

A EVOLUÇÃO DO SISTEMA  
IMUNE**IMUNIDADE NOS INVERTEBRADOS, 499**

Barreiras Físicas, 500

Imunidade Inata, 500

*Fagocitose*, 500*O Sistema Ativador de Profenoloxidase*, 501*Peptídeos Antimicrobianos*, 501*RNA de Interferência*, 501

Imunidade Adquirida, 502

Rejeição a Enxertos, 502

**IMUNIDADE NOS VERTEBRADOS, 502****IMUNIDADE NOS CICLÓSTOMOS, 503**

O “Big Bang” Imunológico, 504

**IMUNIDADE NOS PEIXES****MANDIBULADOS, 504**

Imunidade Inata, 504

Imunidade Adquirida, 505

*Imunoglobulinas*, 506*Imunidade Mediada por Células*, 507**IMUNIDADE NOS ANFÍBIOS, 507**

Anfíbios Urodelos, 507

Anfíbios Anuros, 508

**IMUNIDADE NOS RÉPTEIS, 510****IMUNIDADE NAS AVES, 511**

Moléculas do MHC das Aves, 511

Classes de Imunoglobulinas, 512

*Imunoglobulina Y*, 512*Imunoglobulina M*, 513*Imunoglobulina A*, 513

Geração da Diversidade de Anticorpos, 513

**IMUNIDADE NOS MONOTREMOS E****MARSUPIAIS, 514****FILOGENIA DOS MAMÍFEROS, 514****FEBRE, 515****PONTOS-CHAVE**

- Os invertebrados dependem exclusivamente dos mecanismos da imunidade inata para se protegerem dos agentes microbianos.
- Os peixes sem mandíbula também dependem exclusivamente da imunidade inata, embora possuam um sistema diverso de receptor de ligação a antígenos.
- Os peixes cartilaginosos e os peixes ósseos são os primeiros vertebrados a apresentar um sistema imune adquirido. Sugere-se que isso ocorreu de maneira relativamente repentina durante o processo evolutivo, com a incorporação pelo genoma dos peixes de um transposon microbiano contendo genes de recombinase.
- Os peixes mandibulados e os vertebrados mais evoluídos possuem sistemas imunes mediados por anticorpos e por células, embora os detalhes sejam diferentes entre as espécies.
- A principal imunoglobulina do frango é denominada imunoglobulina Y (IgY), devido às diferenças estruturais da IgG dos mamíferos.

**T**odos os animais, a despeito de sua complexidade ou história evolutiva, devem ser capazes de se defender dos organismos invasores que podem deixá-los doentes ou matá-los. Tanto invertebrados quanto vertebrados possuem defesas imunes inatas desencadeadas por “sinais de perigo”, tais como dano tecidual ou invasão microbiana. O sistema imune adquirido, no entanto, evoluiu apenas após o surgimento dos peixes sem mandíbula ou ciclóstomos. Assim, os mecanismos imunes adquiridos, tais como a produção de anticorpos ou os linfócitos responsivos a antígenos, somente são encontrados nos vertebrados avançados.

**IMUNIDADE NOS INVERTEBRADOS**

Os invertebrados são classificados de acordo com a presença de uma cavidade corpórea ou celoma (Fig. 37-1). Os acelomados incluem as esponjas e celenterados (águas-vivas e anêmonas do mar). Os celomados desenvolveram-se em duas linhas principais. Uma linha inclui os anelídeos, moluscos e artrópodes, coletiva-

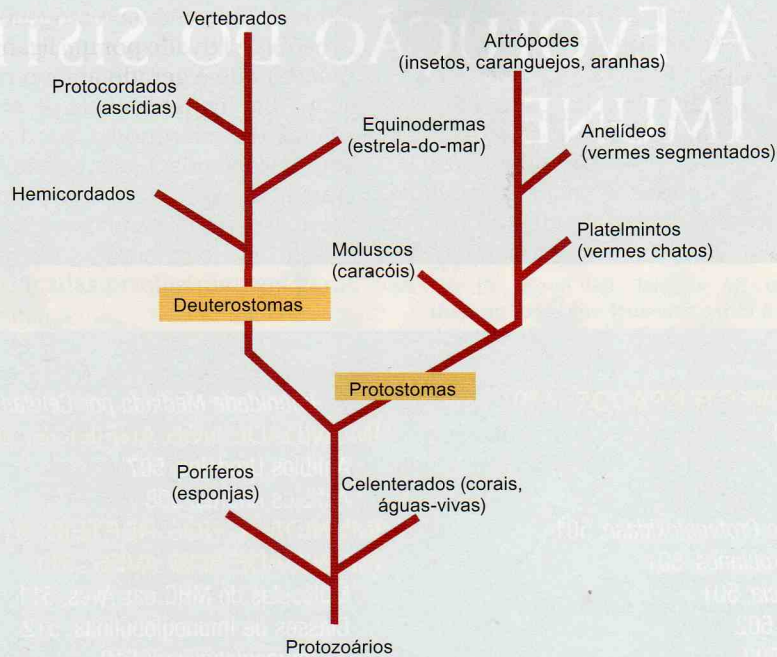


FIGURA 37-1 ■ Árvore filogenética mostrando as principais divisões dos invertebrados.

mente denominados protostomas. A outra linha, incluindo os equinodermos, protocordados e cordados, é denominada deuterostomas. Os vertebrados evoluíram a partir de ancestrais semelhantes aos deuterostomas. Os invertebrados dependem exclusivamente das barreiras físicas e das defesas imunes inatas para excluir os invasores microbianos.

