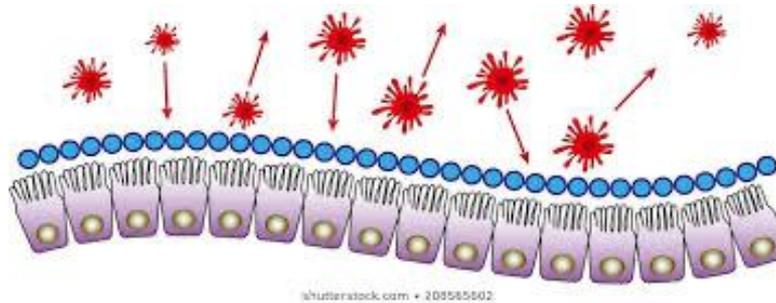


O sistema imune nas mucosas



Sergio Costa Oliveira
Departamento de Imunologia
ICB – USP

Características do sistema imune das mucosas

Região	Desafios	Estruturas Células ou Moléculas
Trato gastrointestinal	<ul style="list-style-type: none">•Tolerância aos antígenos alimentares e à microbiota.•Responsiva à patógenos.•Enorme área de superfície.	<ul style="list-style-type: none">•Tonsilas e placas de Peyer.•Células epiteliais intestinais, células M, células de Paneth.•IgA e IgM secretada no lúmen para neutralização de microorganismos.•Tecido linfoide associado a mucosa (MALT - GALT).
Sistema respiratório	<ul style="list-style-type: none">•Exposição à vários patógenos e partículas provenientes das vias áreas.	<ul style="list-style-type: none">•Adenoides.•Células epiteliais ciliadas que produzem muco e defensinas.•Movimentação do muco para retirar partículas e microorganismos para fora das vias aéreas.•Secreção de IgA, IgM e IgG para neutralização de microorganismos.•Tecido linfoide associado a mucosa (MALT - BALT).

- Proteção contra os diferentes tipos de desafios microbianos.
- Assegurar a harmonia com organismos comensais não patogênicos que colonizam o lúmen de órgãos mucosos.

MALT Mucosa-associated lymphoid tissue

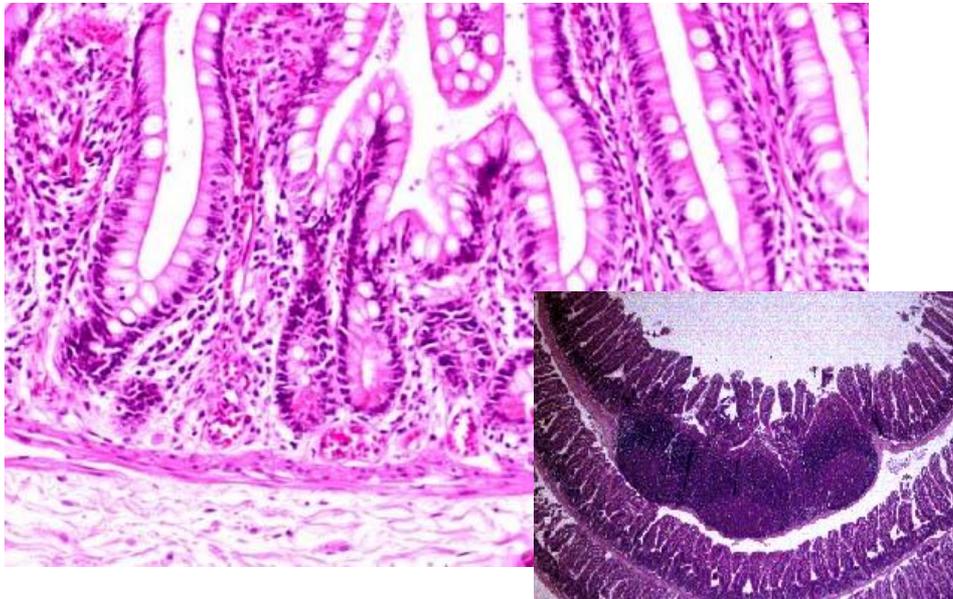
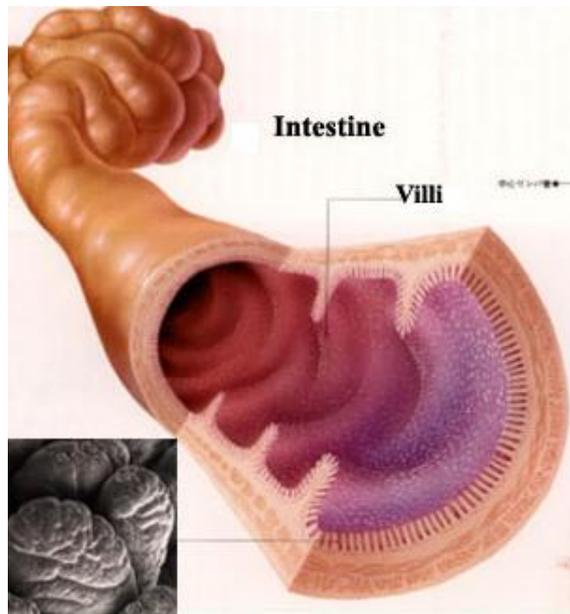
GALT	Gut-associated lymphoid tissue PPs and ILFs constitute the major part of GALT (ILFs and appendix)
NALT	Nose- or nasopharynx-associated lymphoid tissue (Waldeyer's pharyngeal ring, adenoids (nasopharyngeal tonsil) and palatine tonsils.
SALT/ DALT	Salivary gland- or duct-associated lymphoid tissue Identified in non-human primates but not humans
CALT	Conjunctiva-associated lymphoid tissue
LDALT	Lacrimal drainage-associated lymphoid tissue
TALT	Eustachian tube-associated lymphoid tissue
LALT	Larynx-associated lymphoid tissue
BALT	Bronchus-associated lymphoid tissue Not present in normal lungs of adult humans
MLN	Mesenteric lymph node
CLN	Cervical lymph node

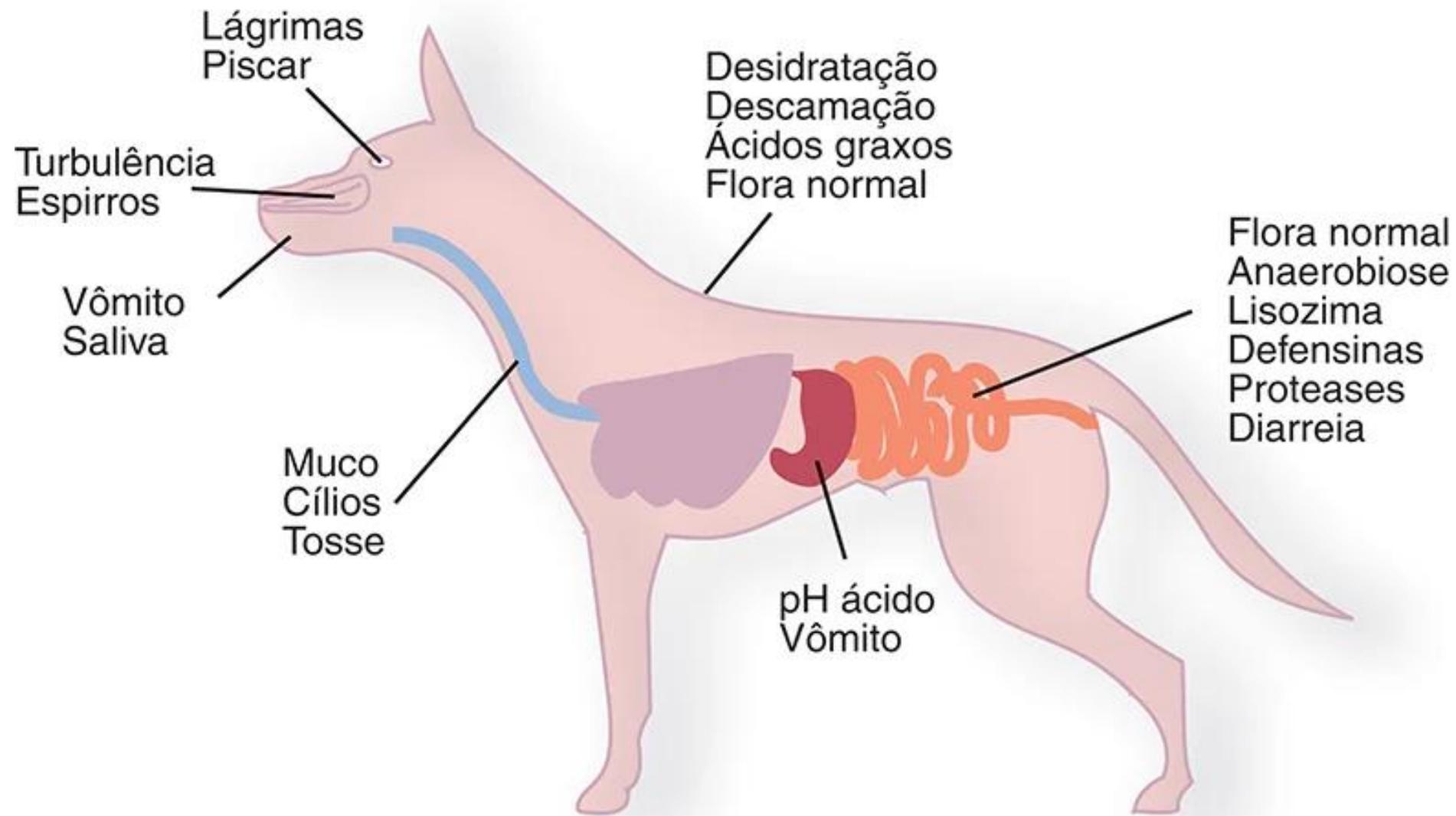
Approved by the International Union of Immunological Societies–World Health Organization Subcommittee on IgA nomenclature [9].

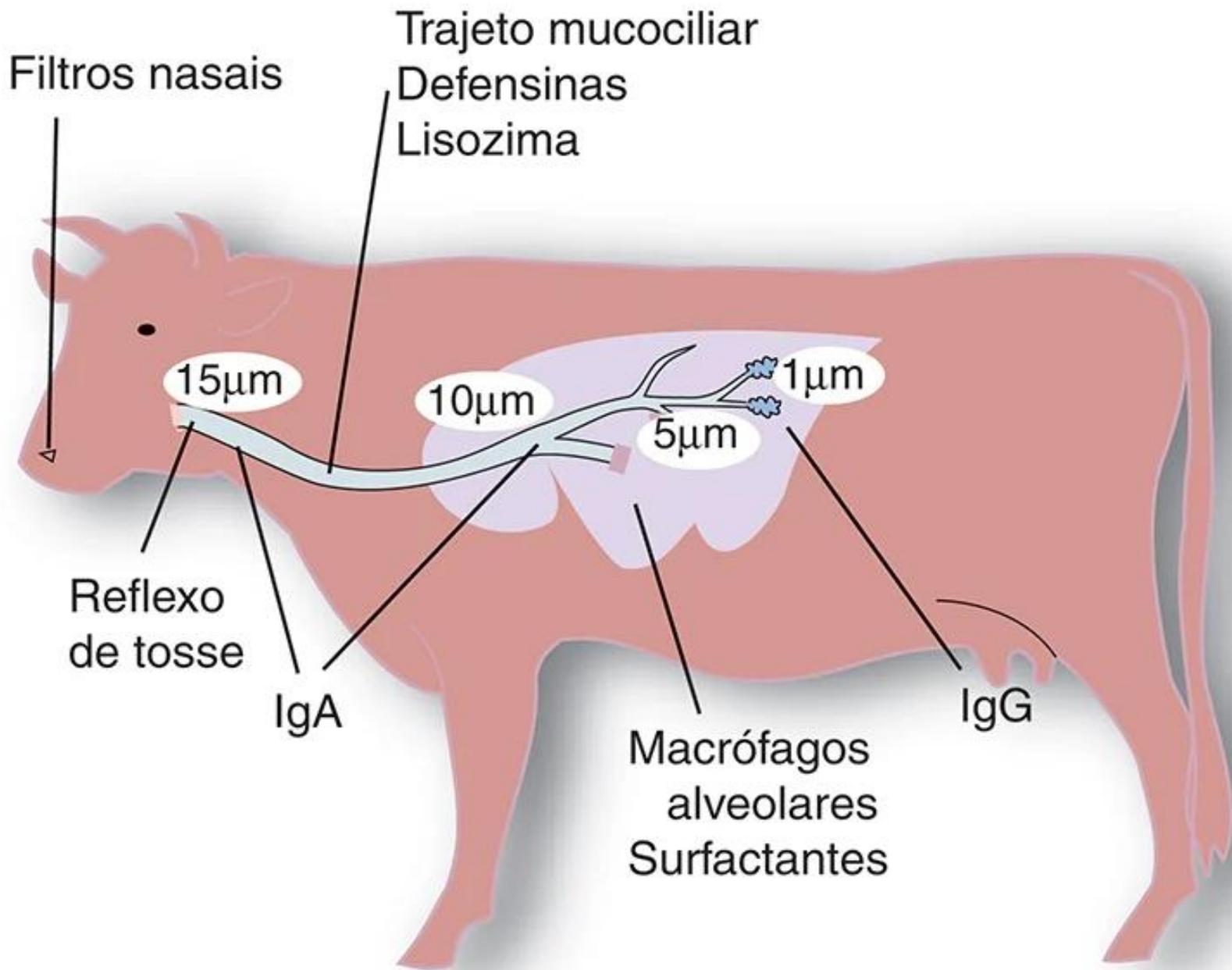
(Brandtzaeg and Pabst, 2004)

