

Células B e suas Respostas aos Antígenos

OBJETIVOS DIDÁTICOS

- p0145 *Depois de ler este capítulo, você deve ser capaz de:*
- u0135 • Descrever brevemente as origens e história de vida das células B. u0170
 - u0140 • Descrever a estrutura de um receptor de antígeno da célula B (BCR). u0175
 - u0145 • Explicar como os BCRs são secretados nos fluidos corporais na forma de imunoglobulinas ou anticorpos. u0180
 - u0150 • Compreender como a resposta ótima de uma célula B normalmente requer estimulação adicional pelas células T auxiliares. u0185
 - u0155 • Descrever como as células T auxiliares estimulam as células B através de uma sinapse imunológica. u0190
 - u0160 • Explicar como as células B também requerem coestimulação pelas citocinas. u0195
 - u0165 • Compreender como células B respondedoras podem se tornar células de memória ou plasmócitos secretadores de anticorpos. u0200
 - Identificar plasmócitos por suas características morfológicas. u0170
 - Explicar como a mutação somática dentro dos centros germinativos resulta no aumento progressivo da afinidade do anticorpo. u0175
 - Explicar como células B também podem atuar como células apresentadoras de antígeno. u0180
 - Descrever como plasmócitos cancerosos (células de mieloma) produzem grande quantidade de imunoglobulina muito pura. u0185
 - Listar os sinais necessários para a ativação da célula B. u0190
 - Definir cadeia leve, cadeia pesada, região hipervariável, centro germinativo, mieloma, mutação somática, seleção por afinidade, hibridomas e anticorpo monoclonal. u0195
 - Descrever como hibridomas e anticorpos monoclonais são produzidos. u0200

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

- u0010 **Receptores de antígeno da célula B, 148** u0075
- u0015 Componente Ligante de Antígeno, 148 u0080
- u0020 *Cadeias leves, 148*
- u0025 *Cadeias pesadas, 148*
- u0030 *Regiões Variáveis, 148*
- u0035 *Regiões Constantes, 149*
- u0040 *Região da Dobradiça, 149*
- u0045 Componente de Transdução de Sinal, 149
- u0050 **Apresentação de antígeno pelas células B, 150**
- u0055 **Coestimulação das células B, 150**
- u0060 Ajuda da Célula T, 150
- u0065 *Secreção de Citocinas, 151*
- u0070 *Sinalização Célula-Célula, 151*
- Ajuda do Complemento, 151 u0075
- Ajuda dos Receptores do Tipo Toll e PAMPs, 151 u0080
- Respostas da célula B, 151** u0085
- Sinalização Diferencial, 152 u0090
- Respostas celulares, 154** u0095
- Plasmócitos, 154** u0100
- Células B de memória, 154** u0105
- Centros germinativos, 156** u0110
- Subpopulações de Célula B, 157 u0115
- Mielomas, 157** u0120
- Gamopatias Policlonais, 159 u0125
- Hibridomas, 159** u0130

- p0220 A divisão do sistema imune adaptativo em dois componentes principais deriva da necessidade de reconhecimento de dois grupos diferentes de invasores. Alguns invasores entram no corpo e crescem nos fluidos extracelulares. Esses invasores “exógenos” são destruídos pelos anticorpos. Outros invasores crescem dentro das células, onde os anticorpos não alcançam. Eles são destruídos pelas respostas mediadas por células T. Anticorpos são produzidos pelos linfócitos chamados de células B. Este capítulo descreve as células B e suas respostas aos antígenos. p0225
- As células B são encontradas no córtex dos linfonodos, na zona marginal do baço, na medula óssea, ao longo do intestino e nas placas de Peyer. Poucas células B circulam no sangue. Assim como as células T, as células B possuem uma grande quantidade de receptores ligantes de antígeno diferentes na sua superfície. Cada célula B só liga e responde a um único antígeno. Receptores de antígeno são gerados aleatoriamente durante o desenvolvimento da célula B no processo descrito no Capítulo 17. Se uma célula B encontra um antígeno que se

liga a seus receptores, ela vai, com a coestimulação apropriada, responder secretando seus receptores nos fluidos corporais, onde eles são chamados de anticorpos.

RECEPTORES DE ANTÍGENO DA CÉLULA B

Cada célula B é recoberta por cerca de 200.000 a 500.000 receptores idênticos de antígeno (BCRs), muito mais do que os 30.000 receptores de antígeno (TCRs) expressos em cada célula T. Cada BCR é construído a partir de diversas cadeias peptídicas e, assim como o TCR, pode ser dividido em componentes ligantes de antígeno e sinalizadores. Ao contrário do TCR, no entanto, o BCR também pode ligar antígenos em solução. Anticorpos são simplesmente BCRs solúveis liberados nos fluidos corporais; todos eles pertencem a uma família de proteínas chamadas imunoglobulinas (Capítulo 14).

Componente Ligante de Antígeno

O componente ligante de antígeno do BCR (ou imunoglobulina) é uma glicoproteína de 160 a 180 kDa constituída por quatro cadeias peptídicas ligadas. Essas cadeias são formadas por dois pares idênticos: duas cadeias pesadas, cada uma de 60 kDa de tamanho; e duas cadeias leves, de cerca de 25 kDa cada (Fig. 15.1). As cadeias leves estão ligadas por pontes dissulfeto às cadeias pesadas, completando uma molécula na forma da letra Y. A cauda do Y (chamada de região Fc) é formada por cadeias pesadas e fica ligada à superfície da célula B. Os braços do Y (chamados de regiões Fab) são formados pelo pareamento das cadeias leve e pesada, e são eles que ligam os antígenos (Fig. 15.2). Os sítios ligantes de antígeno são formados pela fenda entre as cadeias leve e pesada. Assim, cada BCR possui dois sítios idênticos de ligação ao antígeno.