## Barreiras Físicas

As barreiras físicas são as mais evidentes nos artrópodes. Desta forma, os exoesqueletos quitinosos podem proteger os artrópodes de todo tipo de ofensiva. O caranguejo-ferradura (*horseshoe crab*) (*Limulus polyphemus*) não somente possui um exoesqueleto duro, como também pode proteger a si mesmo das bactérias na água poluída pela secreção de uma glicoproteína especializada por meio dos poros de sua carapaça. Ao entrar em contato com endotoxinas, essa glicoproteína coagula, vedando os poros e imobilizando qualquer bactéria invasora. Da mesma forma, se a bactéria entrar na hemolinfa do caranguejo-ferradura, fatores de coagulação são ativados por lipopolissacarídeos, resultando na formação de um coágulo local que captura os invasores. Outros invertebrados como os celenterados, os anelídeos, os moluscos e os equinodermos secretam massas de muco viscoso, quando são atacados, imobilizando assim invasores potenciais. Este muco pode conter defensinas e outros peptídeos antimicrobianos.

## Imunidade Inata

Os invertebrados utilizam três mecanismos de defesa inata principais: fagocitose por células do sangue ou da

cavidade corpórea; cascatas de proteases que levam à coagulação dos fluidos, à formação de melanina e à opsonização; e a produção de uma ampla variedade de peptídeos antimicrobianos. Devido à sua dependência da imunidade inata, os invertebrados desenvolveram múltiplos complexos de receptores de reconhecimento de padrões. Assim, no ouriço do mar (*Strongylocentrus purpuratus*) existem 222 genes diferentes para os receptores tipo *Toll* (TLR) e mais de 200 genes para o tipo NOD. Os TLRs foram identificados até mesmo em invertebrados menos evoluídos, como as esponjas.

## Fagocitose

Em 1884, Eli Mechnikoff descobriu a fagocitose quando examinava larvas de estrela-do-mar. Ele mostrou que células móveis atacavam espinhos de rosa introduzidos no celoma dessas larvas. Desde então, a fagocitose mostrou ser um mecanismo de defesa universal dentro do reino animal. Muitos tipos diferentes de fagócitos são reconhecidos nos invertebrados celomados. Elas estão presentes no sangue (hemócitos) e na cavidade corpórea (celomócitos). Estas células comportam-se como os fagócitos dos mamíferos e são responsáveis por quimiotaxia, aderência, ingestão e digestão. Elas contêm proteases e, em alguns invertebrados como os moluscos, produzem potentes oxidantes. Alguns fagócitos podem se agregar e tampar feridas para impedir sangramento. Em alguns casos, onde as células fagocitárias não podem controlá-los, os invasores podem ser isolados em nódulos celulares até certo ponto semelhantes aos granulomas dos vertebrados.

Os invertebrados podem produzir moléculas semelhantes às citocinas. Uma dessas moléculas, uma mo-

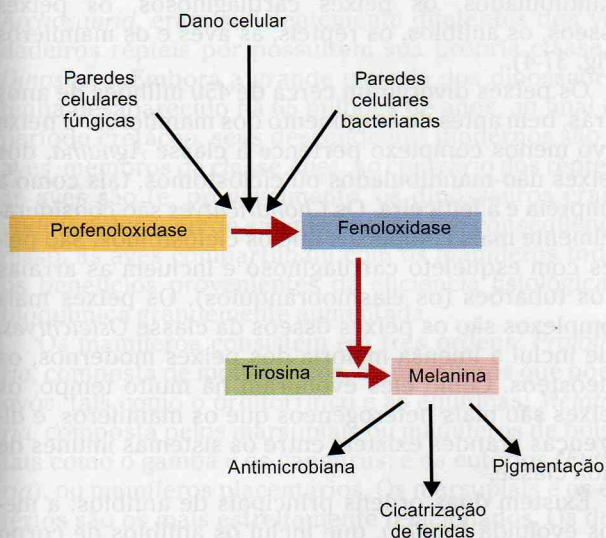
lécula semelhante à interleucina-1 (IL-1), pode ativar fagócitos e estimular a fagocitose. A estimulação de hemócitos de moluscos por lipopolissacarídeos pode induzir a liberação de proteínas similares ao fator de necrose tumoral (TNF), à IL-6 ou à IL-1. Proteínas de adesão de superfície celular, tais como as integrinas, são encontradas em artrópodes como a *Drosophila* ou lagosta de água fresca. Elas podem promover a desgranulação dos hemócitos e a ativação do sistema profenoloxidase.

### O Sistema Ativador de Profenoloxidase

O sistema ativador de profenoloxidase (proPO), encontrado na hemolinfa de artrópodes, é constituído por múltiplas enzimas que, quando ativadas, geram uma cascata de proteases, levando à produção de pigmento polimérico de melanina inerte (Fig. 37-2). O sistema é ativado pela interação de lipopolissacarídeos, peptidoglicanos e glicanas, provenientes de bactérias ou fungos, com os hemócitos. A ativação também ocorre por meio de proteases cuticulares e da hemolinfa. O sistema proPO gera fenoloxidase, uma enzima viscosa que se liga a superfícies estranhas. Esta enzima age sobre a tirosina e a dopamina para gerar melanina e depositá-la ao redor dos locais inflamados. O polímero de melanina é depositado nos tecidos circundantes aos invasores para formar uma barreira impermeável que bloqueia a entrada de nutrientes. Agentes oxidantes e outras moléculas antimicrobianas são gerados durante a síntese de melanina.