Mucosa intestinal

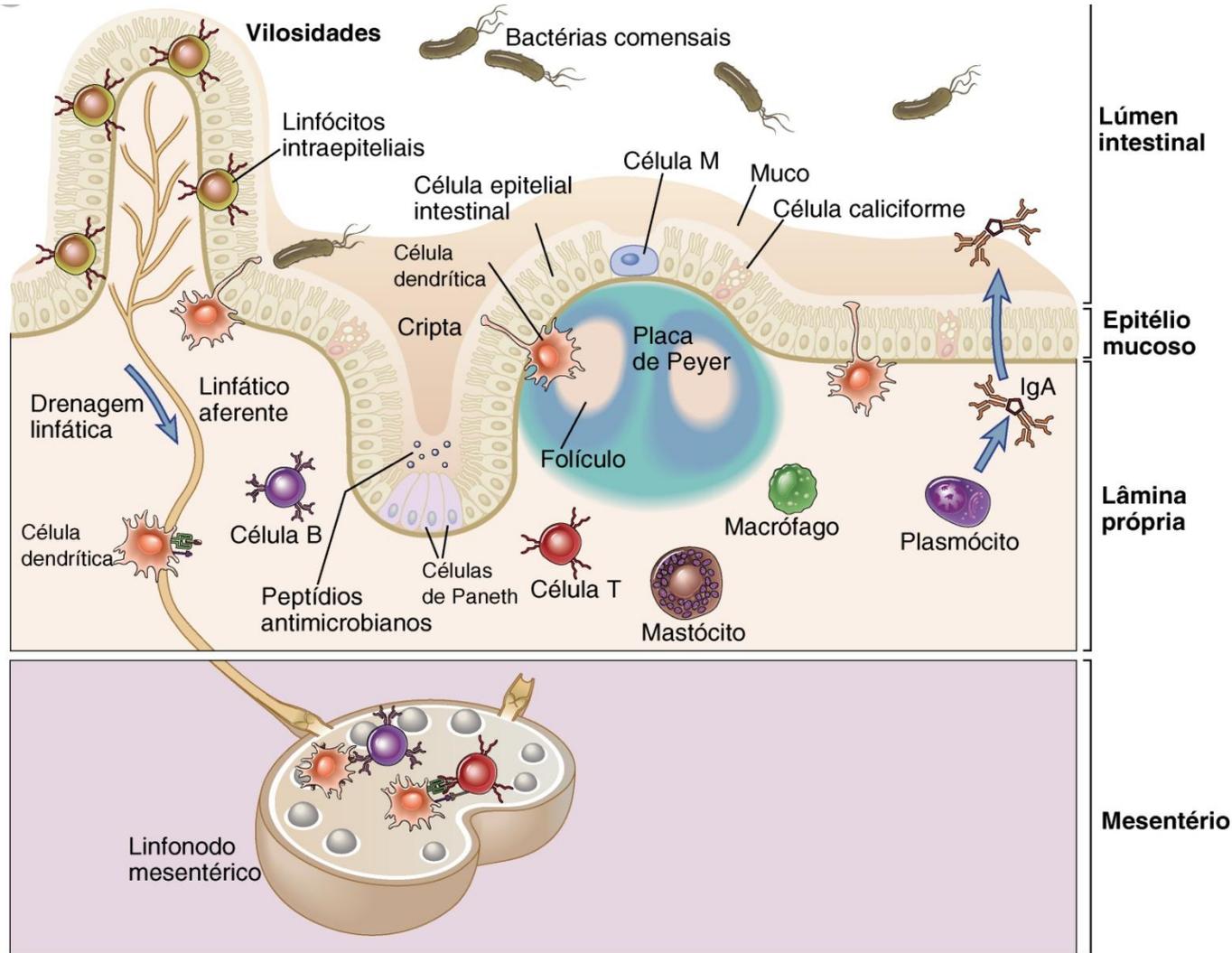
~ 300 m²





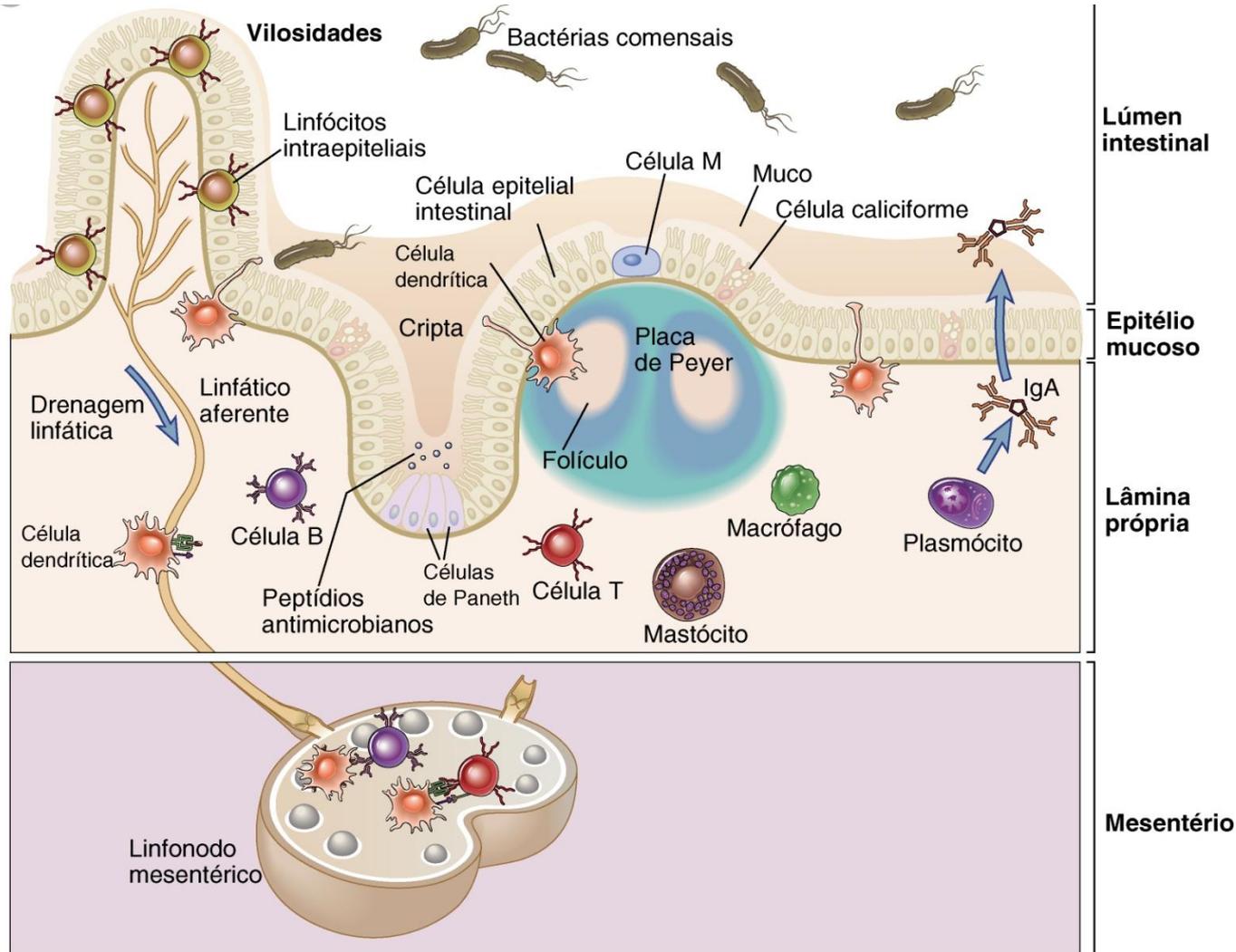


Imunidade no sistema gastrointestinal



➤ Células epiteliais sobre uma membrana basal que serve como uma barreira física ao ambiente externo denominado lâmina própria.

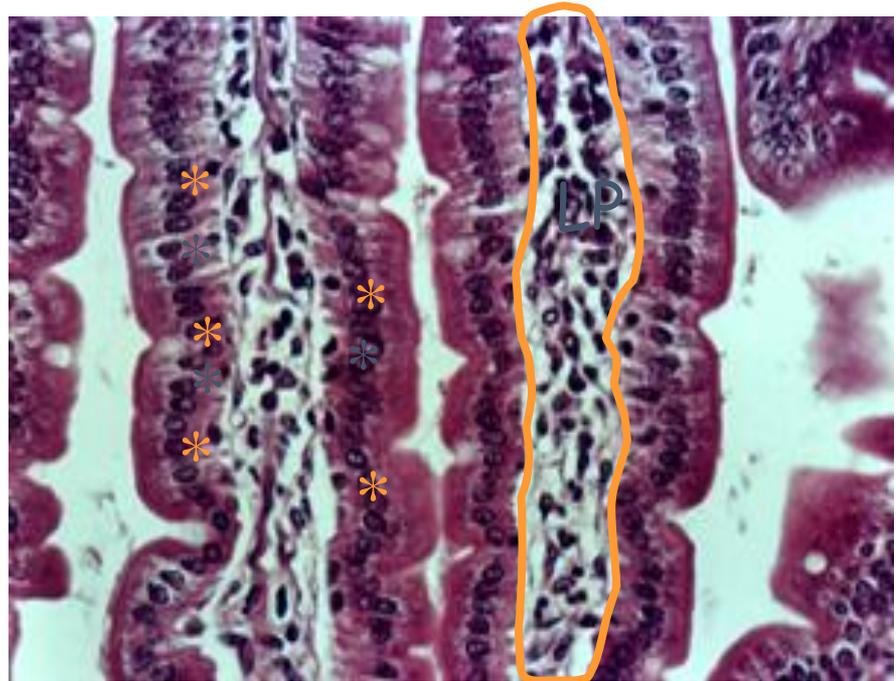
Imunidade no sistema gastrointestinal



- Células dendríticas: captura de antígenos do lúmen ou na lâmina própria.
- Linfonodo Mesentérico: local no qual ocorre a apresentação de antígenos pelas células dendríticas aos linfócitos virgens.

Lamina Propria e IELs*

Gut-associated lymphoid
tissue (**GALT**)

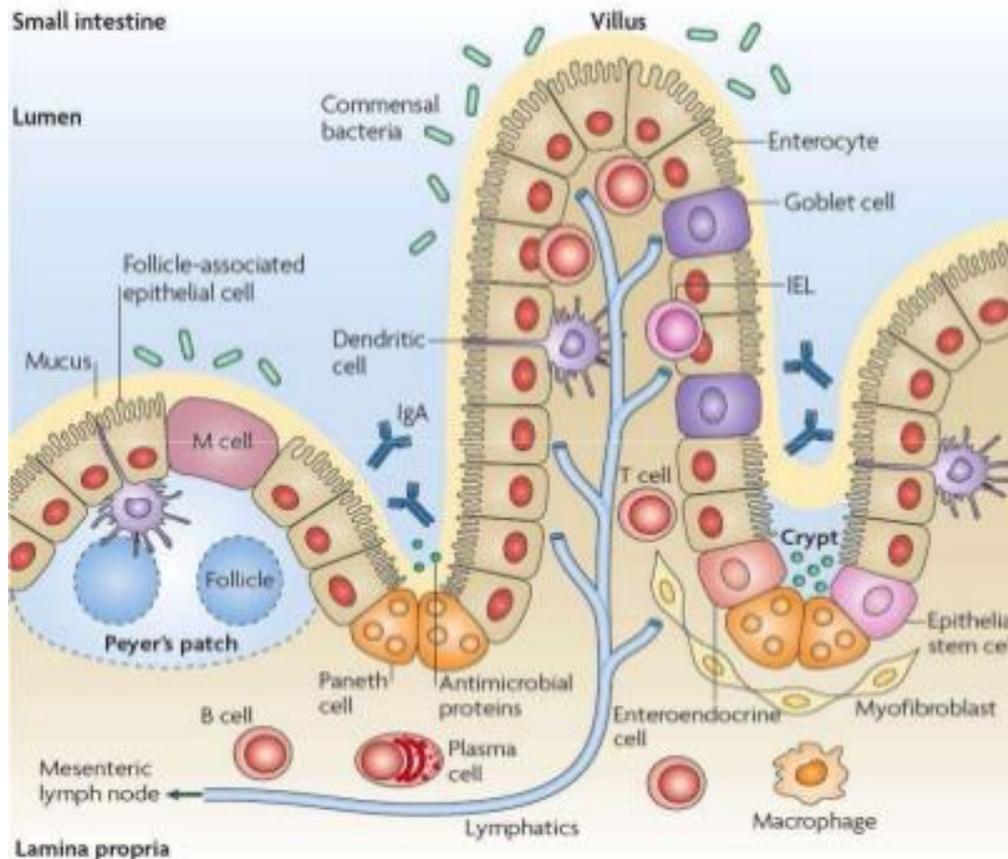


Placas de Peyrer



Gut-associated lymphoid tissue (GALT)

Compartimentos



Epithelium:

- enterocytes
- Goblet cells
- Paneth cells
- Intra-Epithelial Lymphocytes

Lamina propria:

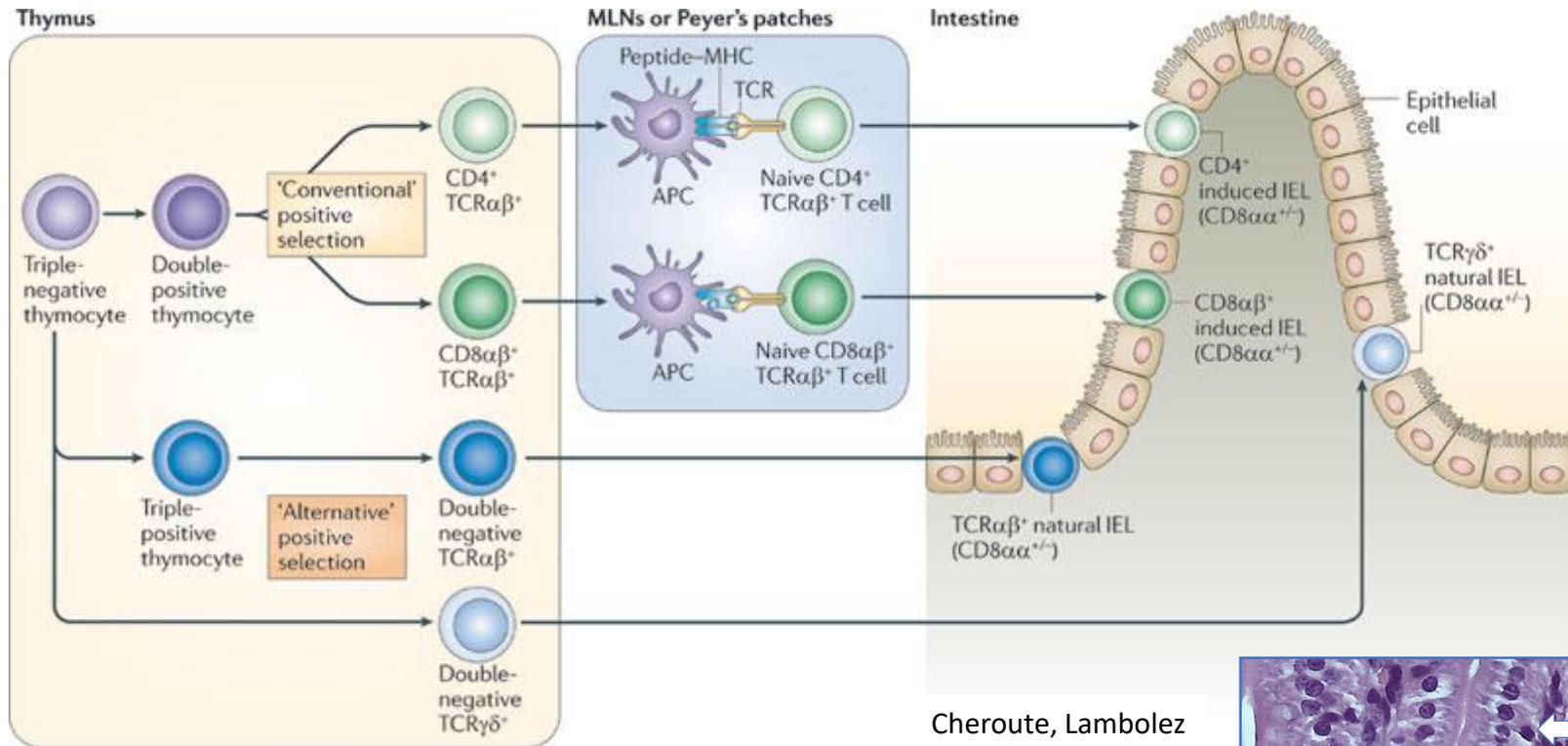
- CD4 + T / T CD8 +
- Plasma IgA +
- DC
- macrophages
- Innate Lymphoid cells

Peyer's patches:

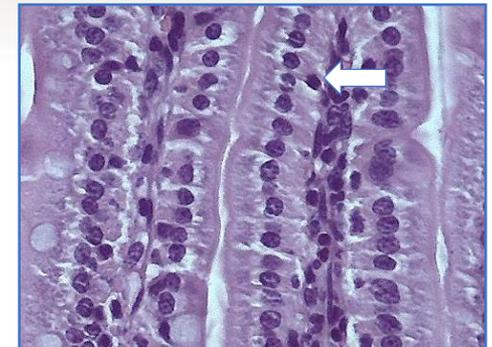
- DC
- CD4 + T / T CD8 +
- B lymphocytes

Na mucosa intestinal, 70% das células imunes estão ativadas (ao contrário dos 20% no baço e linfonodos periféricos) e são produzidos mediadores inflamatórios (IL-1, IL-18, IFN- γ , IL-17) e anti-inflamatórios mantendo a homeostase da mucosa.