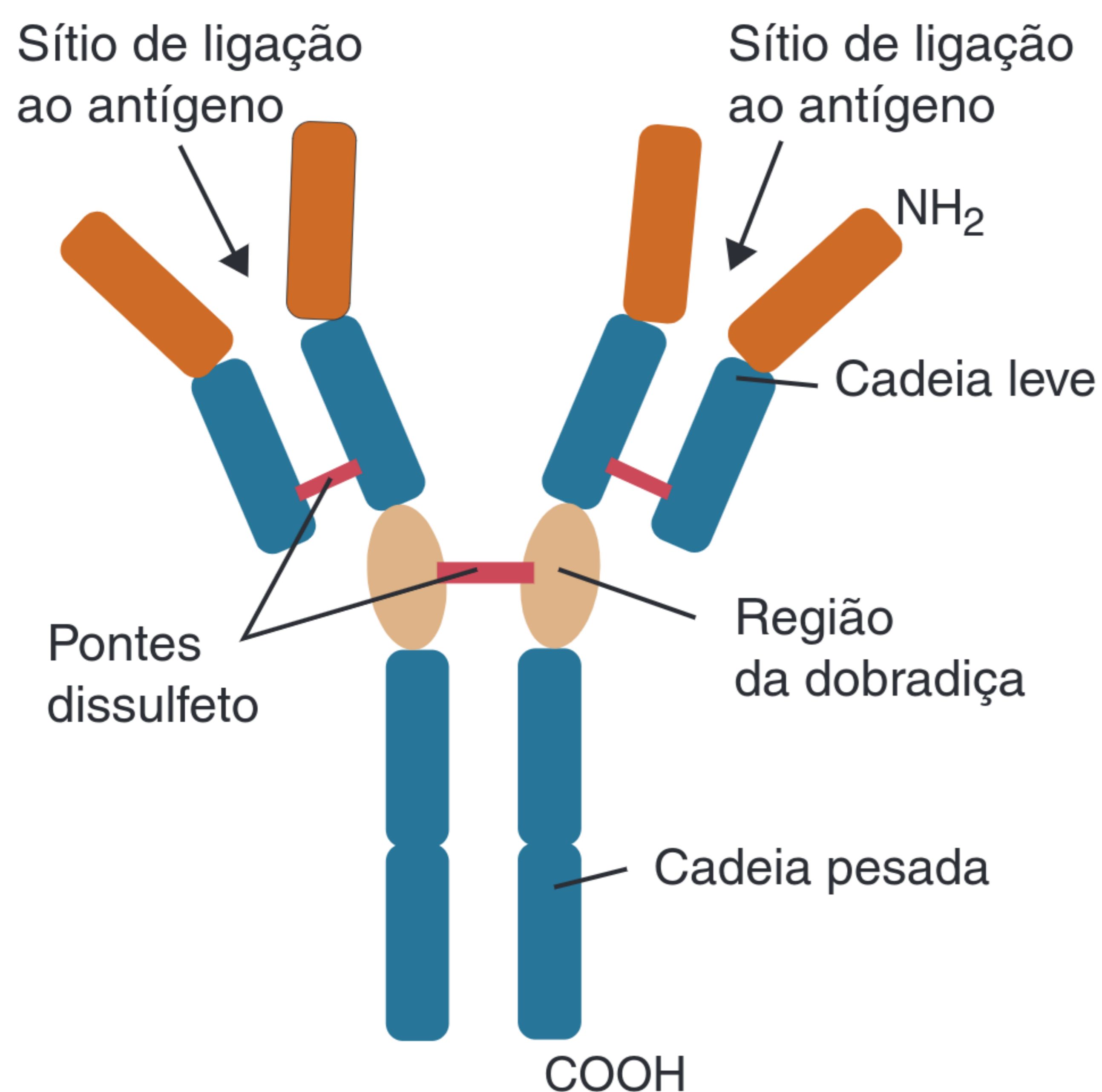


FIG. 15.1 Estrutura genérica de uma molécula de imunoglobulina. Quando expressa na superfície da célula B, essa molécula atua como receptor de antígeno (BCR). Quando liberada pela célula B e livre na circulação, atua como um anticorpo. Note que, ao contrário do TCR, ela possui dois sítios de ligação ao antígeno.

Cadeias leves

Cadeias leves são construídas a partir de dois domínios contendo cerca de 110 aminoácidos cada um. A sequência de aminoácidos no domínio C-terminal nos BCRs de diferentes células B são idênticos e se chamam domínios constantes (C_L). Por outro lado, as sequências no domínio N-terminal são diferentes entre cada célula B e, assim, formam os domínios variáveis (V_L). Os mamíferos também podem fazer dois tipos de cadeia leve, chamadas de κ (kappa) e λ (lambda). Apesar de suas sequências de aminoácidos serem diferentes, elas são funcionalmente idênticas. A razão entre as cadeias κ e λ nos BCRs varia entre os mamíferos, indo dos camundongos e ratos, que possuem mais de 95% de cadeias κ , até os bois e cavalos, que possuem mais de 95% de cadeias λ . Primatas como o macaco rhesus e o babuíno possuem 50% de cada, enquanto humanos possuem 70% de cadeias κ . Carnívoros como os gatos e os cães possuem 90% das cadeias λ .

Cadeias pesadas

As cadeias pesadas de imunoglobulina são construídas a partir de quatro ou cinco domínios de cerca de 110 aminoácidos cada um. O domínio N-terminal é o domínio variável (V_H). Os demais três ou quatro domínios apresentam pouca diferença na sequência e, por isso, são os domínios constantes (C_H).

Células B mamíferas produzem cinco classes diferentes de cadeia pesada que diferem em sequência e estrutura dos domínios. Como resultado, cada classe tem uma atividade biológica diferente. As cinco cadeias pesadas de imunoglobulina diferentes são chamadas de α , γ , δ , ϵ e μ . Essas cadeias pesadas determinam a classe (ou isotipo) da imunoglobulina. Assim, moléculas de imunoglobulina que usam a cadeia pesada α são chamadas de imunoglobulina A (IgA); aquelas que usam a cadeia γ são chamadas de IgG; cadeias μ são usadas na IgM, cadeias δ na IgD e cadeias ϵ na IgE.

Regiões Variáveis

Quando as sequências dos domínios V das cadeias leves e pesadas são examinadas em detalhes, duas características se tornam aparentes. Primeiro, a variação da sequência está confinada sobretudo em três regiões, contendo 6 a 10 aminoácidos cada uma, dentro do domínio variável (Fig. 15.3). Essas regiões se chamam hipervariáveis. Entre essas três regiões hipervariáveis existem sequências relativamente constantes chamadas de regiões de *framework*. As regiões hipervariáveis nas cadeias leves e pesadas pareadas determinam o formato do sítio de