### Peptídeos Antimicrobianos

Quando insetos são injetados com bactérias, seus PAMPs são reconhecidos por receptores tipo *Toll* e de outros tipos. Ao contrário dos mamíferos, nos quais os



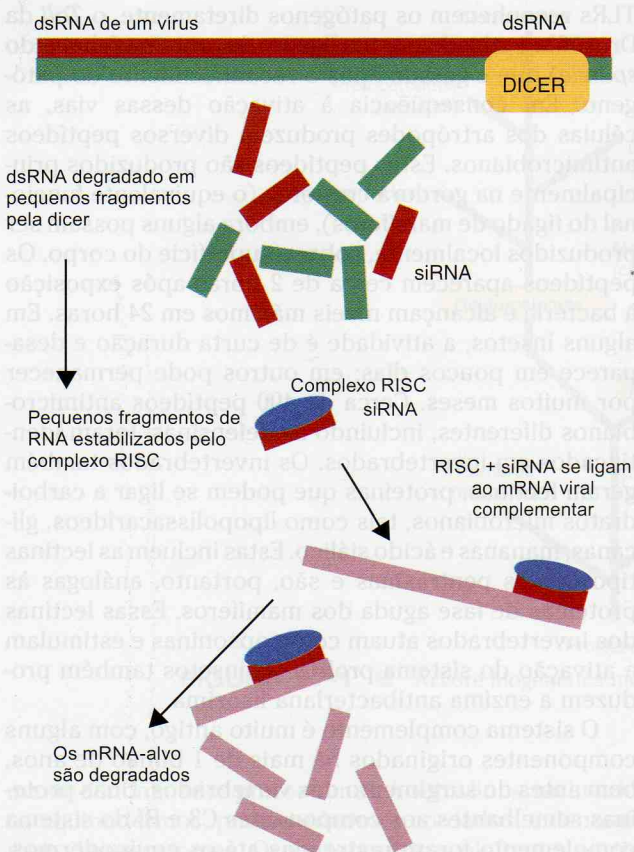
**FIGURA 37-2** ■ A via profenoloxidase é um sistema de cascata enzimática encontrada em muitos invertebrados, nos quais possui um papel-chave na defesa.

TLRs reconhecem os patógenos diretamente, o *Toll* da *Drosófila* é ativado por um ligante de proteína (chamado *spätzle*) que é gerado após o reconhecimento do patógeno. Em consequência à ativação dessas vias, as células dos artrópodes produzem diversos peptídeos antimicrobianos. Estes peptídeos são produzidos principalmente na gordura corpórea (o equivalente funcional do fígado de mamíferos), embora alguns possam ser produzidos localmente, sobre a superfície do corpo. Os peptídeos aparecem cerca de 2 horas após exposição à bactéria e alcançam níveis máximos em 24 horas. Em alguns insetos, a atividade é de curta duração e desaparece em poucos dias; em outros pode permanecer por muitos meses. Cerca de 400 peptídeos antimicrobianos diferentes, incluindo as defensinas, foram identificados em invertebrados. Os invertebrados também geram lectinas, proteínas que podem se ligar a carboidratos microbianos, tais como lipopolissacarídeos, glicanas, mananas e ácido siálico. Estas incluem as lectinas tipo C e as pentraxinas e são, portanto, análogas às proteínas de fase aguda dos mamíferos. Essas lectinas dos invertebrados atuam como opsoninas e estimulam a ativação do sistema proPO. Os insetos também produzem a enzima antibacteriana lisozima.

O sistema complemento é muito antigo, com alguns componentes originados há mais de 1 bilhão de anos, bem antes do surgimento dos vertebrados. Duas proteínas semelhantes aos componentes C3 e Bf do sistema complemento foram rastreadas até os equinodermos. É provável que o C3 ancestral fosse ativado proteoliticamente pelo Bf e, então, formasse uma ponte covalente tioéster com moléculas estranhas. Quando os cordados surgiram há 900 milhões de anos, moléculas como a lectina ligante de manose (MBL) e as serino proteases associadas à MBL (MASPs) foram recrutadas para o sistema complemento para estabelecer a via das lectinas. Proteínas homólogas à MBL e às ficolinas, duas MASPs, C3, C2/fator B e um receptor para C3, foram identificadas nos ascídios (*sea squirts*). Desta forma, os invertebrados possuem tanto a via alternativa quanto a via das lectinas. Uma vez ativado por essas vias, o sistema complemento dos invertebrados pode opsonizar os micróbios invasores.

### RNA de Interferência

A via intracelular do RNA de interferência (RNAi) é um sistema de silenciamento de genes que parece ter evoluído para impedir que os vírus se replicassem dentro das células infectadas. É especialmente importante como um sistema de defesa nos invertebrados (Fig. 37-3). O RNA ocorre normalmente na forma de fita simples. Longos segmentos de RNA de dupla fita (dsRNA, do inglês, *double strand RNA*) não estão presentes na célula eucariótica saudável, mas ocorrem se a célula for infectada por um vírus RNA. Assim, se um vírus induzir uma célula a produzir dsRNA, ele é rapidamente degradado em muitos fragmentos curtos por uma enzima chamada *dicer*. Esses fragmentos, ou pequenos RNAs de interferência (siRNAs, do inglês, *small-interfering RNA*), são



**FIGURA 37-3** ■ O mecanismo do RNA de interferência, um importante mecanismo de defesa nos invertebrados (e plantas). O RNA de fita dupla não deve se apresentar no citoplasma celular normal, saudável. Sua presença indica que um RNA viral está infectando a célula. Logo, esse dsRNA é degradado por uma enzima denominada *dicer* em pequenos fragmentos (pequenos RNA de interferência). Os pequenos fragmentos são então estabilizados por um conjunto de proteínas, denominado complexo RISC. Metade desses fragmentos de siRNA será complementar aos mRNAs virais dentro da célula. Como resultado, eles se ligarão especificamente ao mRNA. Isto ocorrendo, o mRNA será degradado.

então estabilizados por um conjunto de proteínas denominadas complexo RISC. Metade desses siRNAs é complementar aos RNAs mensageiros virais e, como resultado, pode servir de molde para identificá-los. Uma vez que os mRNAs são identificados pela ligação aos complexos RISC, eles são rapidamente degradados e a replicação viral é bloqueada.