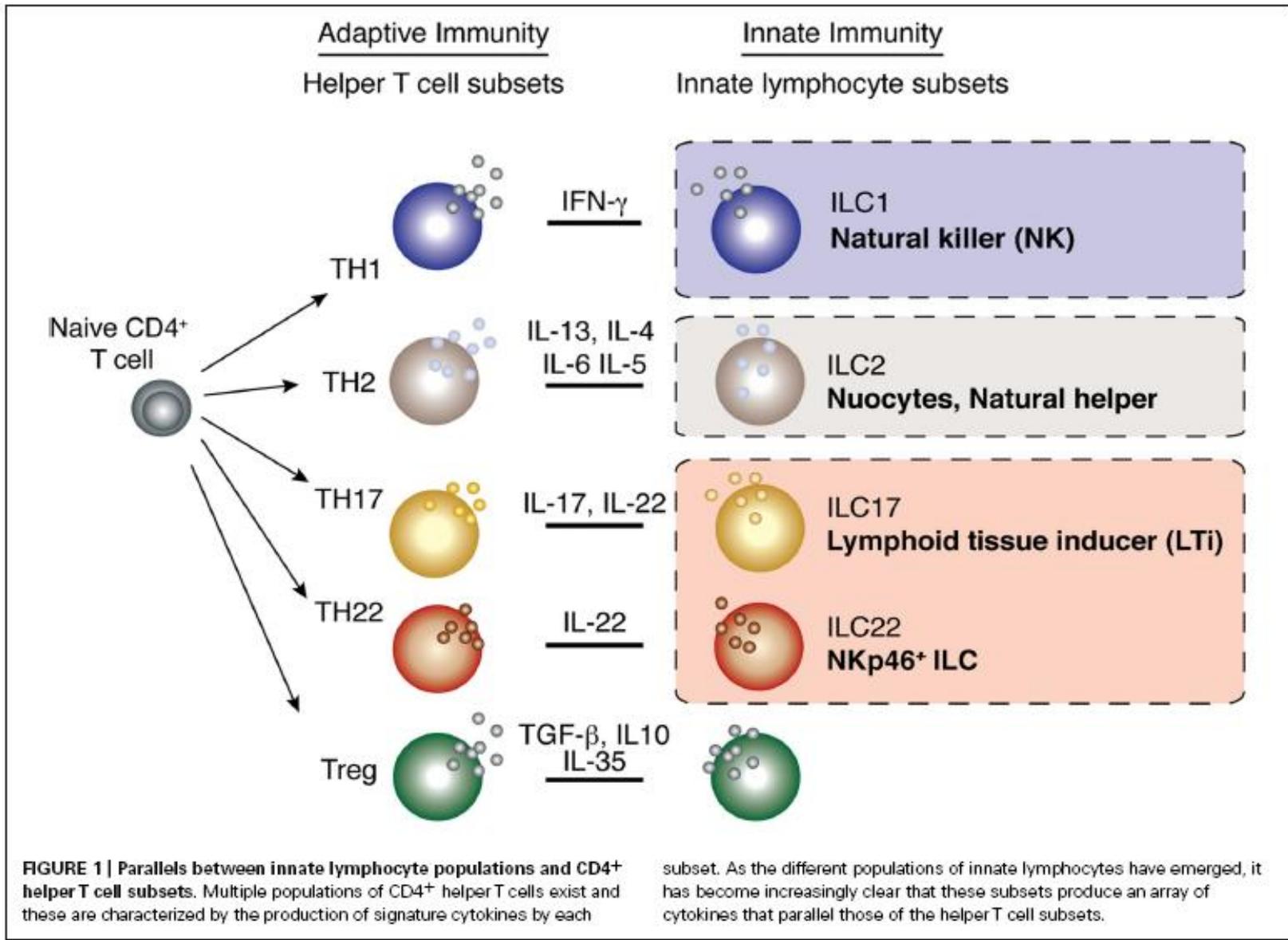
Linfócitos intra-epiteliais (IEL)



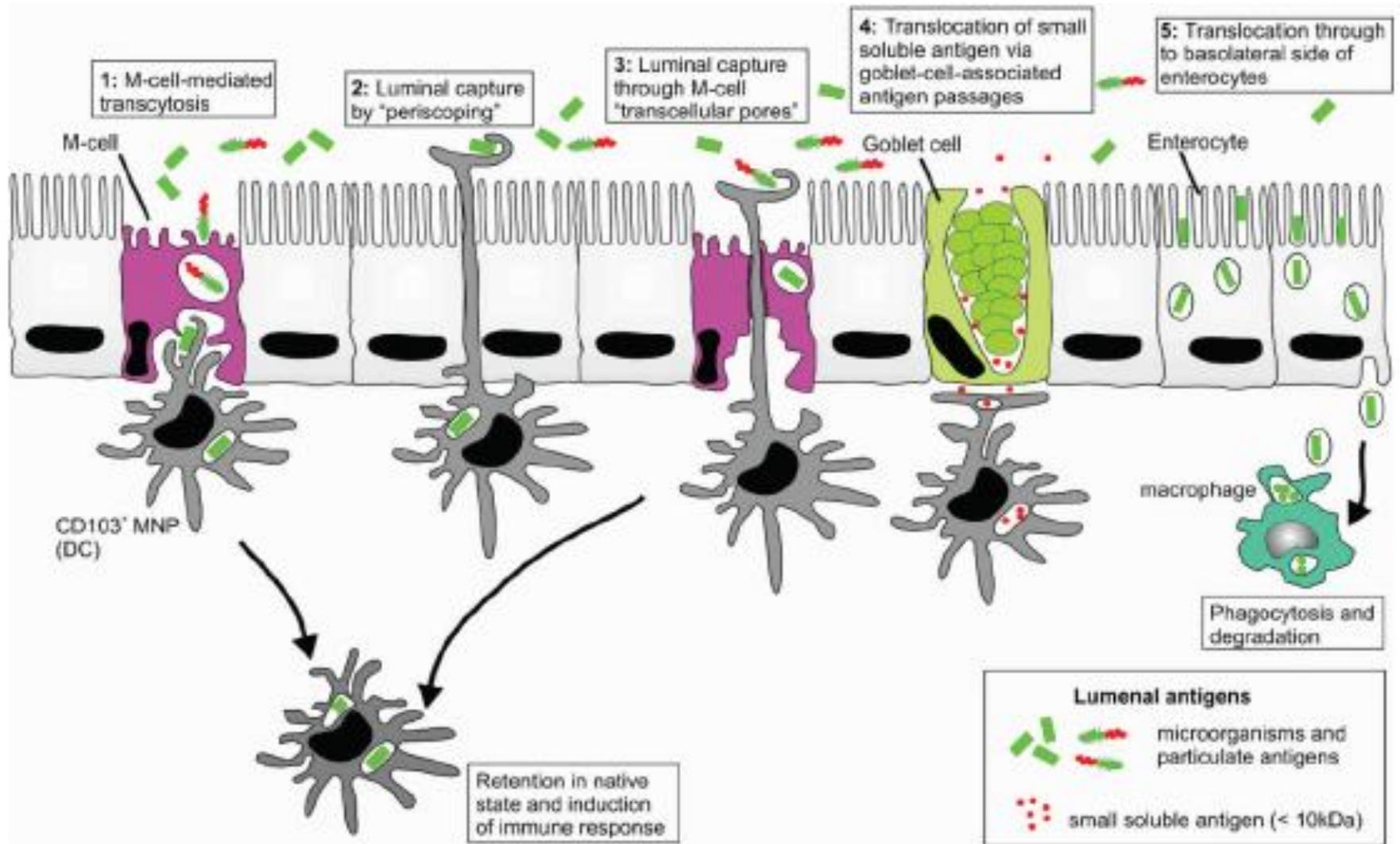
Cheroute, Lambomez
and Mucida, 2011
Nature Reviews

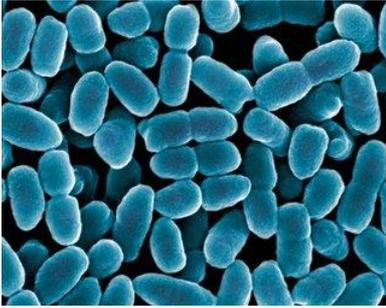


- Cytokines produced: IL-2, IL-17, IFN- γ , IL-4, TGF- β 1, TGF- β 3
- Activating and inhibitory NK receptors
- They all express CD103 (α E β 7) that binds E-cadherin
- CCR9 helps the homing to mucosa
- Some express CD8 $\alpha\alpha$ – a repressor of T cell signaling
- They can have either protective or cytotoxic roles in the epithelium



Rotas de captação de antígeno pelo epitélio intestinal

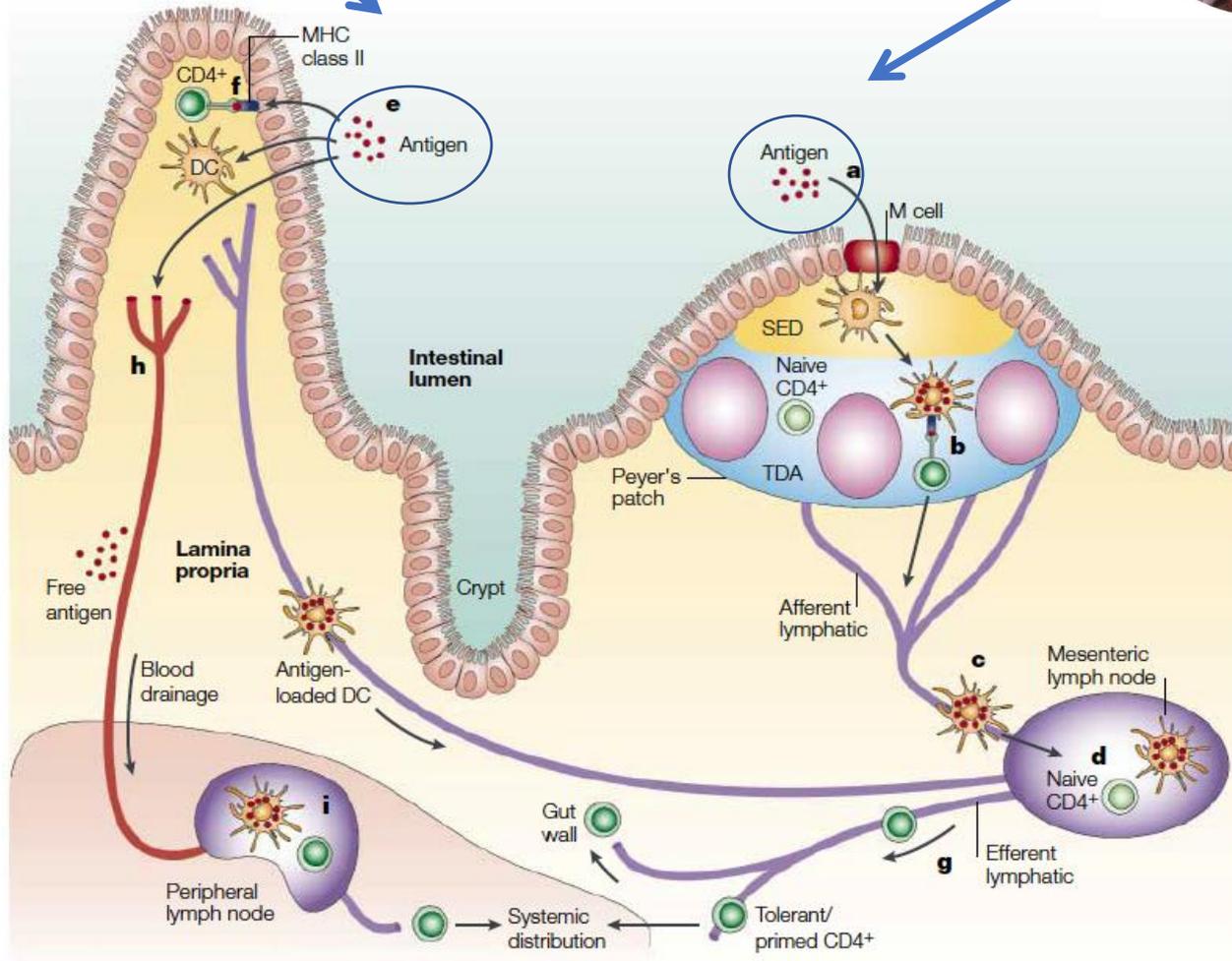




Mucosa intestinal



1×10^{13}
/g fezes



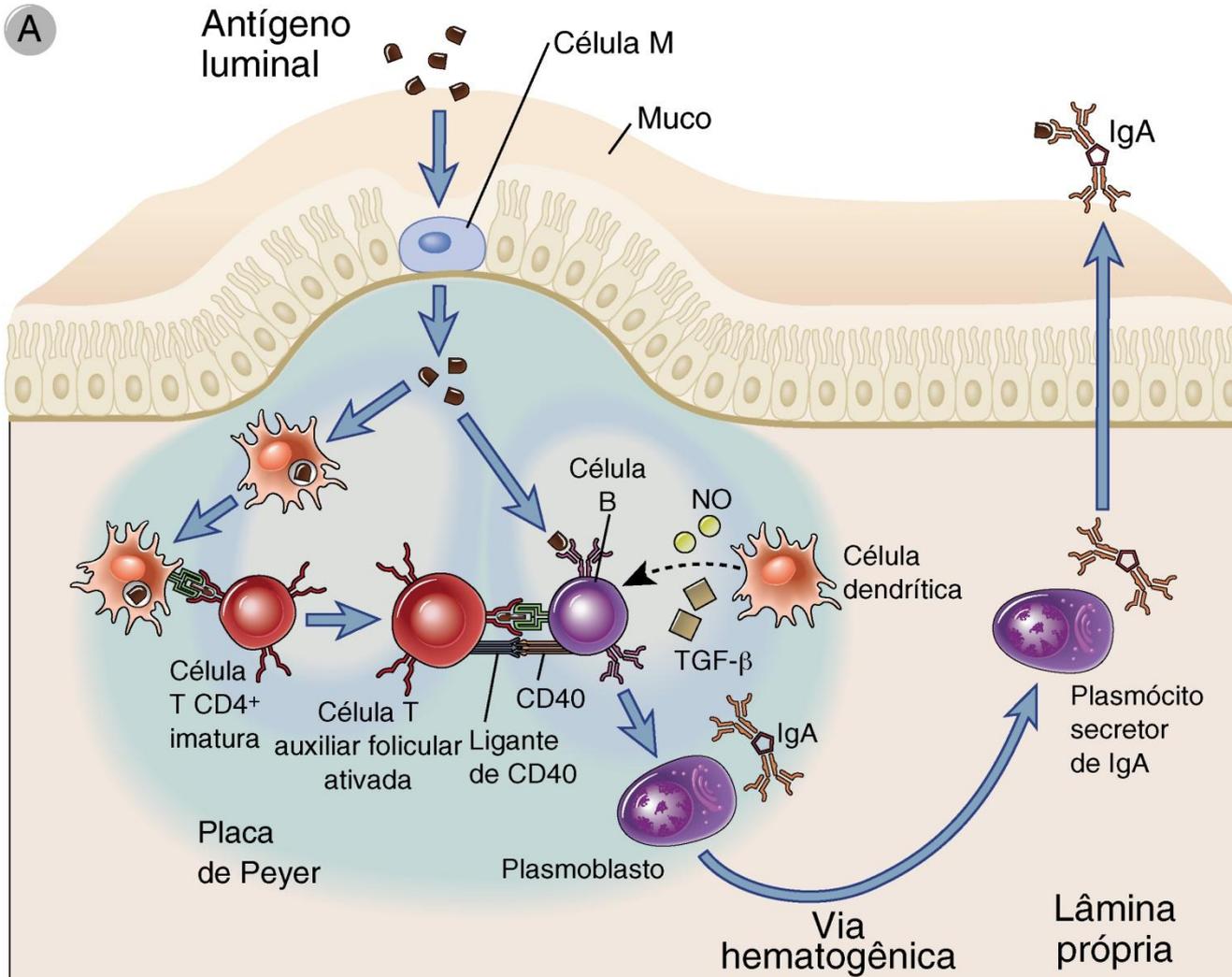
190 g
/dia
0,01%
chega
intacto à
circulação

