvida em interações com TRAFs, enquanto a região mais carboxiterminal de MAVS interage com um complexo de TRADD e FADD (proteínas adaptadoras contendo domínios de morte). A via TRAF6 ativa IRF3 e IRF7 (não mostrado) induzindo a transcrição de um número de genes, principalmente os que codificam IFN-α e IFN-β. FADD leva à ativação de IKK e NFκB como mostrado na Figura 3.13, levando à expressão de citocinas pró-inflamatórias.



pode, ainda, induzir a produção de citocinas por uma via de sinalização que envolve a proteína adaptadora FADD, a qual também contém um domínio de morte. Nesse caso, um complexo de FADD e outras proteínas ativam as caspases 8 e 10, o que leva à ativação de IKK e NF κ B, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (ver Fig. 3.17).

3.10 A ativação de TLRs e NLRs inicia mudanças na expressão gênica em macrófagos e células dendríticas que possuem grandes efeitos na resposta imune

As citocinas e quimiocinas produzidas por macrófagos e células dendríticas como resultado da ativação de NF κ B pelas vias de TLR e NOD incluem não apenas mediadores importantes da imunidade inata, mas alguns, como IL-12, que influenciam a resposta imune adaptativa subsequente, como será visto adiante neste capítulo. Outro resultado da via de NF κ B importante para a imunidade adaptativa é o aparecimento de **moléculas coestimuladoras** em células dendríticas teciduais e macrófagos. Essas proteínas de superfície celular, denominadas **B7.1 (CD80)** e **B7.2 (CD86)**, são expressas por macrófagos e células dendríticas teciduais em resposta à ativação por sensores de patógenos como os TLRs (Fig. 3.18) e são essenciais para a indução de respostas imunes adaptativas. As moléculas coestimuladoras, junto com peptídeos microbianos antigênicos exibidos pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) na superfície de células dendríticas, ativam células T CD4 virgens, as quais auxiliam a iniciar a maioria das respostas imunes adaptativas (ver Seção 1.19). A citocina TNF- α , também produzida como resultado da sinalização de TLR-4, possui diversas funções na imunidade inata, mas, além disso, ela estimula as células dendríticas apresentadoras de antígeno a migrarem para o sistema linfático e entrarem próximo aos linfonodos, por meio dos quais as células T CD4 virgens circulantes se deslocam. Assim, a ativação da imunidade adaptativa depende de moléculas induzidas como consequência do reconhecimento imune inato dos patógenos.

Substâncias, como LPS, que induzem atividade coestimuladora têm sido utilizadas por anos em misturas que são coinjectadas com antígenos proteicos para aumentar a imunogenicidade. Essas substâncias são conhecidas como **adjuvantes** (ver Apêndice I, Seção A.4), e descobriu-se empiricamente que os melhores adjuvantes continham componentes microbianos. Uma variedade de componentes microbianos (ver Fig. 3.9) pode induzir os macrófagos e as células dendríticas dos tecidos a expressarem moléculas coestimuladoras e citocinas. O repertório exato de citocinas produzidas por macrófagos ou células dendríticas varia de acordo com os receptores estimulados e, como será visto nos Capítulos 9 e 11, as citocinas secretadas influenciarão o caráter funcional da resposta imune adaptativa que é desenvolvida. Dessa forma, a habilidade de o sistema imune inato discriminar entre diferentes tipos de patógenos é utilizada para garantir um tipo apropriado de resposta imune adaptativa.