## Imunidade Adquirida

Os invertebrados não fabricam anticorpos. A habilidade de montar respostas imunes adaptativas surgiu com os vertebrados mandibulados. Contudo, proteínas da superfamília das imunoglobulinas foram detectadas em artrópodes, equinodermos e moluscos, bem como nos protocordados. Algumas dessas proteínas podem se ligar especificamente a moléculas estranhas. Assim, nos insetos, há uma proteína pertencente à superfamília das imunoglobulinas denominada Dscam, que pode

ser extensivamente diversificada por processamento (*splicing*) alternativo. As isoformas de Dscam estão expressas nos tecidos imunes e são secretadas como proteínas solúveis na hemolinfa. A *Drosófila* tem potencial para expressar mais de 18.000 isoformas dessa molécula. Os hemócitos podem, individualmente, expressar 14 a 50 formas de Dscam, que podem se ligar às bactérias e estimular sua fagocitose. Não se sabe como o auto-reconhecimento é evitado na Dscam.

## Rejeição a Enxertos

Os invertebrados podem rejeitar alo e xenoenxertos. Por exemplo, a rejeição ao aloenxerto mediado por células ocorre nas esponjas, nos celenterados, anelídeos e equinodermos. Portanto, quando duas colônias idênticas de esponjas são colocadas lado a lado e postas para crescer em contato uma com a outra, não ocorre reação. Se, entretanto, esponjas de duas colônias diferentes forem colocadas para crescer em contato, ocorre destruição local de tecido ao longo da área de contato com cada esponja tentando destruir a outra.

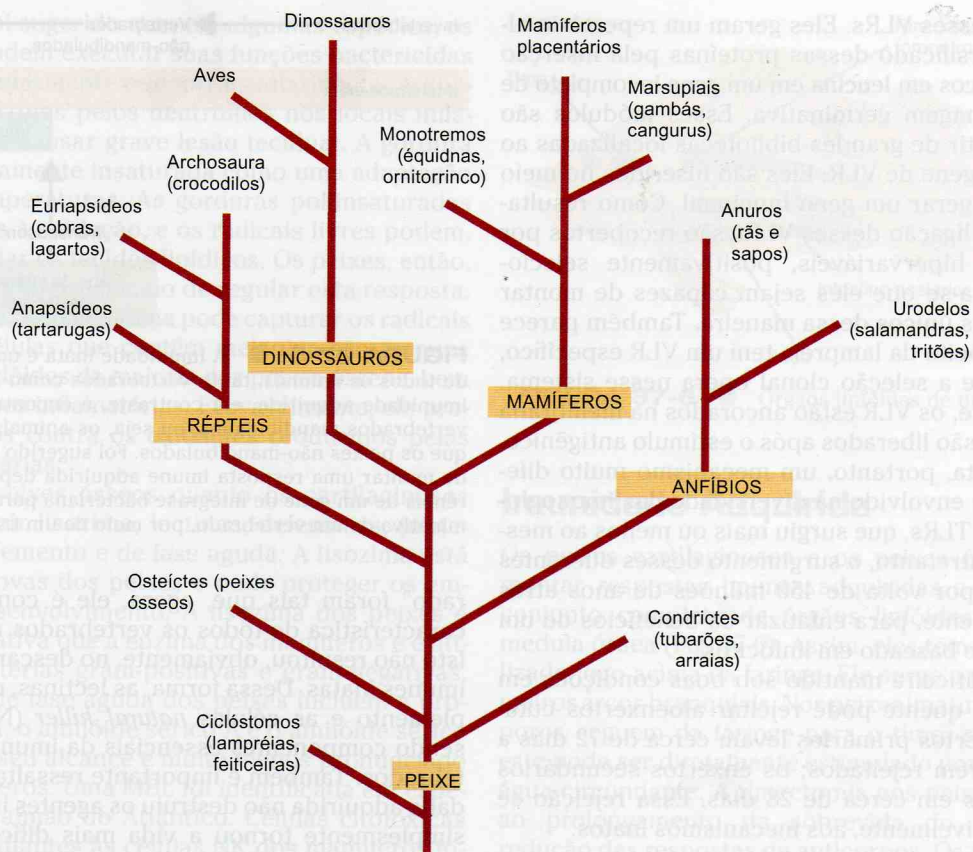
Os anelídeos, tais como as minhocas, podem rejeitar alo e xenoenxertos. A rejeição aos xenoenxertos (de outras espécies de minhocas) leva cerca de 20 dias. Células invadem o enxerto. O tecido enxertado fica branco, inchado, torna-se edematoso e, eventualmente, morre. Se o verme receptor for enxertado com um segundo pedaço de pele do mesmo doador, o segundo enxerto é rejeitado mais rapidamente que o primeiro. Esta habilidade de rejeitar rapidamente o segundo enxerto pode ser transferida adotivamente por celomócitos de animais sensibilizados.

## IMUNIDADE NOS VERTEBRADOS

Há sete classes de vertebrados vivos: os peixes não-mandibulados, os peixes cartilaginosos, os peixes ósseos, os anfíbios, os répteis, as aves e os mamíferos (Fig. 37-4).