Consequências imunológicas do contato com antígenos pela via oral

- Produção de IgA secretória
- Tolerância oral

Imunidade humoral no trato gastrointestinal

➤ A produção dominante de IgA por plasmócitos intestinais é atribuída a troca de classe para o isotipo IgA em células B no GALT e nos linfonodos mesentéricos.

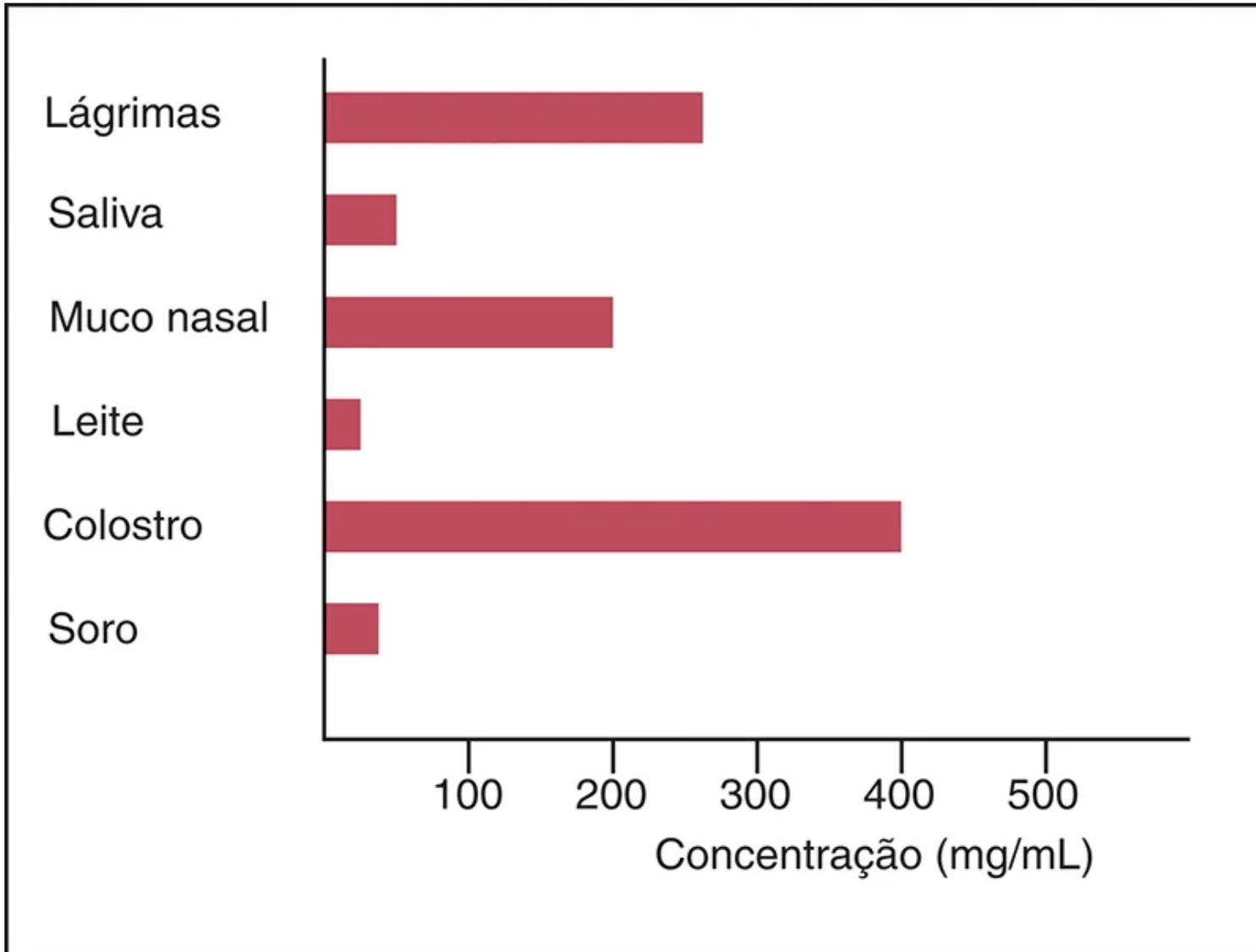


➤ Mudança de classe para IgA **dependente** de células T.

➤ **TGF- β** é a principal citocina requerida e é produzida por células epiteliais intestinais e por células dendríticas.

➤ Anticorpos IgA de **alta afinidade** (maturação de afinidade).

Concentração de IgA



Integração da imunidade materna e do lactente

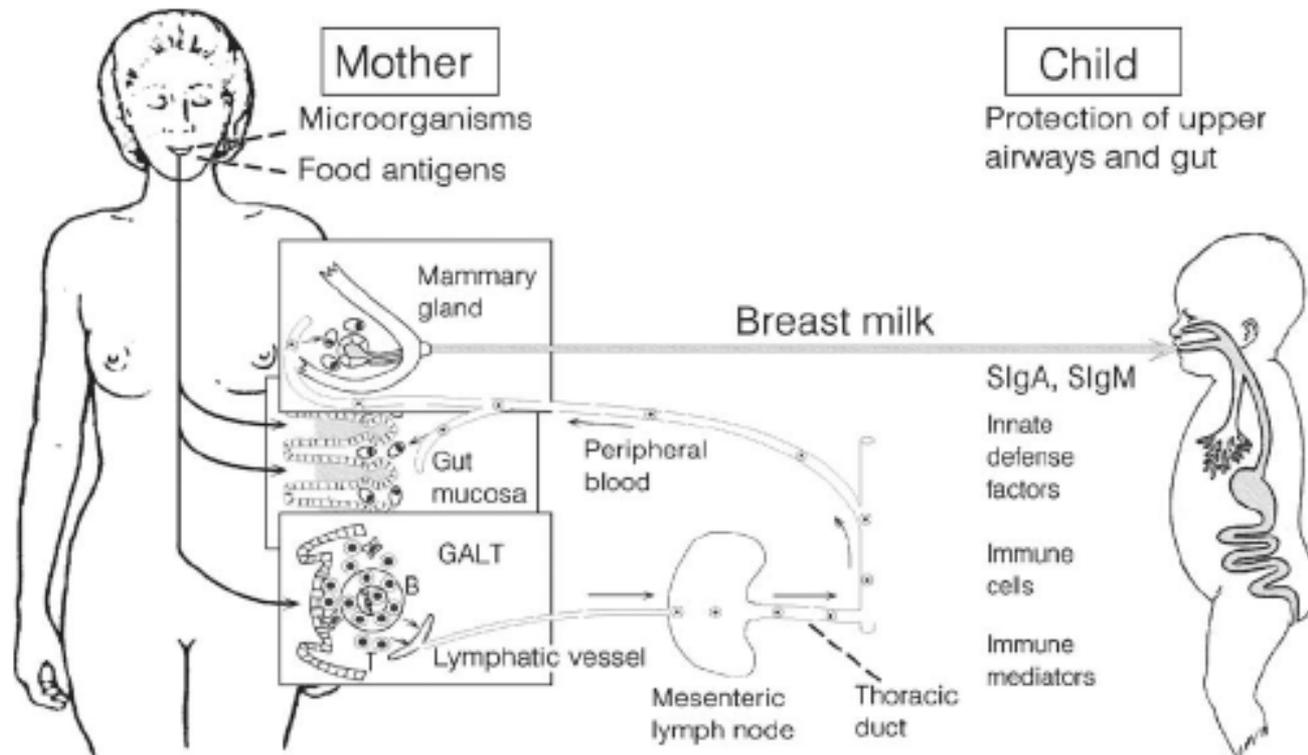


Fig. 1. Integration of mucosal immunity between mother and the newborn, with emphasis on migration of primed B (and probably T) cells from Peyer's patch via lymph and peripheral blood to the lactating mammary gland. Such distribution (arrows) beyond the gut of precursors for IgA plasma cells



Transferência de anticorpos da mãe nos mamíferos

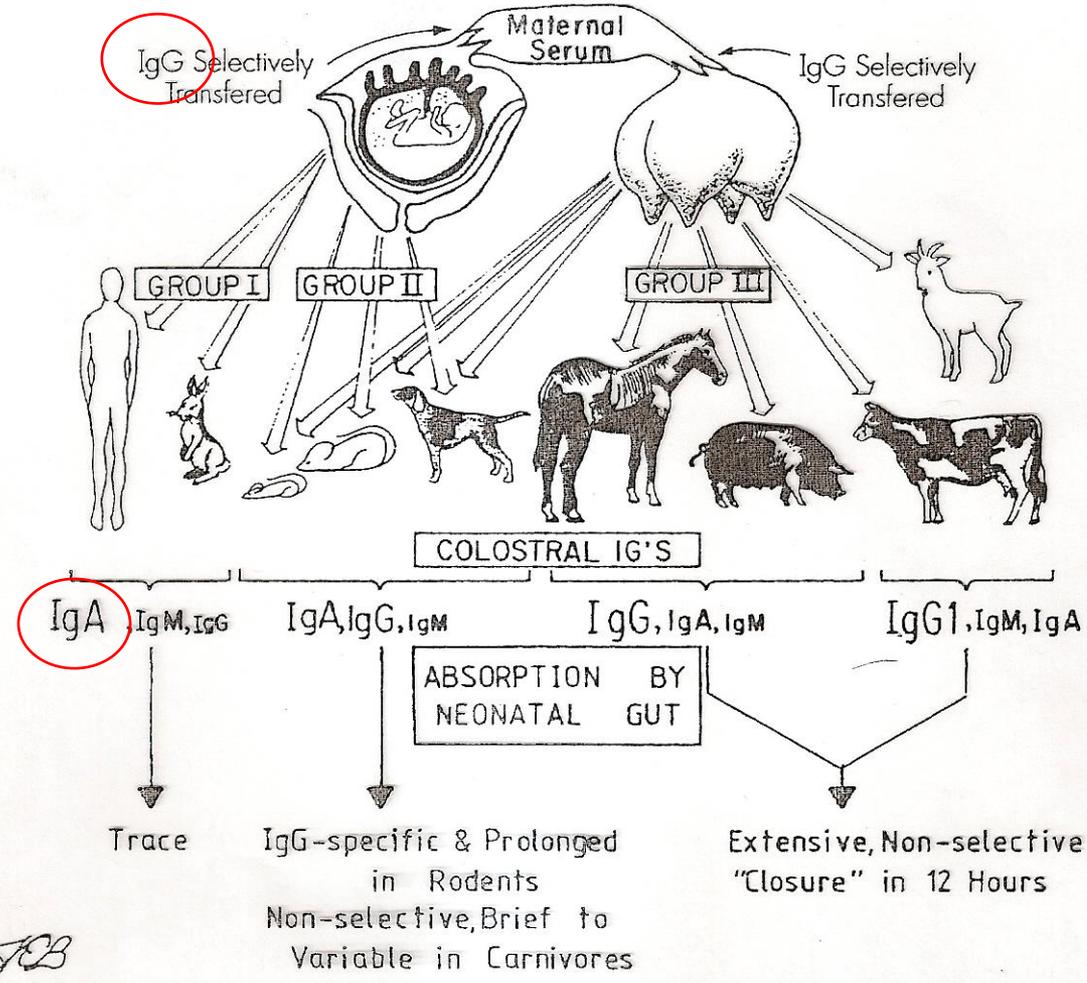
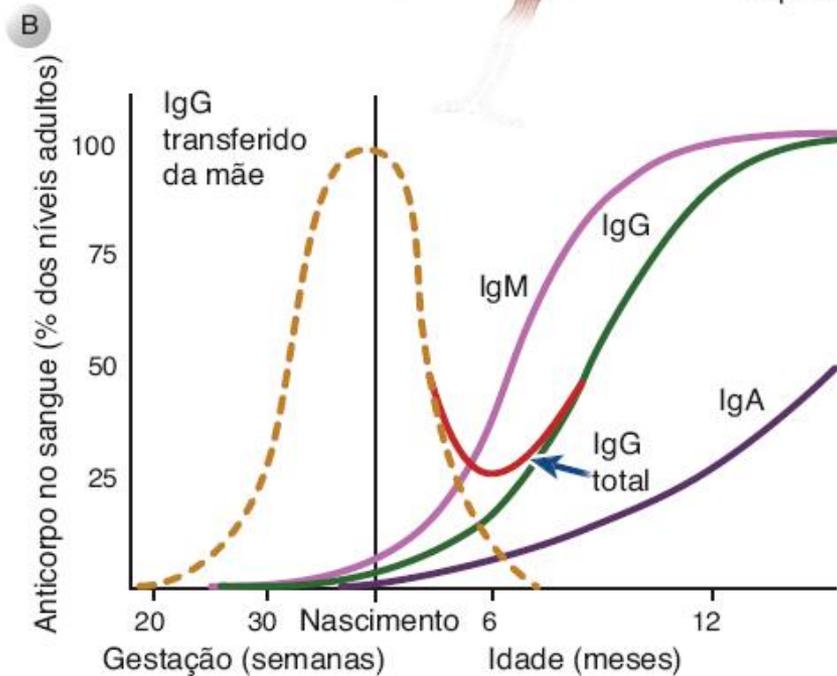
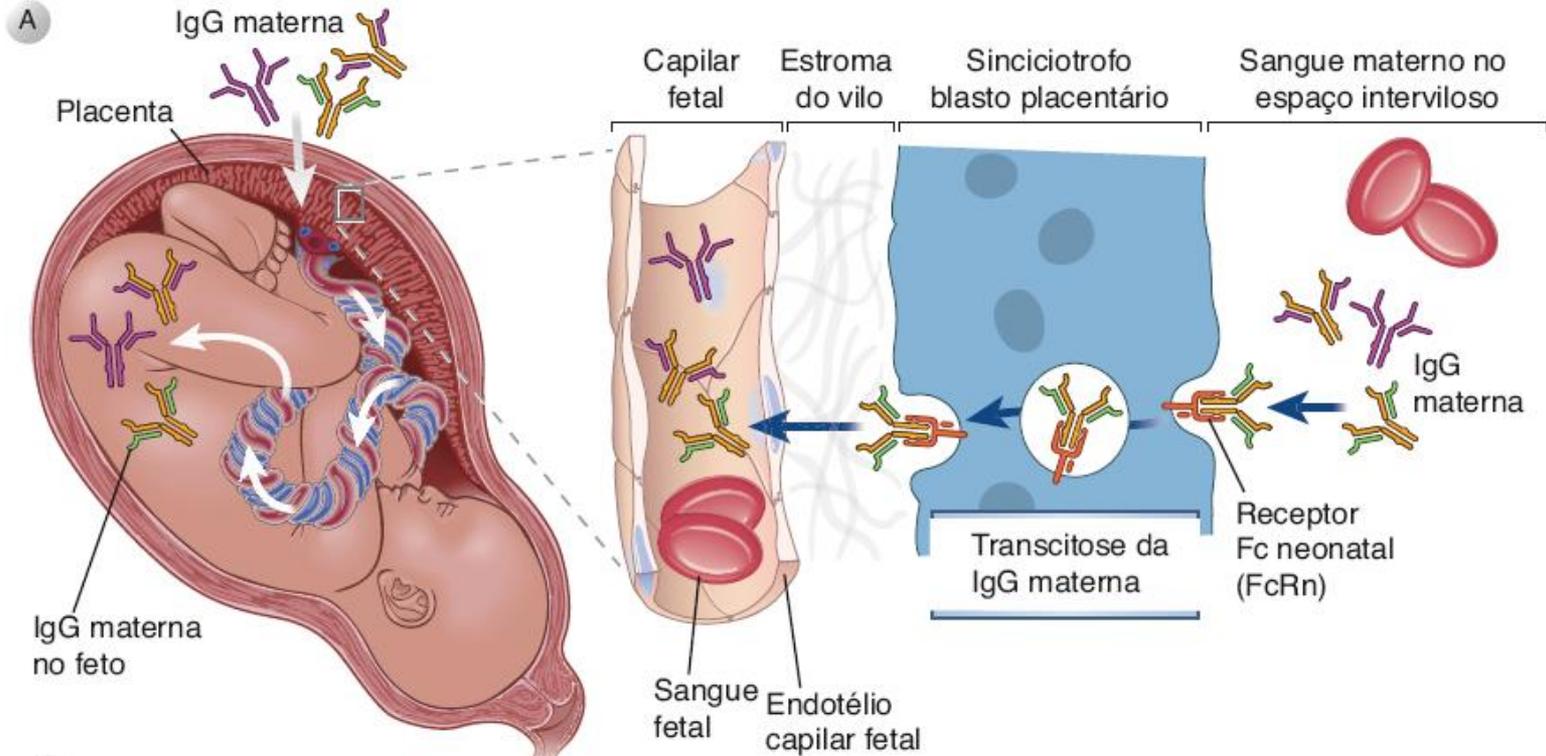