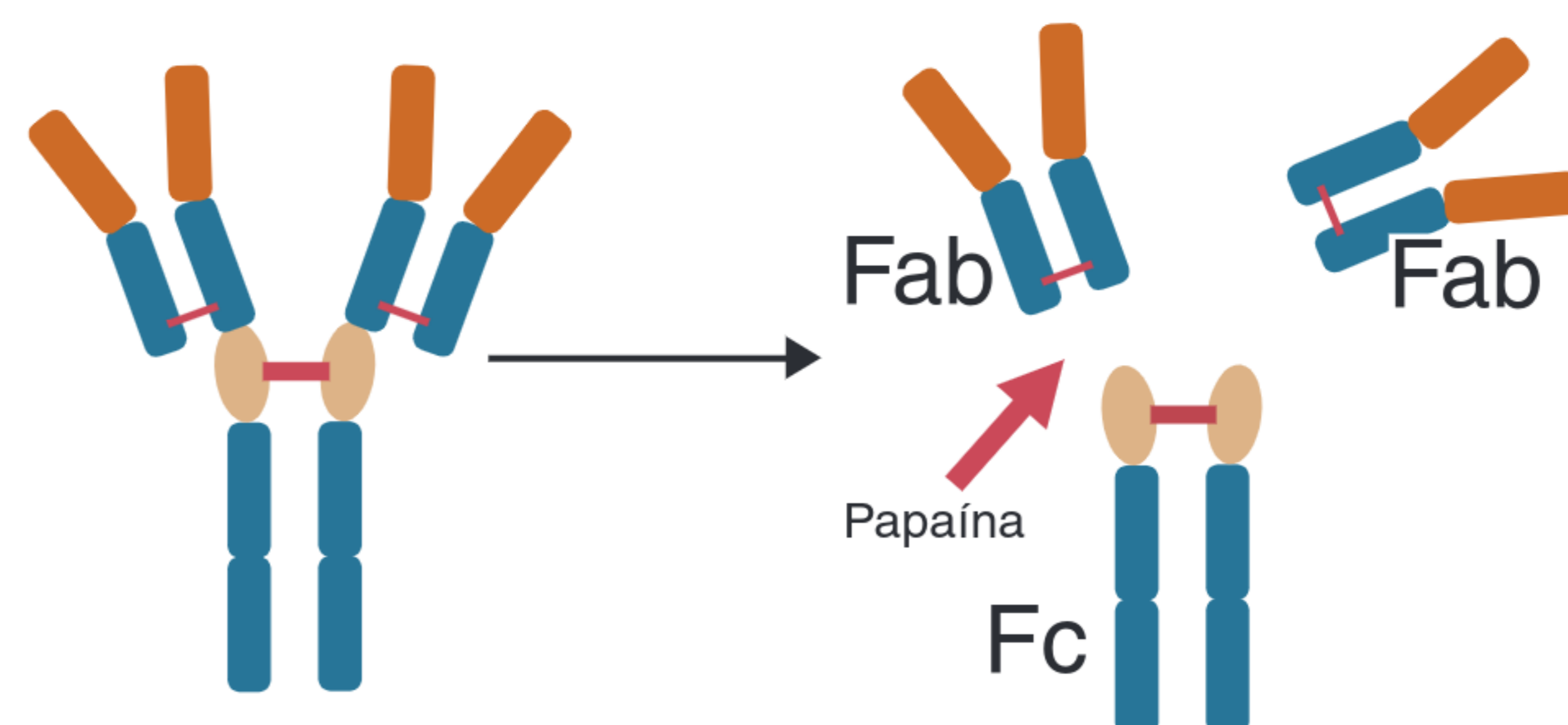


FIG. 15.2 Efeitos do tratamento de uma molécula de imunoglobulina com a enzima proteolítica papaína. Os nomes desses fragmentos denotam a nomenclatura das diferentes regiões de uma molécula de imunoglobulina. Fab, Fragmento ligante do anticorpo (*antibody binding*); Fc, fragmento *crystalizável*.

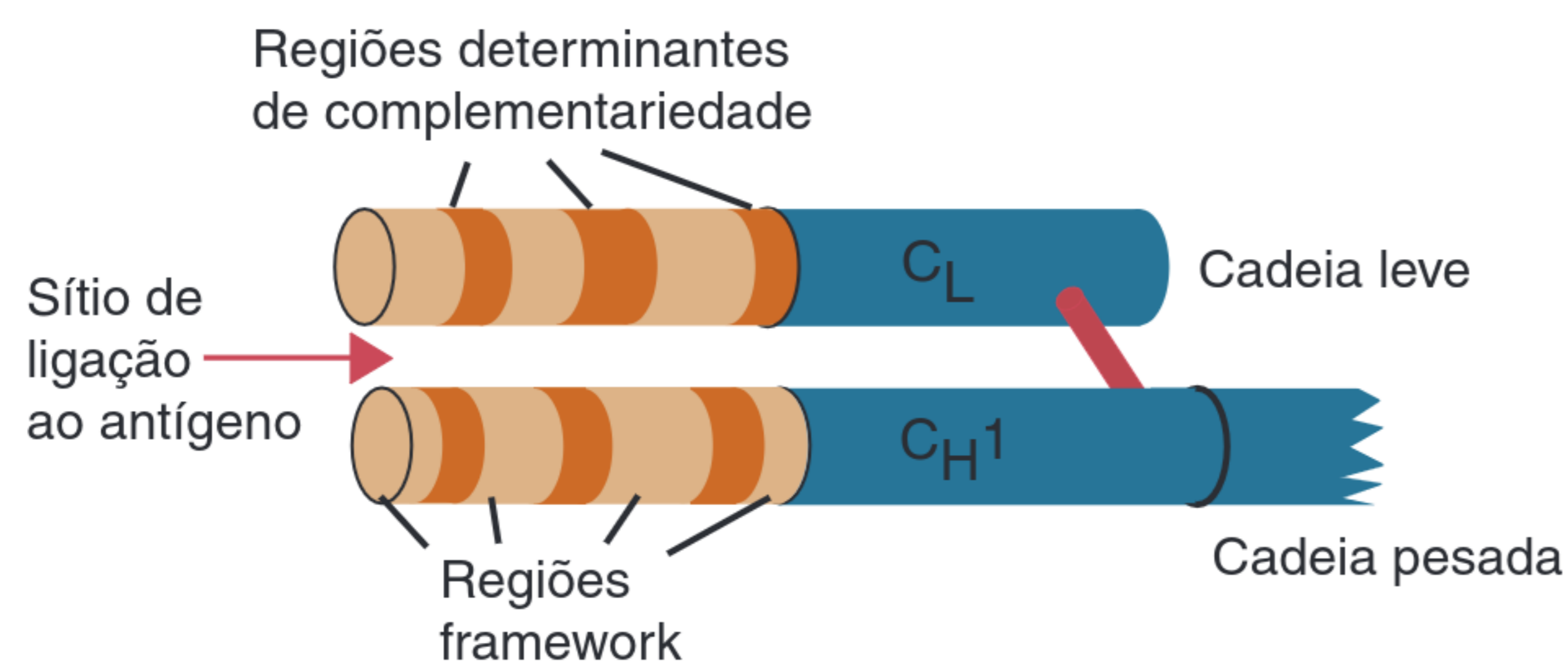


FIG. 15.3 As regiões variáveis das cadeias leve e pesada de uma molécula de imunoglobulina são divididas em três regiões determinantes de complementariedade altamente variáveis separadas por regiões *framework* relativamente constantes.