Os peixes divergiram cerca de 450 milhões de anos atrás, bem antes do surgimento dos mamíferos. O peixe vivo menos complexo pertence à classe *Agnatha*, dos peixes não-mandibulados ou ciclóstomos, tais como a lampréia e a feiticeira. Os *Chondrichthyes* são consideravelmente mais complexos que os ciclóstomos. São peixes com esqueleto cartilaginoso e incluem as arraias e os tubarões (os elasmobrânquios). Os peixes mais complexos são os peixes ósseos da classe *Osteichthyes*, que inclui a imensa maioria dos peixes modernos, os teleósteos. Como eles evoluíram há muito tempo, os peixes são mais heterogêneos que os mamíferos, e diferenças grandes existem entre os sistemas imunes de cada classe.

Existem duas ordens principais de anfíbios: a menos evoluída *Urodela*, que inclui os anfíbios de corpo alongado, com cauda, tais como as salamandras e os tritões; e a *Anura*, uma ordem avançada e sem cauda que inclui os sapos e as rãs. Também apresentam di-



**FIGURA 37-4** ■ Uma árvore filogenética simplificada mostrando as principais relações entre os vertebrados.

ferenças significativas quanto às suas capacidades imunológicas.

Três subclasses de répteis existem atualmente: a *Anapsida*, que inclui as tartarugas; a *Lepidosauria*, que consiste em lagartos e cobras; e *Archosauria*, que inclui os crocodilos e os jacarés.

Os dinossauros, embora relacionados aos répteis *Archosauria*, eram suficientemente diferentes dos verdadeiros répteis por possuírem sua própria classe, a *Dinosauria*. Embora a grande maioria dos dinossauros tenha desaparecido há 65 milhões de anos, ao final do período cretáceo, seus descendentes modernos são as aves, membros da classe *Aves*. Ao contrário dos répteis, as aves são (e, provavelmente, os dinossauros eram) endotérmicos, ou de sangue quente. Em consequência disso, as aves compartilham com os mamíferos todos os benefícios provenientes da eficiência fisiológica e bioquímica grandemente aumentada.

Os mamíferos consistem em três ordens: *Prototheria*, composta de monotremos, ou mamíferos que põem ovos, tais como o ornitorrinco e as équidnas; *Metatheria*, composta pelos marsupiais ou mamíferos de bolsa, tais como o gambá e os cangurus; e os eutérios (*Eutheria*), ou mamíferos placentários. Os marsupiais e os eutérios são os mais estreitamente relacionados. Os dois grupos divergiram há cerca de 172 milhões de anos. A maior parte deste livro é dedicada à imunologia dos mamíferos da ordem *Eutheria*.

## IMUNIDADE NOS CICLÓSTOMOS

Os mais primitivos dentre os vertebrados vivos são os ciclóstomos, os peixes sem mandíbula, incluindo as lampréias e as feiticeiras. Esses peixes fabricam muitos tipos diferentes de proteínas que podem se ligar às bactérias e estimular a fagocitose pelos leucócitos. Algumas dessas proteínas são semelhantes às proteínas do sistema complemento. Suas seqüências de aminoácidos lembram os componentes C3, C4 e C5, e contêm uma ponte tioéster oculta. As lampréias têm um ortólogo do C1q de mamíferos que age como uma lectina. Os ciclóstomos possuem tanto a via alternativa quanto a via das lectinas, mas não têm os componentes líticos do complemento. O sistema complemento das lampréias promove, então, mais a fagocitose do que a lise. O C3 da lampréia tem características do ancestral comum de C3 e C4, e o fator B da lampréia lembra o ancestral comum de fator B e C2.

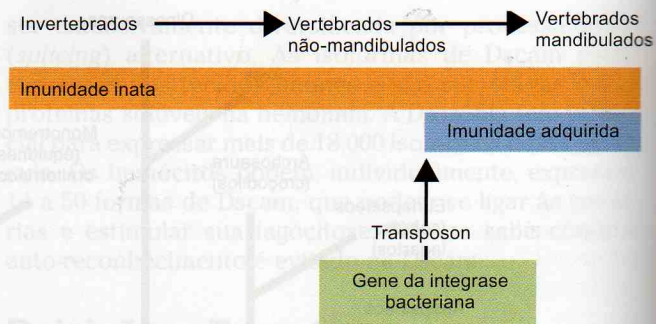
Os ciclóstomos têm dois tipos de leucócitos sanguíneos. Uma população é semelhante aos monócitos. A outra população se assemelha aos linfócitos e expressam receptores variáveis de linfócitos (VLRs, do inglês, *variable lymphocyte receptors*). Apesar de os ciclóstomos não poderem produzir imunoglobulinas, eles geram uma grande diversidade de moléculas ligadoras de antígenos por meio de rearranjos do DNA

que codifica esses VLRs. Eles geram um repertório altamente diversificado dessas proteínas pela inserção de módulos ricos em leucina em um gene incompleto de VLRs em linhagem germinativa. Esses módulos são obtidos a partir de grandes bibliotecas localizadas ao final de cada gene de VLR. Eles são inseridos no meio do VLR para gerar um gene funcional. Como resultado, o sítio de ligação desses VLRs são recobertos por aminoácidos hipervariáveis, positivamente selecionados. Calcula-se que eles sejam capazes de montar  $10^{14}$  receptores únicos dessa maneira. Também parece que cada linfócito da lampréia tem um VLR específico, sugerindo que a seleção clonal opera nesse sistema. Provavelmente, os VLR estão ancorados na membrana do linfócito e são liberados após o estímulo antigênico. Isto representa, portanto, um mecanismo muito diferente daquele envolvido na diversidade das imunoglobulinas e dos TLRs, que surgiu mais ou menos ao mesmo tempo. Entretanto, o surgimento desses diferentes mecanismos por volta de 450 milhões de anos atrás serve, novamente, para enfatizar os benefícios de um sistema imune baseado em linfócitos.