FIGURE 1 Transmission of immunity from mother to young. Modified with permission from Butler (1971).



Fatores anti-microbianos e hormônios no leite

TABLE I Representative Antimicrobial Factors in Human Milk Whose Production Is Delayed in the Recipient Infant

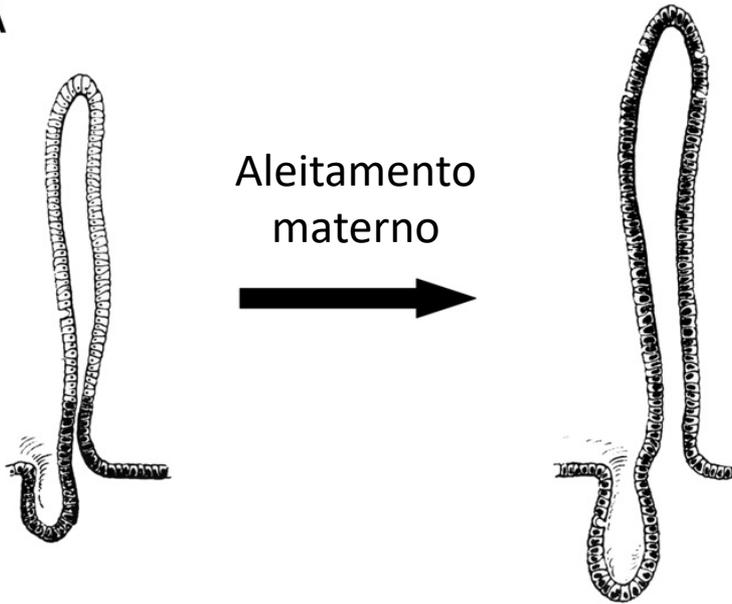
Agent	Approximate time of maturation
Secretory IgA	4-12 months
Full antibody repertoire	24 months
Lysozyme	1-2 years
Lactoferrin	?

TABLE II Functions of Representative Antimicrobial Agents in Human Milk

Agent	Primary function	Synergy
Proteins		
Lactoferrin (LF)	Fe ³⁺ chelation	SIgA
Lysozyme (LZ)	Peptidoglycan degradation	SIgA
Fibronectin	Oposonin	?
Secretory IgA (SIgA)	Antigen binding	LF-LZ
C3	Fragments are oposonins	SIgA-LZ
Mucins	Antitrotavirus, receptor analogs	?
Oligosaccharides	Receptor analogs	?
Lipids	Disruption of enveloped viruses	?

TABLE I Hormones in Milk

Hormone	Reference
Nonpeptides	
Thyroid	Bohles <i>et al.</i> , 1993 Moller <i>et al.</i> , 1983
Adrenal cortex Sex steroids	Pearlman, 1983 Kulski <i>et al.</i> , 1977 Severi <i>et al.</i> , 1970 Sas <i>et al.</i> , 1969
Peptides	
Hypothalamohypophyseal hormones	
Gonadotropin releasing hormone (GnRH)	Amarant <i>et al.</i> , 1982
Growth hormone releasing factor (GRF)	Werner <i>et al.</i> , 1988
Growth hormone (GH)	Kulski and Hartmann, 1983
Prolactin	Gala <i>et al.</i> , 1980
Thyrotropin releasing hormone (TRH)	Amarant <i>et al.</i> , 1982
Thyroid stimulating hormone (TSH)	Tenore <i>et al.</i> , 1981
Thyroparathyroid group	
Calcitonin-gene-related peptide	Ducroc <i>et al.</i> , 1995
Parathyroid hormone-like protein	Budayr <i>et al.</i> , 1989
Gastrointestinal regulatory peptides	
Gastrin	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Gastric inhibitory peptide (GIP)	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Gastrin releasing peptide (GRP)	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Neurotensin	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Peptide histidine methionine (PHM)	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Peptide YY PYY	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Substance P	Ducroc <i>et al.</i> , 1995
Somatostatin	Werner <i>et al.</i> , 1988
Vasoactive intestinal peptide (VIP)	Berseth <i>et al.</i> , 1990
Growth factors	
Epidermal growth factor (EGF)	Moran <i>et al.</i> , 1983
Transforming growth factor α , (TGF- α)	Okada <i>et al.</i> , 1991
Transforming growth factor β (TGF- β)	Zwiebel <i>et al.</i> , 1986
Insulin-like growth factor-I (IGF-I)	Nagashima <i>et al.</i> , 1990
Insulin-like growth factor-II (IGF-II)	Breier <i>et al.</i> , 1993
Nerve growth factor (NGF)	Wright and Gaull, 1983
Other growth factors	Read <i>et al.</i> , 1985

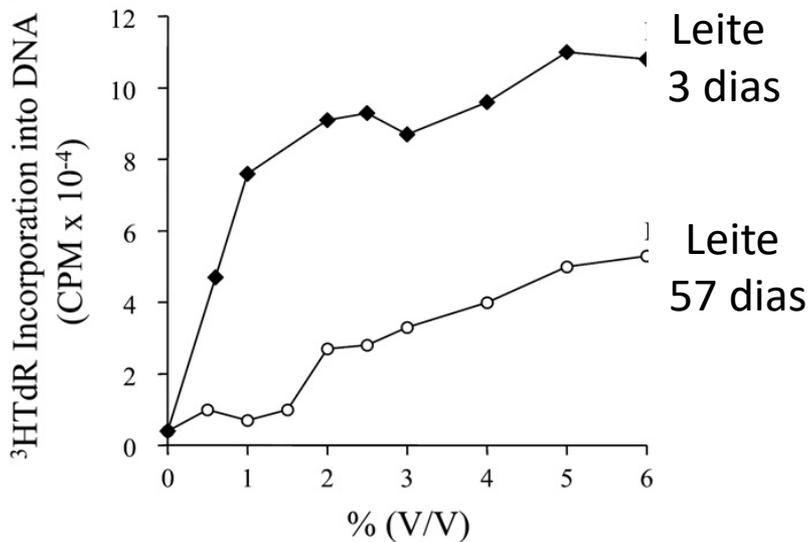
A

Precolostrum

Postcolostrum

Colostro (3 dias)
atua no aumento da
proliferação das
células epiteliais do
intestino.

O leite maduro
(57 dias) tem uma
ação menor.

B



IMPORTÂNCIA DO ALEITAMENTO MATERNO

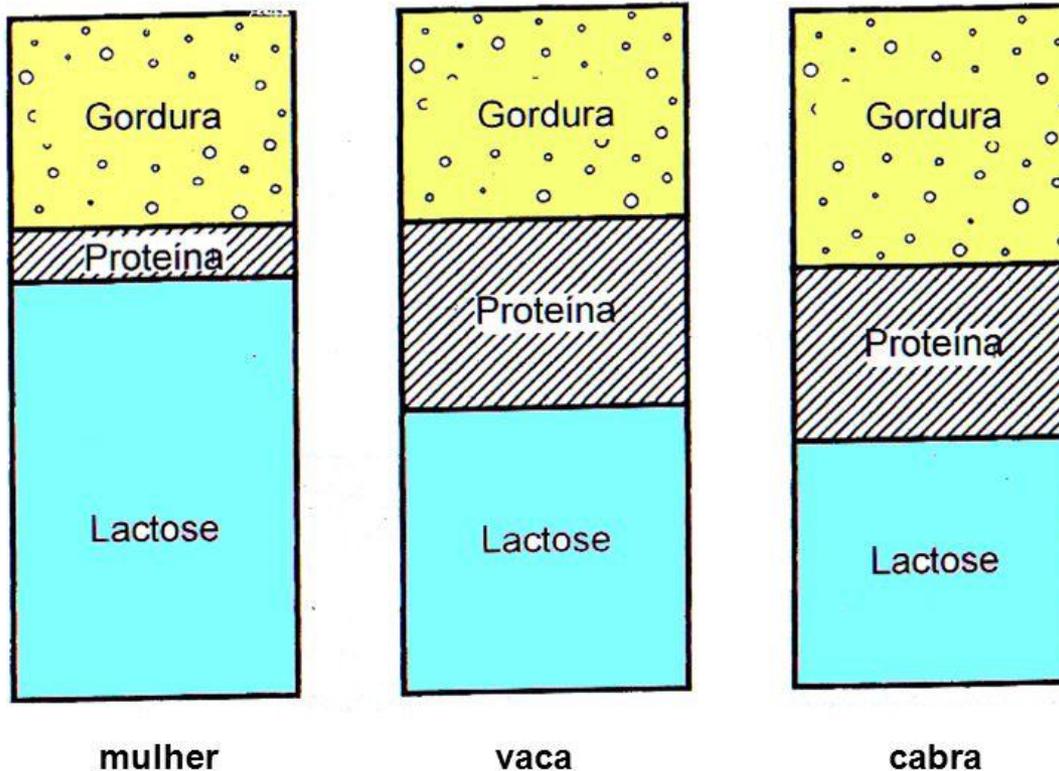
- ↓ Mortalidade
- Proteção contra diarreia
- Proteção contra infecções respiratórias
- ↓ Risco de alergias
- ↓ Risco de hipertensão, colesterol alto e diabetes
- ↓ Chance de obesidade
- Melhor nutrição
- Melhor desenvolvimento cavidade bucal





Comparando leites de diferentes espécies

Qual a diferença entre esses leites ?



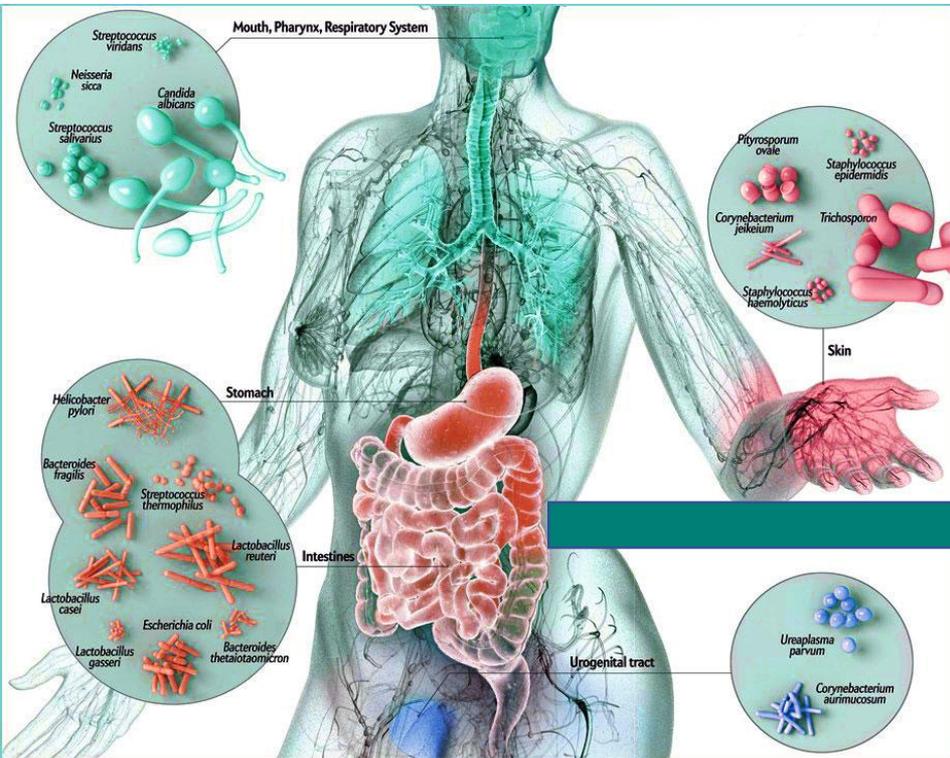
IMUNOPRIVILÉGIO

- Imunoprivilégio é uma característica de alguns tecidos ou órgãos especializados do organismo. Originalmente, esses sítios foram descritos como sítios que sustentavam alotransplantes por um tempo ou indefinidamente. Descrito primeiramente nos olhos. Hoje em dia, considera-se um local imunoprivilegiado todo aquele que é capaz de suprimir respostas imunes, mesmo que transientemente.