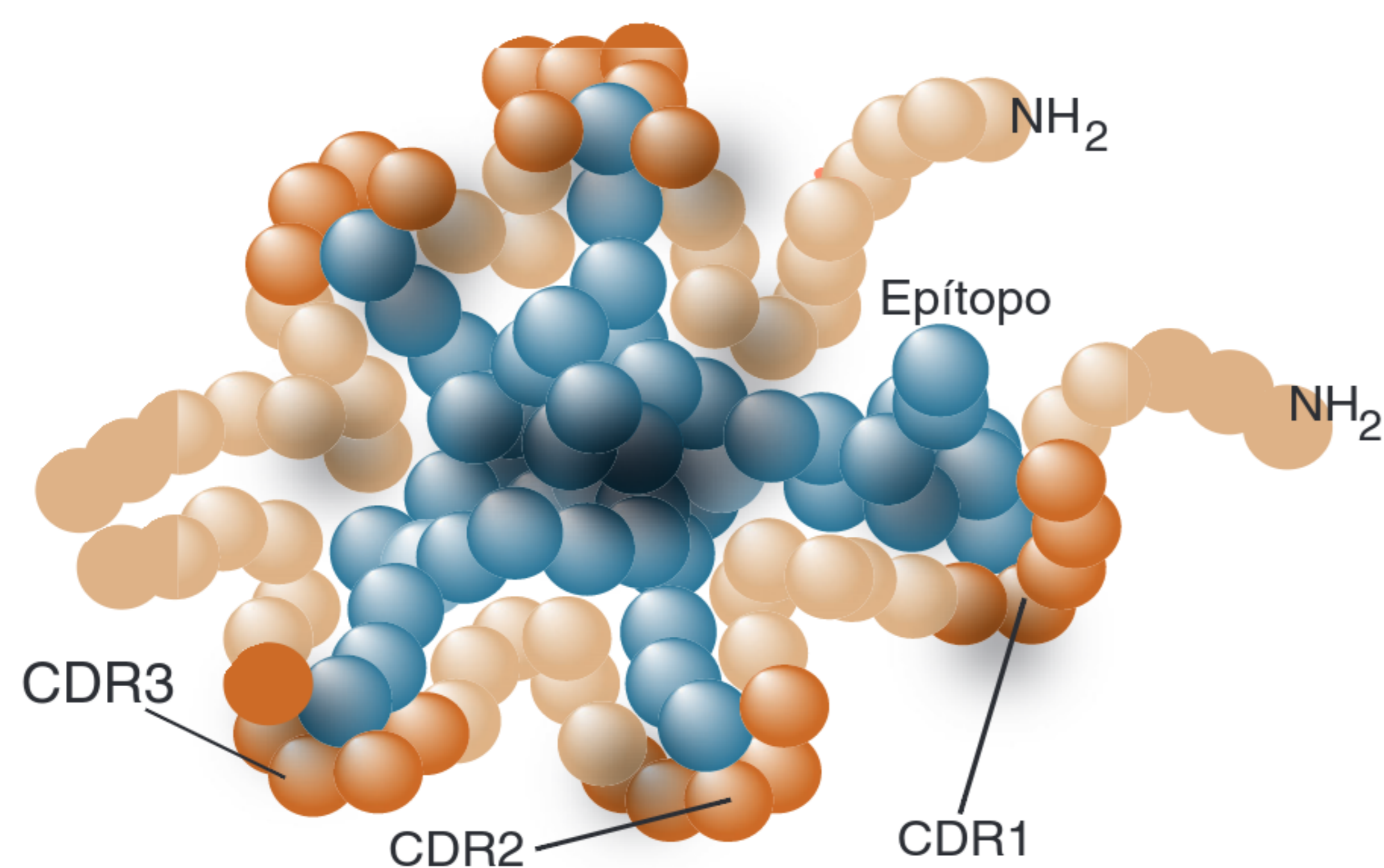


FIG. 15.4 Modo como as regiões determinantes de complementariedade se doblam para formar o sítio de ligação ao antígeno na molécula de imunoglobulina. Um dobramento semelhante ocorre nas cadeias peptídicas do TCR.

ligação ao antígeno e, assim, a especificidade da ligação ao antígeno. Uma vez que o formato do sítio de ligação ao antígeno é complementar à conformação do determinante antigênico, sequências hipervariáveis também são chamadas de regiões determinantes de complementariedade (CDRs). Cada domínio V está dobrado de maneira que as três CDRs fazem contato próximo com o antígeno (Fig. 15.4).

Regiões Constantes

O número de domínios constantes difere entre as classes de cadeia pesada da imunoglobulina. Existem três domínios constantes na cadeia pesada γ ; elas se chamam, a partir do N-terminal: C_{H1} , C_{H2} e C_{H3} . Três domínios constantes também são encontrados nas cadeias α e na maioria das cadeias δ , enquanto cadeias μ e ϵ possuem um domínio constante adicional chamado C_{H4} .

Uma vez que as cadeias pesadas são pareadas, os domínios em cada cadeia se juntam para formar estruturas que dão funções biológicas às moléculas de anticorpo. Assim, as regiões V_H e V_L juntas formam o sítio de ligação ao antígeno, enquanto C_{H1} e C_L juntas estabilizam o sítio de ligação ao antígeno. Os domínios C_{H2} pareados na IgG contêm um sítio que ativa a via clássica do complemento (Capítulo 4) e um sítio que se liga aos receptores Fc nas células fagocíticas (Fig. 15.5). A cadeia pesada também regula a transferência da IgG para o colostro (Capítulo 23) e a citotoxicidade celular mediada por anticorpo (Capítulo 18). Quando moléculas de imunoglobulina atuam como BCRs, sua região Fc está mergulhada na superfície da