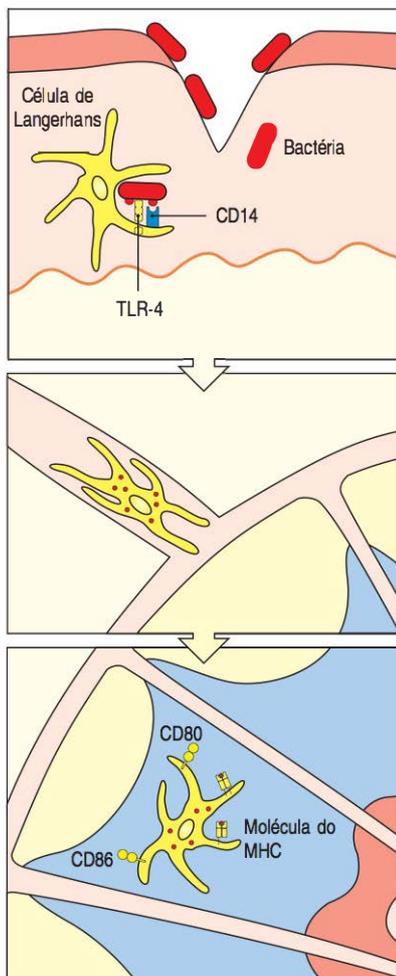


Figura 3.18 O lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano induz mudanças nas células de Langerhans, estimulando-as a migrar e iniciar a imunidade adaptativa contra a infecção pela ativação das células T CD4. As células de Langerhans são células dendríticas imaturas localizadas na pele que ingerem micróbios e seus produtos, destruindo-os. No caso de uma infecção bacteriana, elas são ativadas pelo LPS por meio da via de sinalização dos receptores semelhantes ao Toll (TLRs). Isso induz dois tipos de mudanças nas células de Langerhans. O primeiro tipo é a mudança no comportamento e na localização. As células de Langerhans ativas tornam-se células migradoras e entram no sistema linfático que drena os tecidos. As células migradoras são levadas para os linfonodos regionais, onde se tornam células dendríticas maduras. O segundo tipo de mudança é a drástica alteração nas suas moléculas de superfície. As células de Langerhans em repouso da epiderme são altamente fagocíticas e macropinocíticas, mas não possuem a capacidade de ativar linfócitos T. As células dendríticas maduras dos linfonodos perdem a capacidade de capturar antígeno, mas se tornam capazes de estimular células T. Isso ocorre devido ao aumento dos níveis da expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) na superfície e da expressão de moléculas coestimuladoras CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2).

3.11 A sinalização de TLR compartilha muitos componentes com a sinalização de Toll na *Drosophila*

Antes de finalizar o tópico sobre reconhecimento de patógenos pelo sistema imune inato, deve-se ver rapidamente como o Toll, os TLRs e os NODs são utilizados na imunidade inata dos invertebrados. Embora seja central para a defesa contra patógenos bacterianos e fúngicos na *Drosophila*, o Toll, por si só, não é um receptor de reconhecimento do padrão. Ao contrário, ele depende de diversas famílias de proteínas detectoras de patógenos para a ativação. Uma delas compreende as **proteínas de reconhecimento de peptidoglicanos (PGRPs, do inglês peptidoglycan-recognition proteins)**. A *Drosophila* possui 13 genes de PGRP, codificando proteínas que ligam os componentes de peptidoglicanos das paredes celulares bacterianas (ver Fig. 2.7). Outra família de sensores patogênicos compreendem as **proteínas de ligação gram-negativas (GNBPs, do inglês Gram-negative binding proteins)**, as quais reconhecem β -1-3-glicanos e estão envolvidas no reconhecimento de fungos e, o que é um tanto inesperado, bactérias gram-positivas. Os membros da família GNBPs e PGRP-SA cooperam no reconhecimento de peptidoglicanos de bactéria gram-positiva. Eles interagem com uma serina protease denominada Grass, a qual inicia uma cascata proteolítica que termina na clivagem da proteína Spätzle. Um dos fragmentos clivados forma um homodímero, o qual induz a dimerização e a ativação do Toll para induzir a resposta antimicrobiana (Fig. 3.19). Uma proteína de reconhecimento fungo-específica, GNBPs, ativa, ainda, a cascata proteolítica, causando a clivagem de Spätzle e a ativação do Toll.

Na *Drosophila*, as células de gordura do organismo e os hemócitos são células fagocíticas que atuam como parte do sistema imune das moscas. Quando o Toll dessas células se liga ao dímero Spätzle, as células respondem sintetizando e secretando peptídeos antimicrobianos. A via de sinalização do Toll é muito similar à via de NF κ B nos vertebrados (ver Fig. 3.14). Isso resulta na ativação de um fator de transcrição denominado DIF, o qual é relacionado ao NF κ B dos mamíferos. DIF entra no núcleo e induz a transcrição de genes para peptídeos antimicrobianos como a drosomicina.