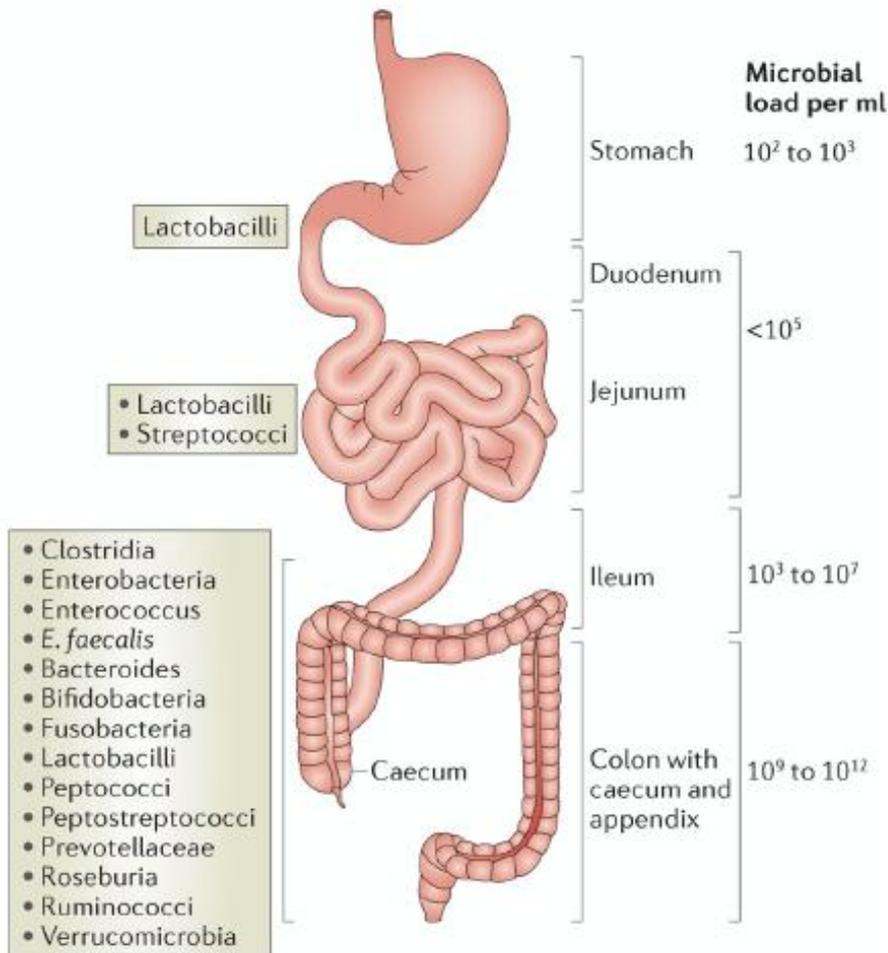
Tecidos e órgãos onde se observa imunoprivilégio

- Olhos, Cérebro e medula espinhal, Útero gravídico, placenta, Testículo, Ovários.
- Imunoprivilégio ocorre através de barreiras físicas, expressão de quimiocinas e citocinas (TGF- β), células T regulatórias e em menor escala por mecanismos de indução de morte celular (FAS/FASL).

Microbiota: we are not alone!



Microbiota do trato gastrointestinal humano



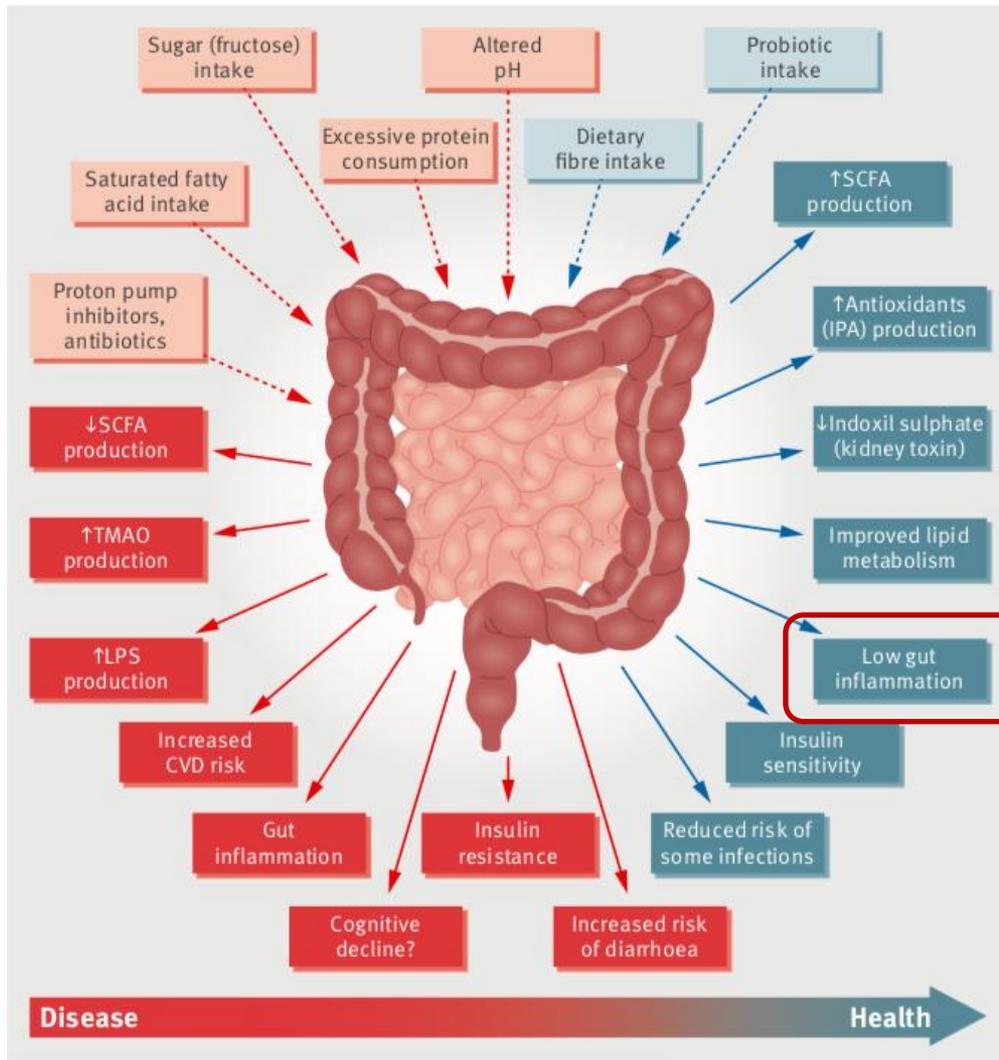
- ✓ Microbiota: 10^{14} células
- ✓ Corpo humano: 10^{13} células
- ✓ Bactérias, fungos e vírus
- ✓ Bactérias: proteobactérias e bacteroidetes (gram -), Firmicutes (gram +) são os principais *phyla*
1200 espécies
40 gêneros
- ✓ Atividade metabólica: Fígado
- ✓ Peso: 1,2 a 1,5 kg

Turnbaugh et al, 2007. The human microbiome project, *Nature*, 449: 804

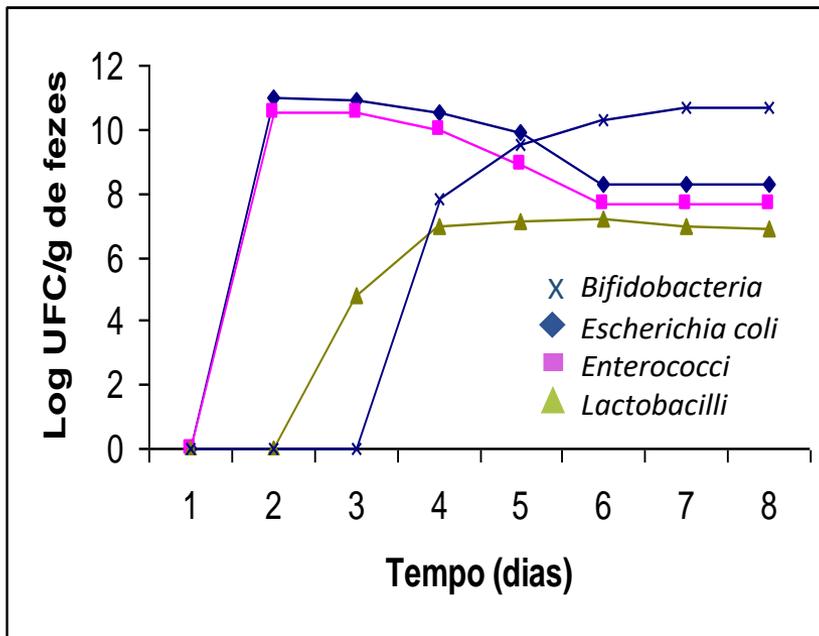
Funções da Microbiota

Fatores que alteram a microbiota

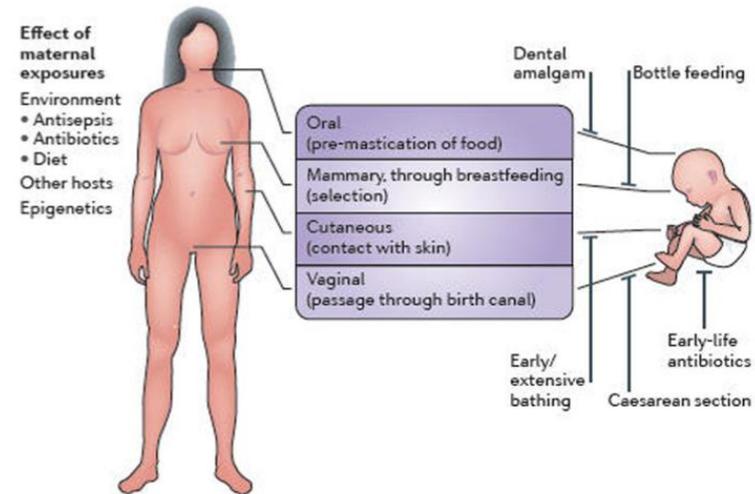
- ✓ Resistência à colonização por microorganismos exógenos; forma um ecossistema.
- ✓ Imunomodulação
Estimula a maturação do sistema imune
- ✓ Contribuição nutricional
Fornece nutrientes (ácidos graxos voláteis, vitaminas) e regula a fisiologia digestiva (estimulação da multiplicação e diferenciação células, controle pH)



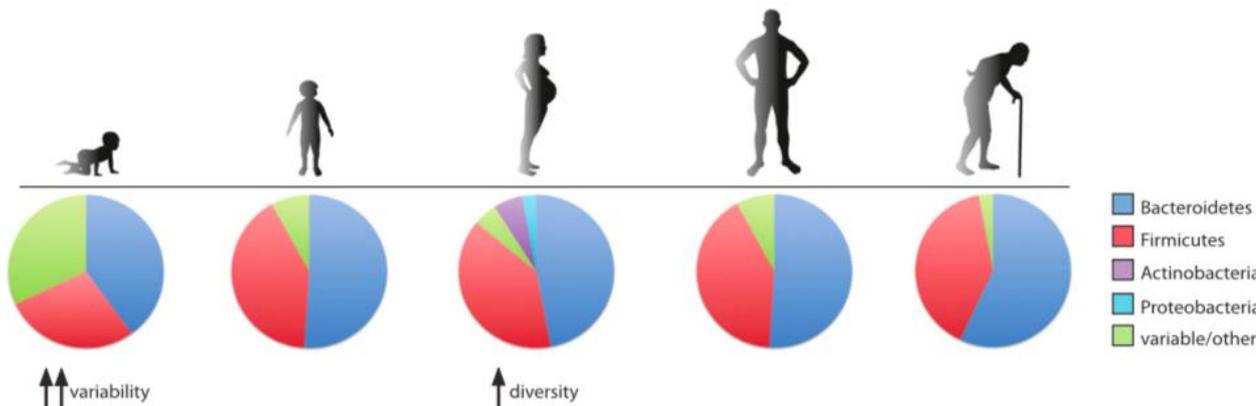
Desenvolvimento da microbiota do trato digestivo humano



- Initial exposure occurs during passage through birth canal
- During first year of life, heavily influenced by mother and environment

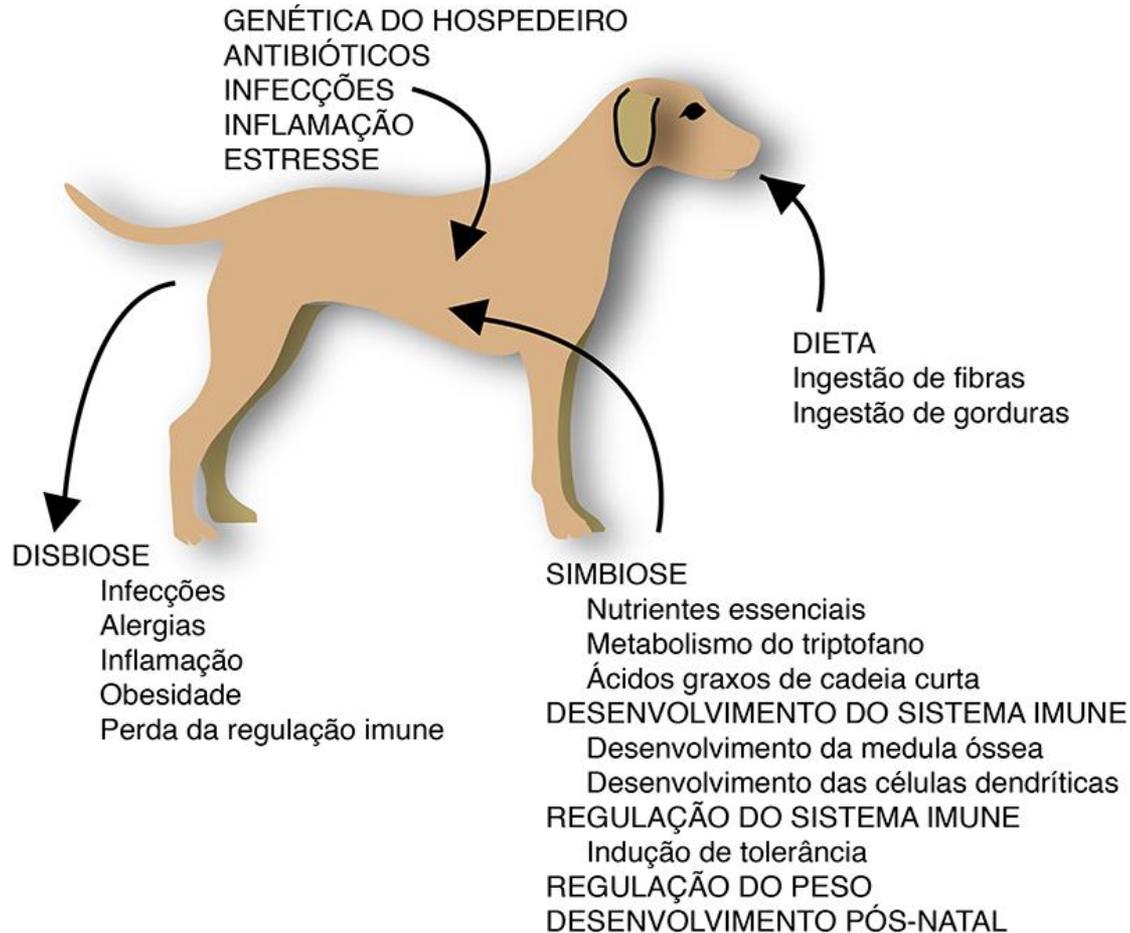


Microbiota se estabiliza aos 2 anos de idade e permanece estável ao longo da vida.