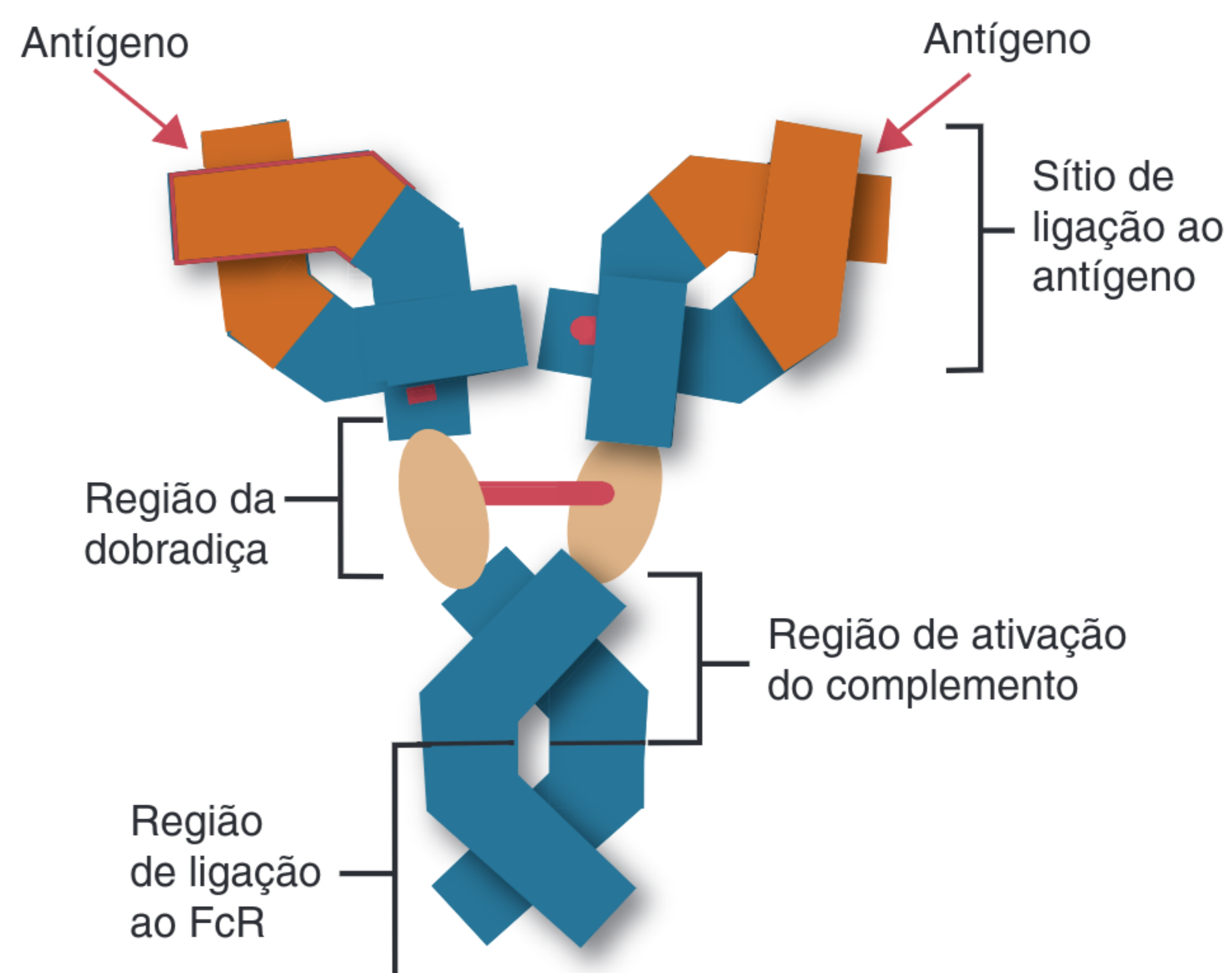


FIG. 15.5 Estrutura de uma molécula de IgG, mostrando como as cadeias leves e pesadas se doblam para formar regiões bem definidas na molécula. Cada região possui funções biológicas definidas.

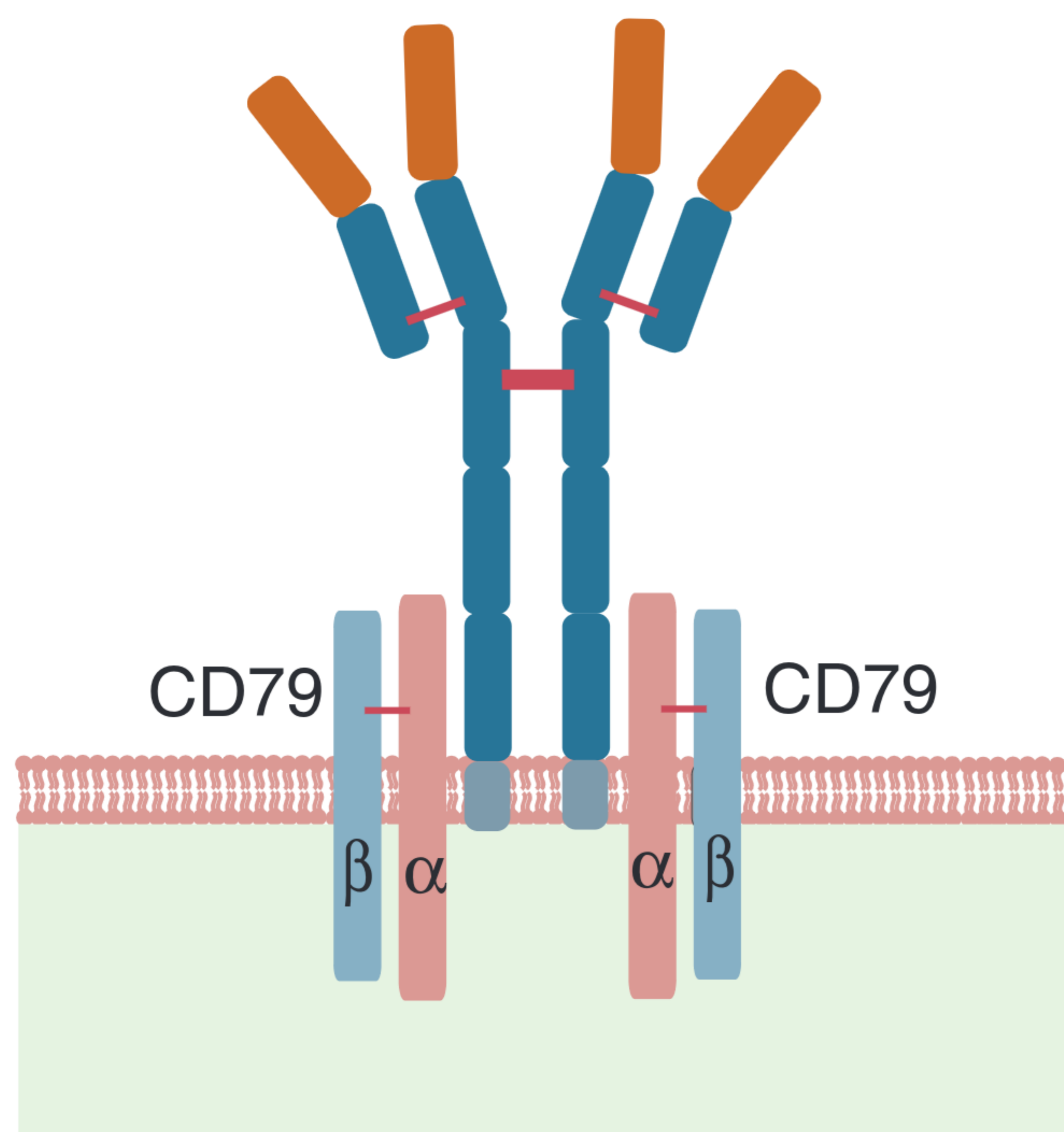
membrana da célula B. Essas imunoglobulinas ligadas à célula diferem da forma secretada porque possuem um pequeno domínio transmembrana localizado na região C-terminal. Esse domínio contém aminoácidos hidrofóbicos que se associam com os lipídios da membrana celular.