O DIF e o NF κ B dos mamíferos são membros da família Rel dos fatores de transcrição, chamados assim devido ao fator de transcrição Relish da *Drosophila*. O Relish, por si só, induz a produção de peptídeos antimicrobianos em resposta a uma via de sinalização diferente, a **via de Imd (imunodeficiência)**. Essa via é utilizada pela *Drosophila* no reconhecimento de bactérias gram-negativas, e é engatilhada por PGRPs particulares. O Relish induz a expressão dos peptídeos antimicrobianos diptericina, atacina e cecropina, que são distintos dos peptídeos induzidos pela sinalização do Toll. Assim, as vias de Toll e Imd ativam mecanismos efetores para eliminar a infecção por diferentes tipos de patógenos. Quatro homólogos de PGRP de mamíferos foram identificados, mas eles não possuem a mesma função que na *Drosophila*, embora possuam função na imunidade inata. Um deles, o PGLYRP-2, é secretado e atua como amidase para hidrolisar os peptidoglicanos bacterianos. Os outros homólogos estão presentes nos grânulos de neutrófilos e exercem ação bacteriostática por meio de interações com o peptidoglicano da parede celular bacteriana.

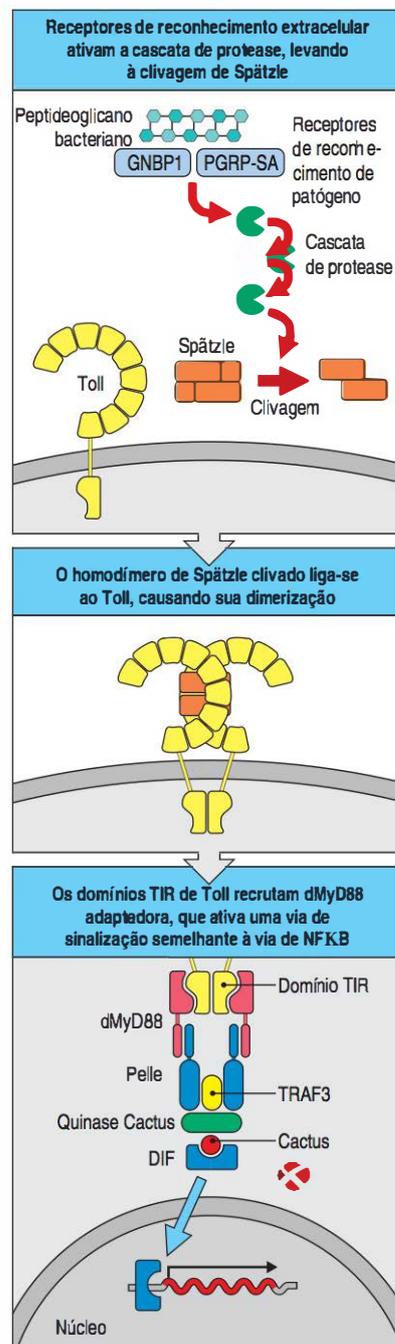


Figura 3.19 O Toll da *Drosophila* é ativado como resultado de uma cascata proteolítica iniciada pelo reconhecimento do patógeno. A proteína de reconhecimento do peptidoglicano PGRP-SA e a bactéria gram-negativa ligada à proteína GNBPs cooperam no reconhecimento dos patógenos bacterianos, ativando a primeira protease em uma cascata de protease que leva à clivagem da proteína de *Drosophila* Spätzle (primeira figura). A clivagem altera a conformação de Spätzle, permitindo que esta se ligue ao Toll e induza a dimerização de Toll (segunda figura). Os domínios TIR citoplasmáticos de Toll recrutam a proteína adaptadora dMyD88 (terceira figura), que inicia uma via de sinalização muito similar à que leva à liberação de NF κ B de seu inibidor citoplasmático em mamíferos. A versão para *Drosophila* do NF κ B é o fator de transcrição DIF, que entra, então, no núcleo e ativa a transcrição de genes que codificam peptídeos antimicrobianos. O reconhecimento fúngico também leva à clivagem de Spätzle e à produção de peptídeos antimicrobianos por essa via, embora as proteínas de reconhecimento para fungos ainda não estejam identificadas.