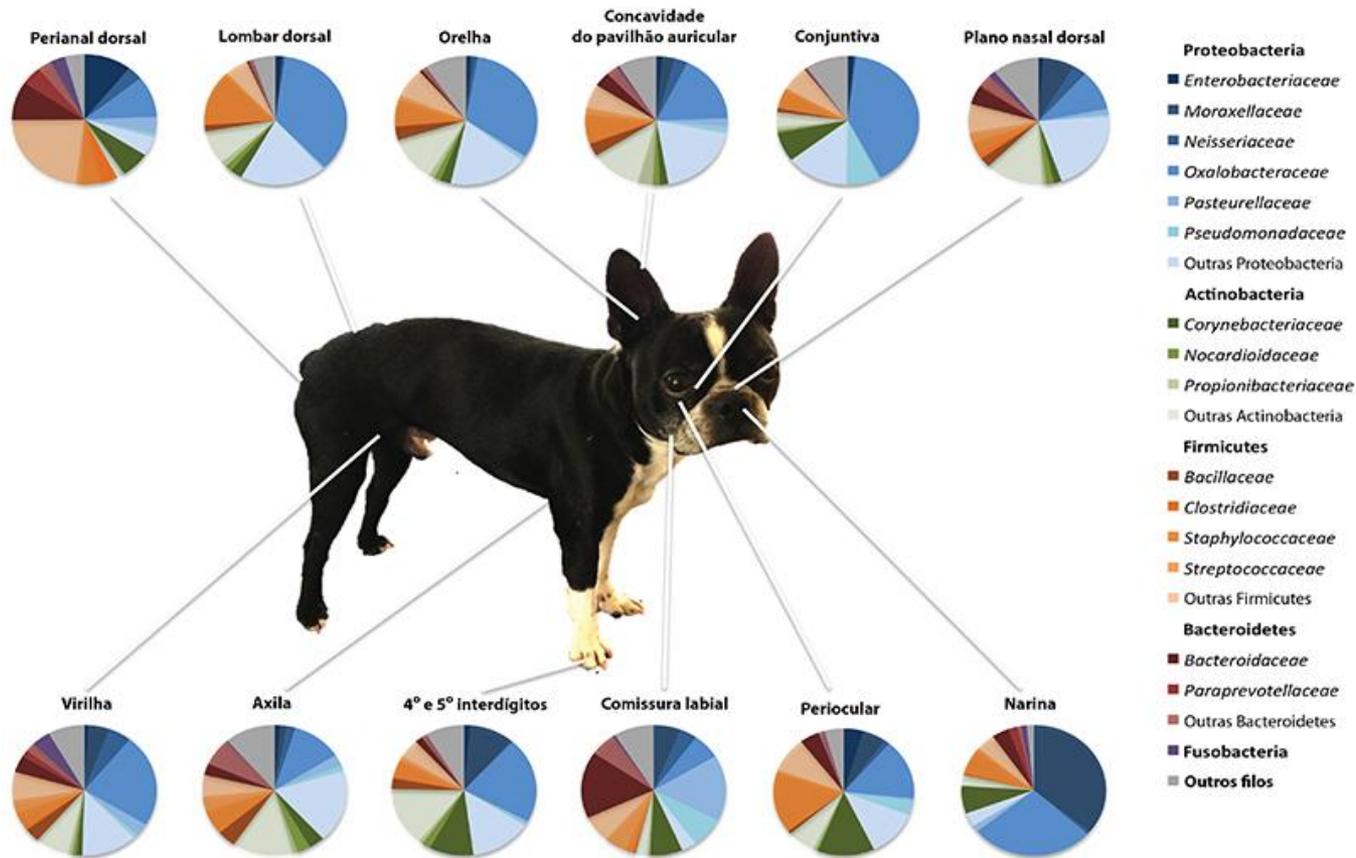


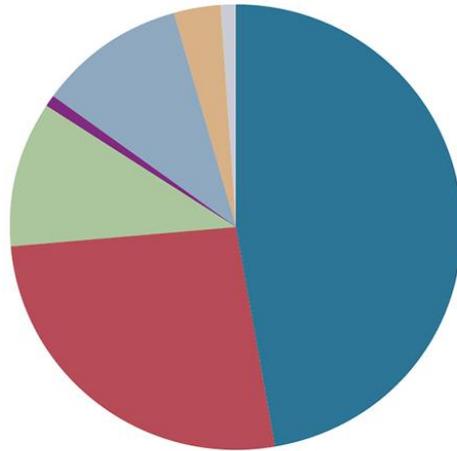
A diversidade da microbiota se altera ao longo da vida.
 Bebês – variabilidade maior (α)
 Adultos – diversidade maior (β)

Microbiota no cão

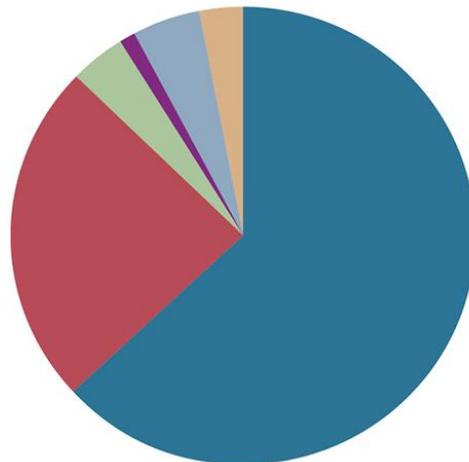


Diferente composição de acordo com o local





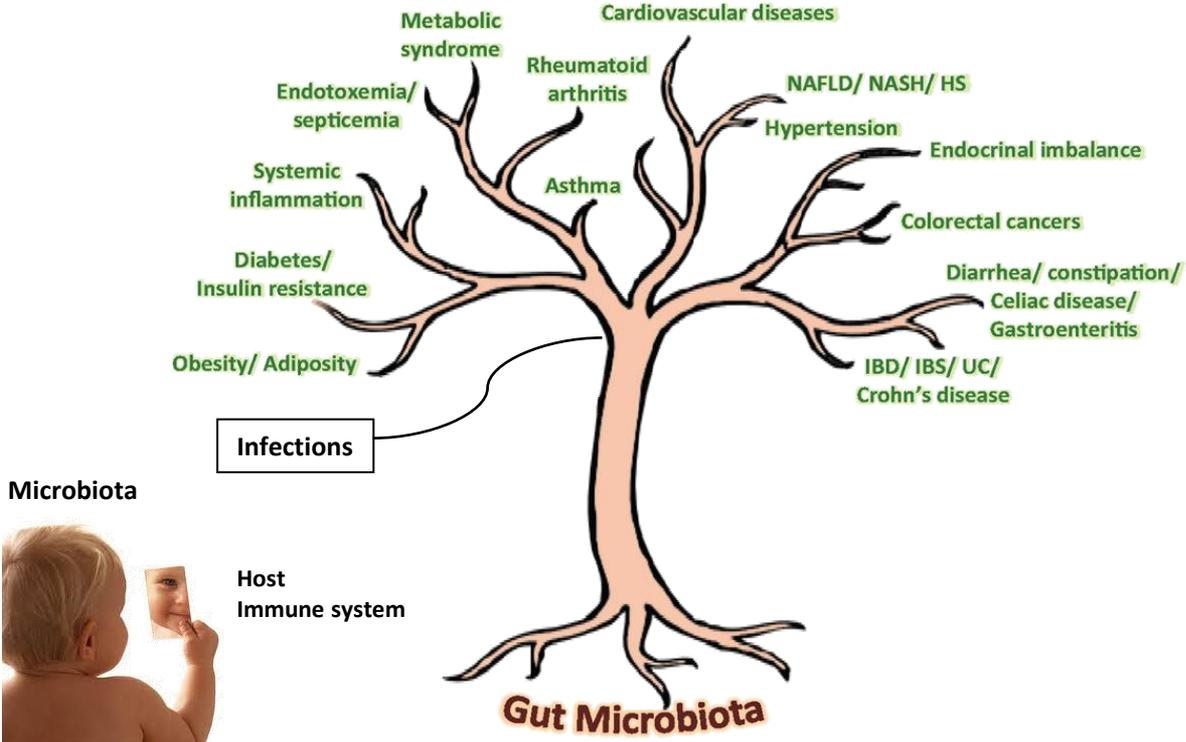
Cólon de cão normal



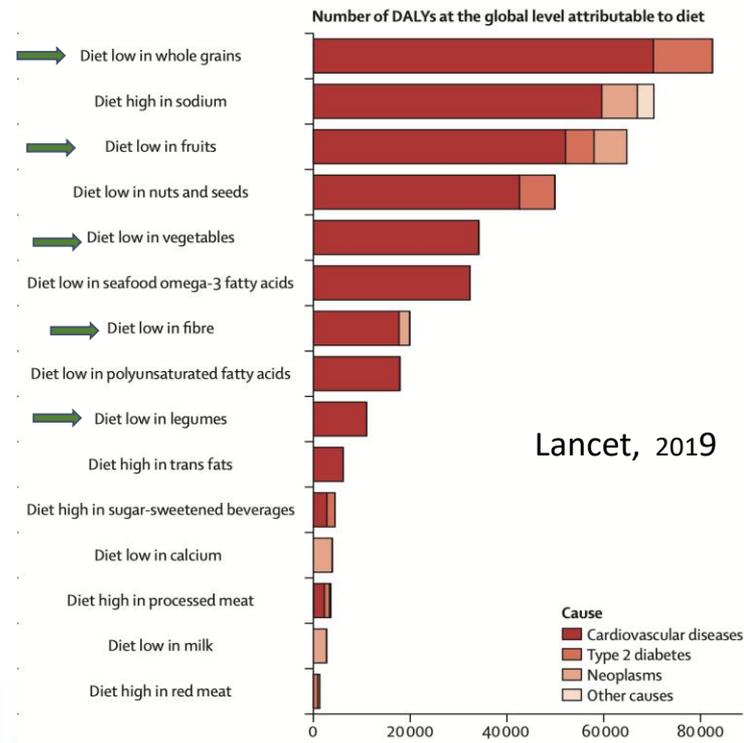
Cólon de cão com doença
intestinal inflamatória

- Firmicutes
- Proteobactéria
- Bacteroidetes
- Actinobactéria
- Spirochaetes
- Fusobactéria
- Sem classificação