O peixe feiteira mantido sob boas condições em um ambiente quente pode rejeitar aloenxertos cutâneos. Os enxertos primários levam cerca de 72 dias a  $18^{\circ}\text{C}$  para serem rejeitados; os enxertos secundários são rejeitados em cerca de 28 dias. Essa rejeição se deve, presumivelmente, aos mecanismos inatos.

## O “Big Bang” Imunológico

O sistema imune adquirido depende da existência de dois sistemas-chave de receptores de antígenos, o receptor de antígeno da célula T (TCR) e o receptor de antígeno da célula B. Os dois necessitam do rearranjo dos segmentos gênicos V, D e J para formar receptores funcionais de ligação ao antígeno. Os invertebrados e os ciclóstomos não podem rearranjar esses genes, mas os peixes cartilaginosos e ósseos podem. Em algum momento durante os 100 milhões de anos entre a divergência dos vertebrados não-mandibulados e mandibulados e o aparecimento dos peixes cartilaginosos e ósseos, cerca de 450 milhões de anos, surgiu a maquinaria enzimática necessária para a recombinação dos segmentos gênicos V. O mecanismo deste repentino aparecimento não é conhecido. Foi sugerido, no entanto, que um transposon carregando os precursores dos genes ativadores de recombinases (RAG-1 e RAG-2; mais provavelmente, uma integrase bacteriana) foi inserido com sucesso em um gene semelhante ao V da superfamília das imunoglobulinas, na linhagem germinativa dos primeiros vertebrados mandibulados (Fig. 37-5). Como resultado, o gene da imunoglobulina poderia ser expresso somente após o processamento mediado pelas enzimas RAG. Assim surgiu, em um importante salto evolucionário, a habilidade para gerar sítios de ligação ao antígeno e imunoglobulinas funcionais. Isto permitiu aos animais, pela primeira vez, responder especificamente aos antígenos previamente encontrados. As vantagens desse novo sistema “melho-



**FIGURA 37-5** ■ A imunidade inata é uma característica de todos os animais, tanto vertebrados como invertebrados. A imunidade adquirida, em contraste, é encontrada apenas nos vertebrados mandibulados, ou seja, os animais mais evoluídos que os peixes não-mandibulados. Foi sugerido que a habilidade de montar uma resposta imune adquirida depende da transferência de um gene de integrase bacteriana para a linhagem germinativa de um vertebrado, por meio de um transposon.

rado” foram tais que, agora, ele é considerado uma característica de todos os vertebrados mandibulados. Isto não resultou, obviamente, no descarte das defesas imunes inatas. Dessa forma, as lectinas, o sistema complemento e as células *natural killer* (NK) continuam sendo componentes essenciais da imunidade dos vertebrados. Também é importante ressaltar que a imunidade adquirida não destruiu os agentes infecciosos. Ela simplesmente tornou a vida mais difícil para eles e, assim, conferiu uma vantagem seletiva incrementada aos animais com tais defesas. A evolução é, entretanto, de visão limitada. A vantagem seletiva da imunidade adquirida veio com custos concomitantes – o potencial para doenças auto-imunes.

## IMUNIDADE NOS PEIXES MANDIBULADOS

### Imunidade Inata

A fagocitose nos peixes é similar à descrita em mamíferos. Por exemplo, os granulócitos dos peixes entram primeiro nos locais inflamatórios e seus números atingem o pico em cerca de 12 a 24 horas. Isto é seguido por uma onda tardia de macrófagos e possivelmente linfócitos. Os granulócitos são atraídos por produtos microbianos e mediadores teciduais solúveis. A resposta tende a ser prolongada e o número de macrófagos alcança seu pico em 2 a 7 dias. Nos peixes, os granulócitos se originam do rim anterior, enquanto os macrófagos se desenvolvem a partir dos monócitos sanguíneos. Os macrófagos dos peixes são encontrados em muitos locais, especialmente no mesentério, elipsóides espênicos, rim e átrio do coração.

Os neutrófilos dos teleósteos são similares em morfologia e, provavelmente, em função aos neutrófilos dos mamíferos e são vistos frequentemente nas lesões inflamatórias. Esses neutrófilos são fagocíticos e seus números aumentam em resposta a infecções. Eles possuem a maior parte das enzimas dos neutrófilos dos

mamíferos. Foi sugerido que, em algumas espécies, os neutrófilos podem executar suas funções bactericidas mais extracelularmente que intracelularmente. A liberação de oxidantes pelos neutrófilos nos locais inflamatórios pode causar grave lesão tecidual. A gordura do peixe é altamente insaturada como uma adaptação às baixas temperaturas. As gorduras poliinsaturadas são propensas à oxidação, e os radicais livres podem, portanto, oxidar os tecidos lipídicos. Os peixes, então, requerem um poderoso meio de regular esta resposta. O pigmento marrom melanina pode capturar os radicais livres, e as células que contêm melanina são comuns nos tecidos linfóides da maioria dos peixes ósseos, bem como nas lesões inflamatórias. Provavelmente, ele protege os tecidos contra os oxidantes produzidos pelas células fagocitárias.