Região da Dobradiça

Uma característica importante das imunoglobulinas é que suas regiões Fab que contêm o sítio de ligação ao antígeno podem se movimentar livremente ao redor do centro da molécula, como se estivessem ligadas a uma “dobradiça”. Essa dobradiça é constituída por um domínio curto de cerca de 12 aminoácidos localizado entre os domínios C_{H1} e C_{H2} . A região da dobradiça contém muitos resíduos hidrofílicos e resíduos de prolina, que fazem com que a cadeia peptídica desdobre e tornam a região suscetível à ação das proteases (veja Fig. 16.10). Essa região também contém as pontes dissulfídicas entre as cadeias que mantêm as quatro cadeias peptídicas juntas. A prolina, por causa de sua configuração, produz uma dobra de 90 graus quando inserida em uma cadeia polipeptídica. Como os aminoácidos podem rotacionar sobre o eixo das ligações peptídicas, o efeito de resíduos de prolina muito próximos é produzir uma junta universal ao redor da qual as cadeias de imunoglobulina podem girar livremente. As cadeias μ da IgM não possuem uma região da dobradiça.

Componente de Transdução de Sinal

As imunoglobulinas do BCR não conseguem sinalizar diretamente às suas células B porque seus domínios citoplasmáticos contêm apenas três aminoácidos. No entanto, seus domínios C_{H4} e transmembrana se associam com dois heterodímeros de glicoproteínas formados pelo pareamento de CD79a (Ig- α) com CD79b (Ig- β). Esses heterodímeros de CD79 são os transdutores de sinal do BCR (Fig. 15.6). As cadeias CD79b são idênticas em todos os BCRs. As cadeias CD79a diferem dependendo das cadeias pesadas associadas e utilizam vias de sinalização diferentes.

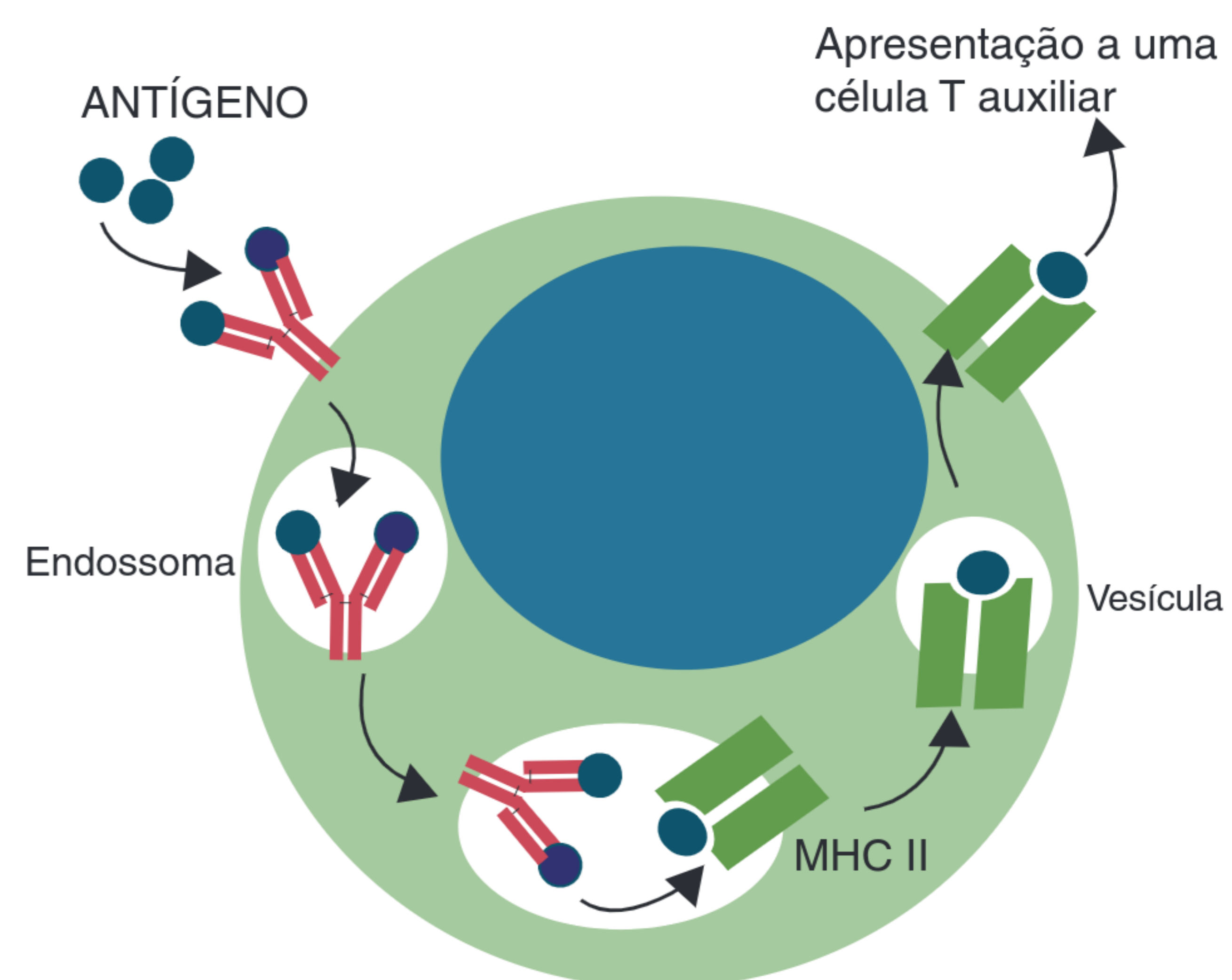


f0035 **FIG. 15.6** Estrutura de um BCR completo, mostrando o componente de ligação ao antígeno (imunoglobulina) e os componentes de transdução de sinal (CD79). Note o pequeno domínio transmembrana ao final de cada cadeia pesada.