3.12 Os genes de TLR e NOD passam por extensa diversificação nos invertebrados e em alguns cordados primitivos

Os TLRs dos mamíferos são uma família de cerca de 12 receptores que interagem diretamente com os ligantes derivados de patógenos. Alguns organismos, contudo, diversificaram seu repertório de receptores de reconhecimento inatos, sobretudo os que contêm domínios LRR, para um nível muito maior. O ouriço-do-mar *Strongylocentrotus purpuratus* possui 222 genes *TLR* sem precedentes, mais de 200 genes do receptor semelhante ao NOD e mais de 200 genes de receptores de varredura em seu genoma. O ouriço-do-mar possui, ainda, um número aumentado de proteínas que estão, provavelmente, envolvidas na sinalização a partir desses receptores, com quatro genes similares ao *MyD88* dos mamíferos. Apesar dessa diversificação de receptores inatos, não existe aumento aparente no número de alvos a jusante, como a família dos fatores de transcrição NFκB, sugerindo que o resultado final da sinalização de TLR no ouriço-do-mar será muito similar ao resultado em outros organismos. Os genes de TLR do ouriço-do-mar dividem-se em duas grandes categorias: um pequeno grupo de 11 genes divergentes e uma ampla família de 211 genes, os quais apresentam alto grau de variação sequencial dentro de regiões de TRR particulares. Juntamente com o grande número de pseudogenes nesta família, isso implica rápida volta evolutiva, sugerindo especificidades de receptores rapidamente mutáveis, o que contrasta com os poucos TLRs de mamíferos estáveis. Embora a especificidade do patógeno dos TLRs do ouriço-do-mar seja desconhecida, a hipervariabilidade nos domínios LRR poderia ser utilizada para gerar um sistema de reconhecimento do patógeno altamente diversificado baseado nos TLRs.

Uma expansão similar dos receptores inatos ocorreu em alguns cordados, o filo ao qual pertencem os vertebrados. O anfioxo (o lancelete) é um cordado invertebrado com ausência de sistema imune adaptativo. O genoma do anfioxo contém 71 TLRs, mais de 100 receptores semelhantes ao NOD e mais de 200 receptores de varredura. E como será visto adiante, uma linhagem primitiva de vertebrados – peixe agnatha, com ausência de imunidade adaptativa baseada em imunoglobulina e célula T – utiliza um rearranjo gênico somático de proteínas contendo LRR para fornecer uma versão de imunidade adaptativa (ver Seção 5.21).

Resumo

Células do sistema imune inato expressam diversos sistemas de receptores para o reconhecimento de micróbios, os quais induzem defesas rápidas e respostas celulares mais tardias. Neutrófilos, macrófagos e células dendríticas podem rapidamente eliminar os micróbios por fagocitose pelo uso de diversos receptores semelhantes à lectina e receptores de varredura. Receptores de sinalização, como o receptor acoplado à proteína G para C5a (que envolve a habilidade de reconhecimento do patógeno do sistema do complemento) e para o peptídeo bacteriano fMLP, sinergizam com receptores fagocíticos, ativando NADPH oxidase nos fagossomos para gerar oxigênio reativo antimicrobiano intermediário. Outros receptores que detectam patógenos induzem vias de sinalização que desencadeiam resposta inflamatória geral, induzindo inflamação local, recrutando novas células efetoras, contendo infecção local e, finalmente, desencadeando resposta imune adaptativa. Os receptores semelhantes ao Toll (TLRs) têm sido altamente conservados ao longo da evolução e ativam as defesas do hospedeiro por meio de diversas vias de sinalização. A via NFκB desses receptores opera na maioria dos organismos multicelulares e induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF-α, IL-1β e IL-6. Uma via de sinalização alternativa de alguns TLRs ativa os fatores de transcrição IRF que induzem a expressão de citocinas antivirais. Os TLRs na superfície celular e nas membranas dos endossomos percebem a presença de patógenos no exterior da célula, porém, muitas células possuem ainda receptores intracelulares que detectam patógenos no citosol. As proteínas NOD detectam produtos bacterianos no interior do citosol, ativando NFκB e a produção de citocinas pró-inflamatórias. As proteínas NALP fazem parte do inflamassoma, o qual está envolvido na detecção de