Tanto os peixes ósseos quanto os cartilagosos podem produzir lisozima, lectinas, defensinas, proteínas do complemento e de fase aguda. A lisozima está presente nas ovas dos peixes e pode proteger os embriões em desenvolvimento. A lisozima dos peixes é muito mais reativa que a enzima dos mamíferos e é ativa contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. As proteínas de fase aguda dos peixes incluem a proteína C-reativa, o amilóide sérico A e o amilóide sérico P. Entretanto, seu alcance é muito menos pronunciado que em mamíferos. Uma MBL foi identificada em espécies como o salmão do Atlântico. Células citotóxicas naturais semelhantes às células NK dos mamíferos foram descritas nos peixes ósseos. Elas são produzidas no rim anterior.

Os peixes cartilagosos e ósseos possuem todas as três vias de ativação do sistema complemento: a clássica, a alternativa e a das lectinas. As duplicações gênicas necessárias para o desenvolvimento da via clássica surgiram antes do aparecimento dos peixes cartilagosos. A via lítica dos peixes gera um complexo de ataque à membrana similar àquele formado em mamíferos, embora funcione em uma temperatura ideal mais baixa ( $\approx 25^\circ\text{C}$ ). Ao contrário de outros vertebrados, nos quais o C3 é codificado por uma cópia única do gene, nos peixes ósseos o C3 é produzido em múltiplas isoformas funcionais. Assim, a truta arco-íris tem quatro isoformas de C3, a carpa tem oito e o goraz tem cinco. Eles são diferentes na estrutura e na habilidade de se ligar a diferentes superfícies ativadoras. Foi sugerido que este polimorfismo do complemento permite uma destruição mais eficiente de diferentes microrganismos invasores. Como nos mamíferos, o C3 é um componente do sistema complemento encontrado em altas concentrações no soro dos peixes. Os teleosteos também podem ter múltiplas isoformas de C4. As proteínas reguladoras semelhantes à proteína ligadora de C4 e ao fator H foram identificadas no robalo-da-areia.

Os TLRs dos peixes são similares aos encontrados nos mamíferos. Há seis famílias principais de TLRs nos vertebrados; dentro de cada família, os TLRs reconhecem uma classe geral de PAMP. As funções e especificidades de ligação de cada família de TLR permaneceram constantes conforme os vertebrados evoluíram. (Os micróbios não mudaram, assim como os TLRs.)

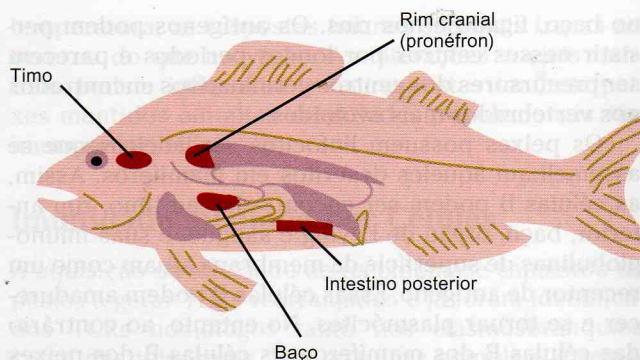


FIGURA 37-6 ■ Órgãos linfóides de um peixe ósseo.

## Imunidade Adquirida

Os peixes cartilagosos e os peixes ósseos podem montar respostas imunes adquiridas e possuem um conjunto completo de órgãos linfóides, exceto pela medula óssea (Fig. 37-6). Assim, eles têm um timo localizado logo acima da faringe. Ele surge a partir dos primeiros arcos branquiais. Nos peixes imaturos, pequenos poros seguem da faringe para o timo, sugerindo que este pode ser diretamente estimulado por antígenos da água circundante. A timectomia nos peixes pode levar ao prolongamento da sobrevivência do aloenxerto e redução das respostas de anticorpos. Os anticorpos ou as células ligadoras de antígenos podem ser detectados no timo durante uma resposta imune, sugerindo que ele contém tanto células semelhantes à célula T como à célula B. Apesar de o timo poder envolver em resposta a hormônios ou à estação do ano, a involução devido à idade é inconsistente e o timo pode ser encontrado em muitos peixes mais idosos.

Os rins dos peixes se diferenciam em duas seções. O opistonéfron, ou rim posterior, é um órgão excretor que tem as mesmas funções do rim dos mamíferos. Em contraste, o pronéfron, ou rim anterior, é um órgão linfóide que contém células produtoras de anticorpos e fagócitos. Dessa forma, ele desempenha uma função análoga à da medula óssea e dos linfonodos. Os peixes têm um baço, cujas estrutura e localização são similares àquelas observadas nos mamíferos.

Agregados de linfócitos são proeminentes no trato intestinal dos peixes. Além disso, estruturas linfomielóides que parecem produzir granulócitos são observadas na submucosa do esôfago (órgão de Leydig) e nas gônadas (órgão epigonal) dos tubarões. Algumas espécies possuem os dois órgãos, mas outras podem ter apenas um. Nos peixes cartilagosos, o órgão epigonal e o órgão de Leydig expressam proteínas RAG, bem como TdT (Cap. 12) e outros fatores de transcrição específicos da célula B, e aparentam ser órgãos linfóides primários. O órgão epigonal parece funcionar, da mesma forma que a medula óssea dos mamíferos, como uma fonte de células B durante a vida.

Os peixes possuem agregados de macrófagos que contêm pigmentos como a melanina e a hemossiderina. Estes centros de melanomacrófagos são encontrados

no baço, fígado e nos rins. Os antígenos podem persistir nesses centros por longos períodos e parecem ser precursores dos centros germinativos encontrados nos vertebrados mais evoluídos.