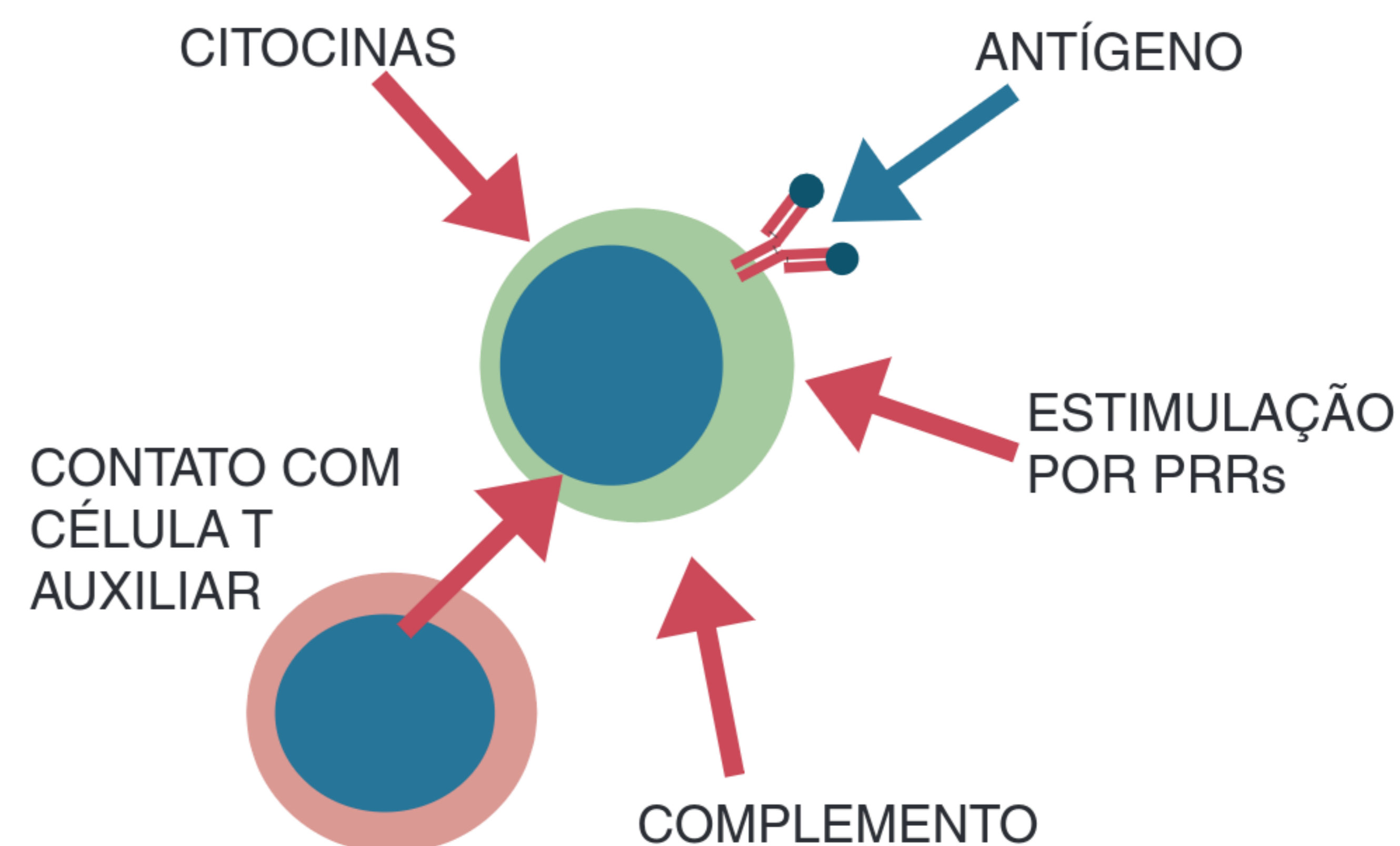
p0280 A ligação antígeno-BCR e a ligação cruzada de dois receptores expõem ITAMs no CD79a e CD79b. A fosforilação desses ITAMs pelas src quinases leva à fosforilação da fosfolipase C e de uma proteína G (veja Fig. 8.12). A subsequente hidrólise do fosfatidilinositol e a mobilização do cálcio ativam a proteína quinase C e calcineurina, que ativam os fatores de transcrição NF- κ B e NF-AT. Por fim, isso resulta na divisão celular e produção de imunoglobulina – desde que a célula B também receba sinais coestimulatórios apropriados de outras fontes.

st0060 APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENO PELAS CÉLULAS B

p0285 Células B são células apresentadoras de antígeno eficientes. Após a ligação do antígeno, o BCR é internalizado e degradado ou transportado para o um compartimento intracelular, onde as moléculas de histocompatibilidade principal (MHC) classe II e os fragmentos do antígeno se combinam. Esses complexos antígeno-MHC classe II são, então, carregados até a superfície da célula B e apresentados às células T auxiliares (Fig. 15.7). Se o antígeno apresentado por uma APC se liga ao BCR, o antígeno pode ser extraído da célula apresentadora e endocitado pela célula B. Esse antígeno vai para os endossomos, onde é complexado às moléculas MHC classe II. Uma vez que todos os receptores de antígeno em uma única célula B são idênticos, cada célula B pode ligar apenas um antígeno. Isso faz com que sejam células apresentadoras de antígeno muito mais eficientes do que os macrófagos, que precisam apresentar qualquer material estranho que encontrarem. Isso é especialmente verdadeiro nos animais primados, nos quais um grande número de células B consegue ligar e apresentar antígenos específicos.



f0040 **FIG. 15.7** . Processamento de antígenos pelas células B. Esse processo é muito eficiente uma vez que os BCRs capturam grande quantidade de moléculas idênticas de antígeno.



f0045 **FIG. 15.8** Para que respondam de maneira otimizada, as células B precisam ser estimuladas pelo antígeno, mas também devem receber coestimulação das células T auxiliares e suas citocinas, assim como do complemento e PRRs.

Como resultado, as células B conseguem ativar as células Th com 1/1000 do antígeno necessários para ativar os macrófagos.

COESTIMULAÇÃO DAS CÉLULAS B

st0065 p0290 Apesar de a ligação do antígeno ao BCR ser um primeiro passo essencial, normalmente sozinho ele não é suficiente para ativar as células B. A completa ativação da célula B requer diversos sinais de outras fontes. Ela exige coestimulação por células T auxiliares e citocinas, pelo complemento e pelos padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs; Fig. 15.8).