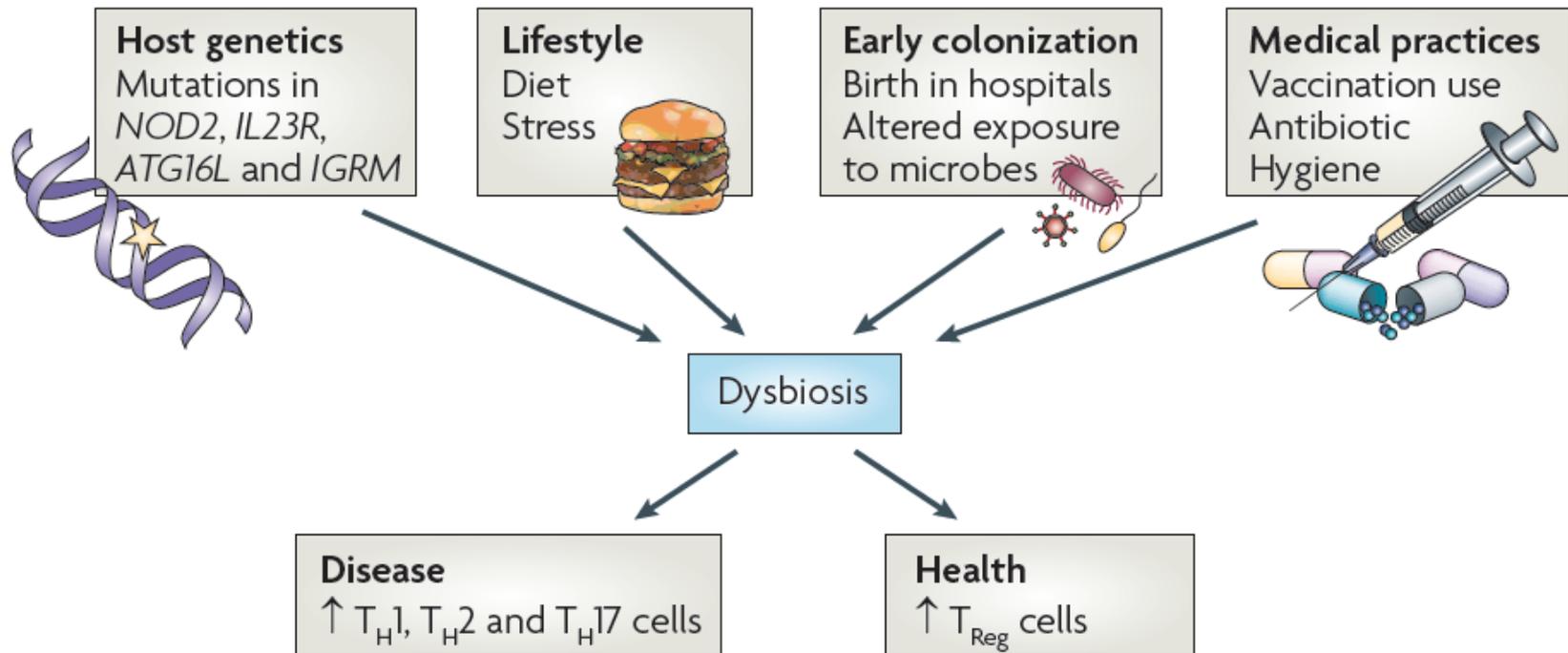
Gut microbiota x diseases



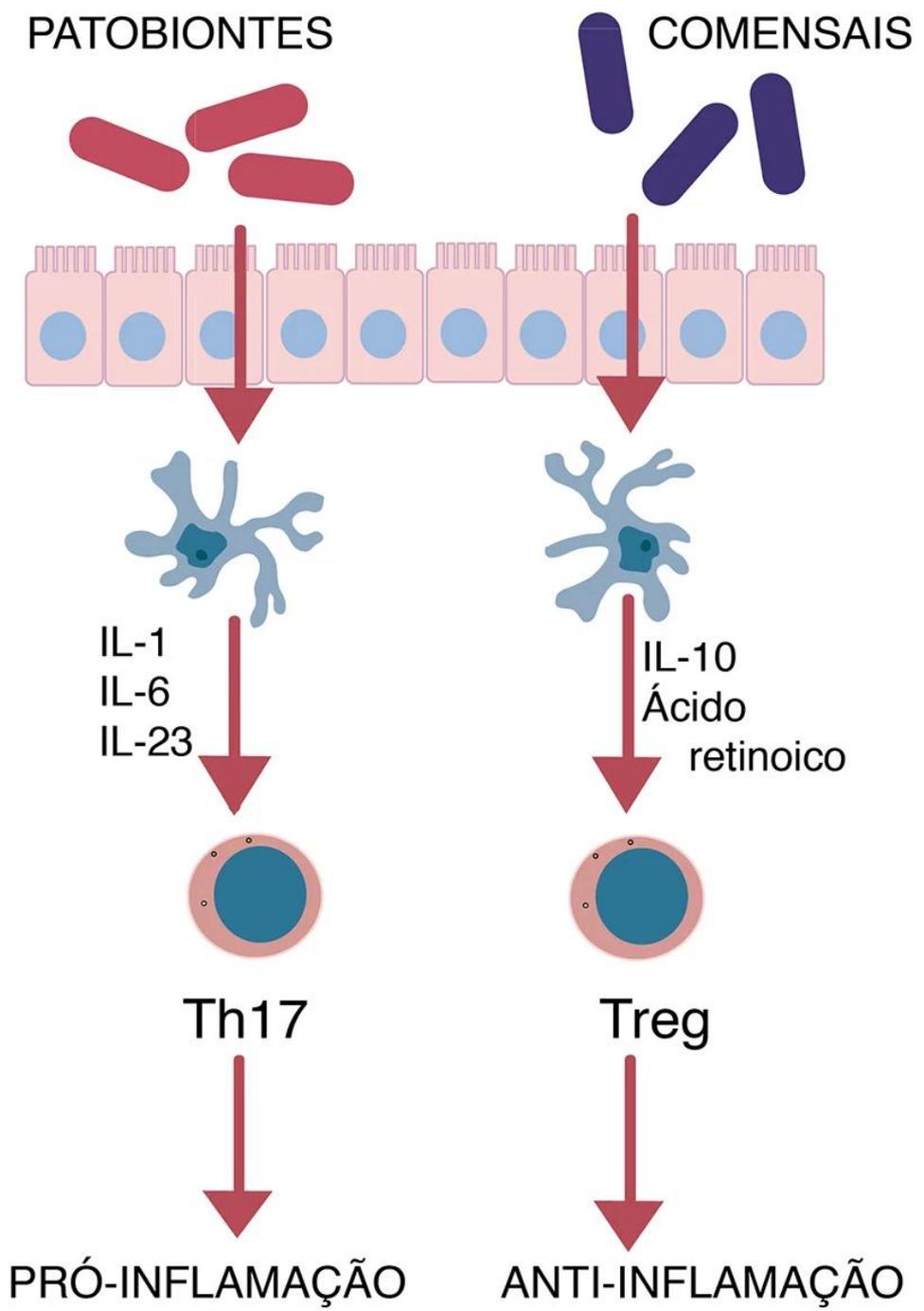
Malnutrition associated with Global health burden of disability-adjusted life Years (DALYs)



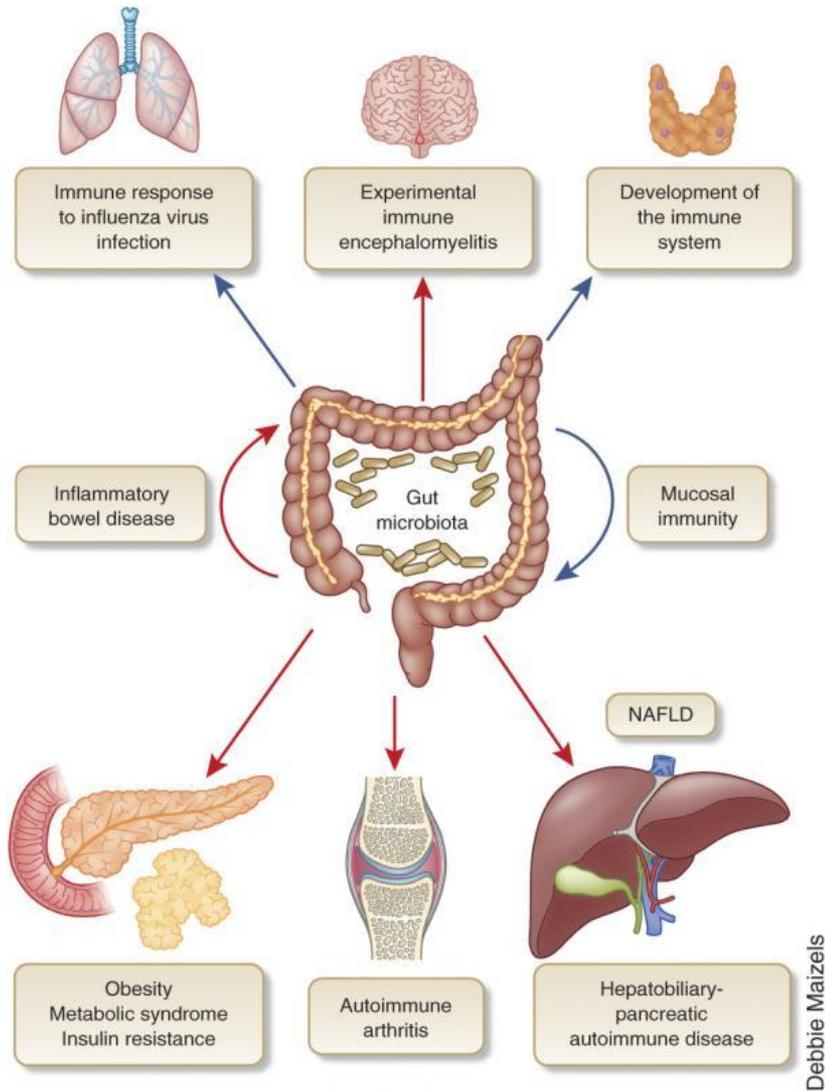
DISBIOSE



→ Increased incidence of immune-mediated disorders in developed countries could be due to alterations in the microbiota

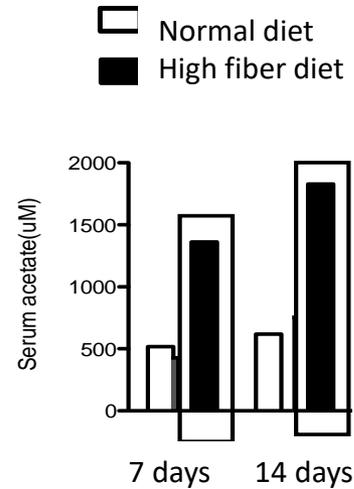
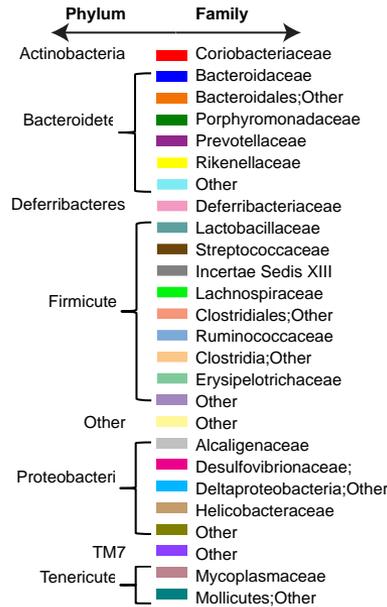
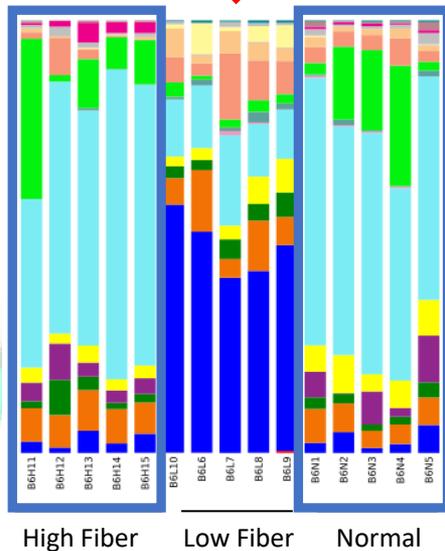


Alterações na microbiota estão associadas a várias doenças inflamatórias



- Transplantes fecais utilizados para várias doenças inflamatórias (Borody et al, 2015)
- Probióticos, prebióticos, simbióticos

Low fiber diet-induced dysbiosis



Vieira et al, *Journal Leukocyte Biology* 2016

Macia et al *Nature Communications*, 2015

Doenças inflamatórias intestinais

Doença de Crohn

- Inflamação **crônica** que afeta especialmente a parte **inferior** do **intestino delgado**
- A causa é **desconhecida**, mas pode estar ligada à imunidade. Fatores **genéticos** também podem estar envolvidos.
- **Sintomas:** dor abdominal associada à diarreia, perda de peso, febre, enfraquecimento
- **Diagnóstico:** endoscopia

Colite ulcerativa

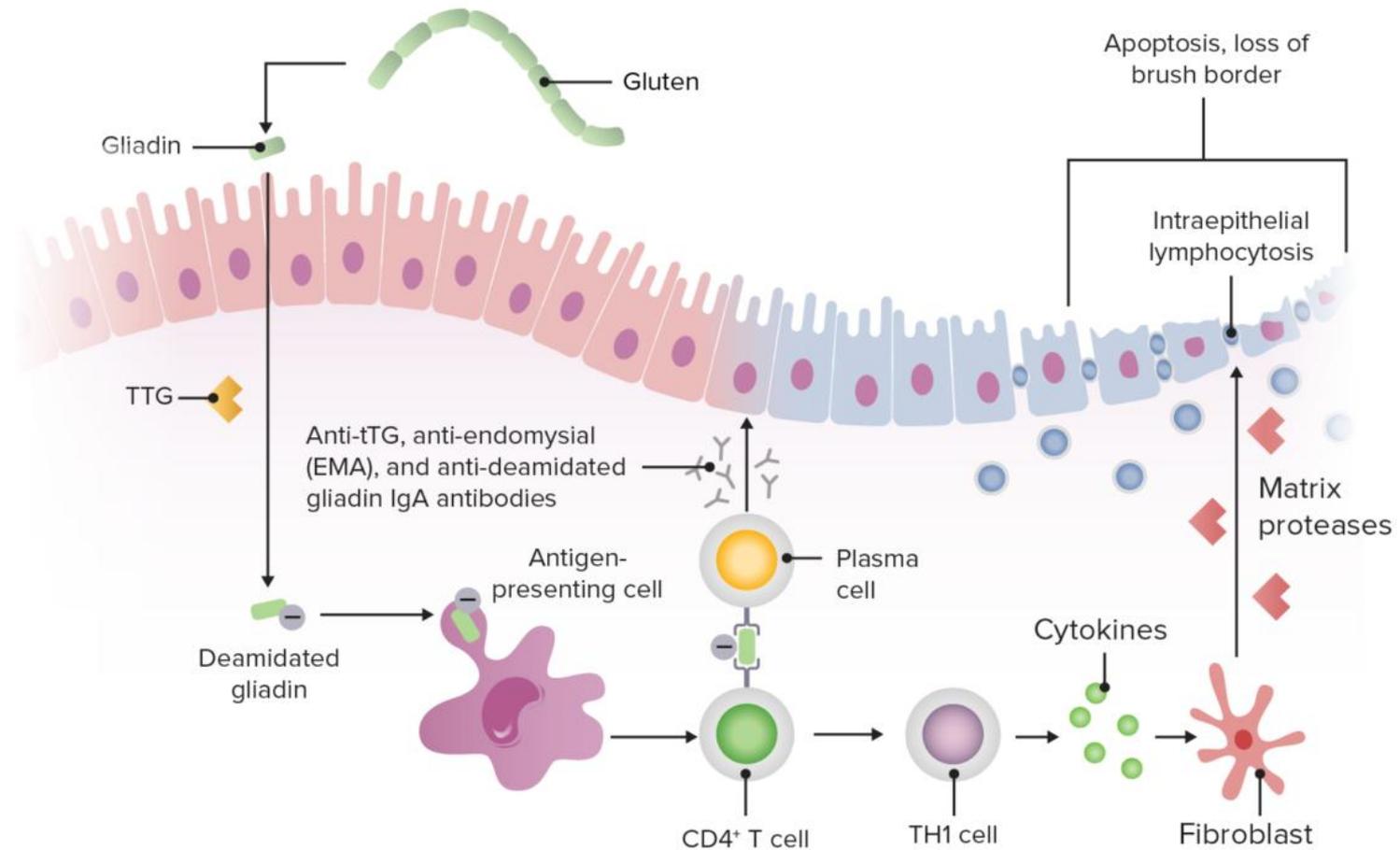
- Atinge exclusivamente a **mucosa** que reveste o **intestino grosso** e provoca **lesões** contínuas nas áreas em que se manifesta
- **Não se conhece a causa**, mas fatores **genéticos** e autoimunes estão envolvidos no seu aparecimento
- **Sintomas:** diarreia com cólicas e sangue, emagrecimento pela falta de vontade de se alimentar
- **Diagnóstico:** endoscopia e outros

➤ Tratado com anti-inflamatórios.

➤ Embora a causa seja desconhecida, alguns fatores podem estar relacionados:

- Resposta anormal da imunidade inata à microbiota intestinal.
- Treg disfuncional.
- Resposta TH1 e TH17 exacerbada.

Doenças celíaca



1. gliadina → transglutaminase tecidual (tTG) → gliadina desaminada
2. APCs apresentam gliadina desaminada (haplótipos de risco) → ativação de LT e LB.
3. plasmócito → anticorpos anti-tTG, antiendomísio e antigliadina desamidada.
4. células T auxiliares → citocinas → linfocitose intraepitelial e ativação de fibroblastos → proteases da matriz → destruição intestinal, atrofia das vilosidades → má absorção de nutrientes.



Vacinas mucosas aprovadas

Table 2

Mucosal vaccines approved for human use

- Oral live attenuated (Sabin) polio vaccine
 - Oral killed whole-cell/B-subunit cholera vaccine
 - Oral live attenuated cholera vaccine
 - Oral live attenuated typhoid vaccine
 - Oral live attenuated adenovirus vaccine (restricted to military personell)
 - Oral live attenuated rotavirus vaccine (RotaShield); withdrawn 1999 because of reported intussusception in 15 out of 800,000 vaccinated American children
 - New oral live attenuated rotavirus vaccines: Rotarix and RotaTeq
 - Nasal enterotoxin-adjuvanted inactivated influenza vaccine (Nasalflu); withdrawn in 2001 because of reported facial paresis
 - Nasal live attenuated influenza vaccine (FluMist)
-