estresse e dano celular geral. O inflamassoma ativa caspases, permitindo o processamento e secreção de citocinas pró-inflamatórias. As proteínas citosólicas RIG-I e MDA-5 detectam a infecção viral por perceber a presença de RNAs virais, levando à indução de interferons antivirais tipo I. As vias de sinalização ativadas por esses sensores primários dos patógenos induzem uma variedade de genes, incluindo os genes para citocinas, quimiocinas e moléculas coestimuladoras, que possuem papéis essenciais na defesa imediata e no direcionamento do curso da resposta imune adaptativa mais tardia na infecção.

Respostas inatas induzidas para infecção

Nesta parte do capítulo, serão vistas as respostas de macrófagos e células dendríticas ao estímulo via receptores sensíveis ao patógeno como os TLRs, e as consequências para a resposta imune inata. Um resultado imediato e importante de tal estímulo é a produção e secreção de citocinas e quimiocinas por macrófagos e células dendríticas que auxiliam a induzir e manter a inflamação. As quimiocinas constituem uma grande família de proteínas quimioatraentes com papel central na migração de leucócitos, e as quimiocinas secretadas pelos macrófagos ativados atraem neutrófilos e outras células do sistema imune para o local da infecção. Moléculas de adesão em leucócitos e células endoteliais dos vasos sanguíneos possuem papel igualmente importante na movimentação celular para fora do sangue e para o tecido infectado. Serão considerados brevemente os diferentes tipos de moléculas de adesão envolvidos. Então, será considerado de maneira mais detalhada como as quimiocinas e citocinas derivadas de macrófagos promovem a destruição contínua dos micróbios infectantes. Isso é alcançado pela indução de outra fase da resposta imune inata, a resposta de fase aguda, na qual o fígado produz proteínas que atuam como moléculas opsonizantes, auxiliando no aumento das ações do complemento. Serão vistos, ainda, o mecanismo de ação dos IFNs antivirais e uma classe de células linfoides conhecidas como células NK, que são ativadas pelo IFN para contribuir com a defesa imune inata contra vírus e outros patógenos intracelulares. Também serão considerados os linfócitos semelhantes ao inato (ILLs, do inglês *innate-like lymphocytes*), os quais contribuem para a resposta rápida à infecção por agir precocemente, mas utilizam um grupo limitado de segmentos gênicos receptores de antígeno (ver Seção 1.12) para produzir imunoglobulinas e receptores de célula T (TCRs, do inglês *T-cell receptors*) de diversidade limitada.

A resposta imune induzida pode obter sucesso na eliminação da infecção ou irá contê-la enquanto uma resposta adaptativa se desenvolve. Se a infecção não for eliminada, a resposta adaptativa aproveitará muitos dos mesmos mecanismos efetores utilizados pelo sistema imune inato, como a fagocitose mediada pelo complemento, porém irá mirá-los com muito mais precisão. As células T antígeno-específicas ativam as propriedades microbicidas e secretoras de citocinas dos macrófagos, enquanto os anticorpos ativam o complemento, atuam como opsoninas diretas para fagócitos e estimulam células NK a matar células infectadas. Portanto, os mecanismos efetores aqui descritos servem como manual para o foco na imunidade adaptativa no restante do livro.

3.13 Macrófagos e células dendríticas ativados pelos patógenos secretam uma variedade de citocinas que possuem diversos efeitos locais e distantes

Citocinas (ver Apêndice III) são pequenas proteínas (cerca de 25 kDa) que são liberadas por diversas células no organismo, geralmente em resposta a um estímulo ativador, e que induzem respostas por ligação a receptores específicos. Elas podem atuar de forma **autócrina**, afetando o comportamento da célula que libera a citocina, de forma **parácrina**, afetando o comportamento de células adjacentes, e algu-