Ajuda da Célula T

st0070 p0295 Quando células T auxiliares “ajudam” as células B, elas promovem várias atividades diferentes pelas células B. Esses sinais resultam na expressão aumentada de IgM BCR e MHC classe II, assim como de receptores para IL-4, IL-5, IL-6, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e fator transformador do crescimento β (TGF- β). Isso também inicia um processo que leva a célula B a se dividir e diferenciar em células secretoras de anticorpos.

As células T auxiliares estimulam as células B a proliferarem e sobreviverem através da produção de CD40L, IL-21 e IL-4. A “ajuda” também desencadeia a mutação somática nos centros germinativos e, conseqüentemente, muda a afinidade de ligação do anticorpo. As células T auxiliares também desencadeiam a troca de classe da imunoglobulina.

p0300 Para conseguirem tudo isso, no entanto, as células T auxiliares precisam, elas próprias, encontrar o antígeno. Esse antígeno pode ser apresentado por uma das células apresentadoras de antígeno profissionais, como as células dendríticas, macrófagos ou mesmo as células B. Assim, a célula B pode capturar e processar o antígeno, apresentá-lo à célula T e, então, receber coestimulação da mesma célula T. As células B, portanto, desempenham dois papéis. Elas respondem ao antígeno fazendo anticorpos ao mesmo tempo que atuam como células apresentadoras de antígeno. As células T auxiliares fornecem as células B com sinais coestimulatórios das citocinas, assim como através da interação dos ligantes e receptores.

st0075 Secreção de Citocinas

p0305 As células Th2 produzem várias citocinas que ativam as células B. As mais importantes são interleucina-4 (IL-4), IL-5, IL-6, IL-13 e IL-21.

p0310 A IL-4 estimula o crescimento e a diferenciação das células B e aumenta sua expressão de MHC classe II e receptores Fc. Ela também induz a troca de classe de imunoglobulina e, assim, estimula a produção de IgA e IgE (Tabela 15.1). As ações da IL-4 são neutralizadas pelo IFN- γ , o qual inibe a síntese de IgA e IgE e a proliferação da célula B.

p0315 A IL-5 promove a diferenciação das células B ativadas em plasmócitos. Ela estimula a produção de IgG e IgM e aumenta a produção de IgE induzida pela IL-4. A IL-5 estimula a produção de IgA pelas células B de mucosa.

p0320 A IL-6 é necessária para a diferenciação final das células B em plasmócitos. Ela atua junto com a IL-5 para promover a produção de IgA e junto com a IL-1 para promover a produção de IgM.

p0325 A IL-13 possui atividades biológicas semelhantes àquelas da IL-4 porque age através do receptor IL-13R, que compartilha a cadeia comum α com o IL-4R. Isso estimula a proliferação da célula B e aumenta a secreção de imunoglobulina. A IL-13 é necessária para a indução ótima de IgE, especialmente se a IL-4 estiver baixa ou ausente.

p0330 A IL-21 é produzida por várias populações de Th, incluindo as células Tfh e as células Th17. Ela induz a diferenciação das

células B em plasmócitos e células B de memória, e estimula a produção de IgG em conjunto com a IL-4. A IL-21 promove a troca de classe da IgM para IgG, enquanto a IL-4 induz a troca para IgE.

Sinalização Célula-Célula

As citocinas sozinhas não conseguem ativar plenamente as células B. A ativação completa também requer a sinalização entre as células Th e as células B através dos pares de receptores, como CD40 e CD154. O CD154 é expresso nas células T auxiliares ativadas, enquanto seu receptor, o CD40, é expresso nas células B em repouso. O CD40 precisa receber o sinal do CD154 para que a célula B inicie o ciclo celular e aumente sua expressão dos receptores de IL-4 e IL-5 (Figs. 15.9 e 15.10). Os sinais do CD154 cooperam com aqueles dos receptores de IL-4 e IL-5 para ativar a célula B, o desenvolvimento das células de memória e a troca de classe da imunoglobulina. O CD28, também encontrado nas células T auxiliares, também deve fornecer coestimulação ao ligar o CD86 nas células B ativadas.

Ajuda do Complemento

A coestimulação eficiente das células B também requer sinais do complemento, transmitidos através do CD21/CD19 na superfície da célula B. O CD21 é um receptor (CR2) cujo ligante é o C3d. O CD19 é o componente de sinalização associado. Se um antígeno ligado ao C3d se liga também ao CD21, um sinal é transmitido através do CD19 para a célula B (Fig. 15.11). A estimulação de um BCR mais o CD19/CD21 diminui o limiar de ativação da célula B em 100 vezes. A importância do complemento na estimulação das células B é evidenciada pela observação de que camundongos deficientes nos componentes de complemento C3, C4 ou CR2 não conseguem montar uma resposta eficiente por anticorpo.

O receptor Fc da célula B, o Fc γ RIIb, é um regulador negativo da função da célula B. Quando uma molécula IgG se liga a esse receptor e a um BCR através de um antígeno, ela inibe a formação de anticorpos. Isso tem conseqüências práticas quando se vacinam animais jovens (Capítulo 25).

Ajuda dos Receptores do Tipo Toll e PAMPs

Apesar da ligação BCR-antígeno mais coestimulação da célula T provocarem a divisão inicial da célula B, eles não conseguem induzir uma resposta prolongada e autossustentável da célula B. A ativação completa das células B também requer sinais coordenados de seus receptores do tipo *toll* (TLRs). Os ligantes estimuladores da célula B incluem flagelinas, lipopolissacarídeos e DNA CpG. A sinalização pelo TLR4 aumenta a apresentação de antígeno pela célula B, promove a formação do centro germinativo e é necessária para a produção ótima de anticorpos contra antígenos T-dependentes. A sinalização via TLR nas células B de memória aumenta a produção de anticorpos, mas não parece ser necessária para a produção de IgA e IgE. Assim, a sinalização via TLR pode substituir parcialmente a ajuda da célula T e explica por que a produção de anticorpos continua a acontecer em pacientes com AIDS, apesar da falta de células T.

RESPOSTAS DA CÉLULA B

Uma vez que receba ajuda das várias fontes descritas acima, a célula B está pronta para responder.

t0010 **TABELA 15.1 Imunoglobulinas Produzidas por Células B na Presença de Clones de Célula T Antígeno-Específicos Th1 e Th2 em Camundongos**

Classe	Células Th1 (ng/mL)	Células Th2 (ng/mL)
IgG1	<8	21.600
IgG2a	14	39
IgG2b	<8	189
IgG3	<8	354
IgM	248	98.000
IgA	<1	484
IgE	<1	187

Adaptado de Coffmann RL, Seymour BW, Leberman DA, et al: The role of helper T cell products in mouse B cell differentiation and isotype regulation, *Immunol Rev* 102:5, 1988.