Os peixes possuem linfócitos verdadeiros que se assemelham àqueles descritos em mamíferos. Assim, as células B podem ser encontradas no timo, rim anterior, baço, órgão de Leydig e sangue, e suas imunoglobulinas de superfície da membrana atuam como um receptor de antígeno. Essas células B podem amadurecer e se tornar plasmócitos. No entanto, ao contrário das células B dos mamíferos, as células B dos peixes teleósteos podem fagocitar partículas, gerar fagolisossomos e destruir os micróbios ingeridos. Esses achados sustentam a idéia de que as células B podem ter evoluído de uma célula ancestral fagocitária e podem ser responsáveis pelas aparentes similaridades entre macrófagos e células B-1 dos mamíferos. Tanto as células T auxiliares quanto as células T citotóxicas podem ser detectadas nos peixes.

## Imunoglobulinas

Os peixes cartilagosos, tais como os tubarões, são os vertebrados menos evoluídos que possuem, conhecidamente, um sistema imune adquirido. Como outras espécies, eles produzem uma diversidade de isotipos de imunoglobulinas.

Todas as cadeias leves dos vertebrados podem ser classificadas em um de quatro "clãs" ancestrais que se originaram antes do surgimento dos peixes cartilaginosos: um restrito aos elasmobrânquios, denominada braço  $\sigma$ ; um em todos os vertebrados de sangue frio, chamado  $\sigma$ ; um em todos os grupos, com exceção das aves ( $\kappa$ ); e um em todos os grupos, exceto nos peixes ósseos ( $\lambda$ ). Desde que apareceram, há 450 milhões de anos, todos mantiveram identidades separadas, sugerindo que deva haver uma base funcional para essas diferenças.

As imunoglobulinas foram vistas pela primeira vez nos peixes cartilaginosos, uma vez que eles possuem os genes ativadores de recombinação RAG-1 e RAG-2. A maneira pela qual essas moléculas de imunoglobulinas são codificadas pelos genes das cadeias leve e pesada e as estruturas dos segmentos gênicos V, J e C são similares às que se observam nos mamíferos. Contudo, elas diferem dos mamíferos quanto à organização dos segmentos gênicos da imunoglobulina dentro do genoma. Por exemplo, os tubarões e outros peixes elasmobrânquios têm os genes das imunoglobulinas agrupados, nos quais os segmentos V, D, J e C formam agrupamentos que se duplicam muitas vezes; logo:

– VDJC – VDJC – VDJC – VDJC – VDJC –

Existem 200 a 500 destes agrupamentos de VDJC nos tubarões; cada agrupamento tem cerca de 16 kilobases de tamanho. Cerca de metade desses agrupamentos parece ser funcional. (Esse arranjo é, de alguma forma, similar ao que é visto nos genes dos TCR- $\gamma$

e dos TCR- $\beta$  nos mamíferos.) Os peixes teleósteos, ao contrário, têm um arranjo gênico da cadeia pesada da imunoglobulina semelhante ao dos mamíferos (o padrão translocon), com múltiplos genes Vh arranjados dessa forma:

– V – V – V – V – V – V – V – V – D – D – J – J – J – J – C –

Os genes da cadeia leve dos teleósteos, no entanto, são arranjados pelo padrão de agrupamentos. Assim, por exemplo, no bagre, as cadeias pesadas são construídas no padrão translocon e os genes da cadeia leve seguem o padrão de agrupamentos. As imunoglobulinas dos tubarões mostram evidências de hipermutação somática.

A imunoglobulina M (IgM) é a mais ancestral das classes de imunoglobulinas e é vista tanto em peixes ósseos quanto cartilaginosos (Fig. 37-7). Os peixes cartilaginosos geralmente têm tanto a IgM pentamérica como a monomérica no soro. Os peixes ósseos têm a IgM tetramérica e a monomérica. Essas diferentes formas podem compensar uma perda de IgG. Recentemente, vários isotipos adicionais foram identificados nos elasmobrânquios. Isso inclui o IgNAR (do inglês, *new antigen receptor*) no tubarão-lixia, IgW no tubarão galhudo e IgR na arraia. O IgNAR consiste somente em cadeias pesadas, sem nenhuma cadeia leve associada. As seqüências do IgNAR não são freqüentemente mudadas no tubarão jovem, mas as mutações aumentam significativamente conforme o peixe amadurece. Os antígenos se ligam ao domínio variável de uma única cadeia pesada de uma maneira semelhante aos anticorpos do camelo. A cristalografia por raios X mostra que esses domínios variáveis têm apenas duas regiões determinantes de complementaridade (CDRs). As moléculas também possuem uma CDR vestigial na outra extremidade da cadeia pesada, numa localização associada com adesão celular. Dessa forma, sugere-se que estas imunoglobulinas primitivas podem ter se originado como moléculas de adesão celular.

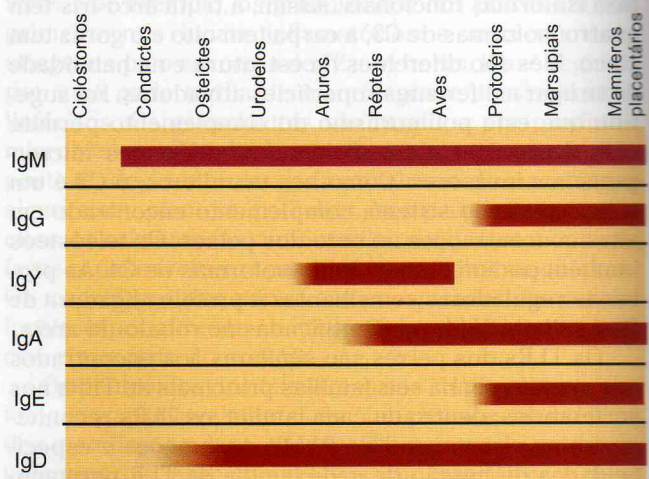


FIGURA 37-7 ■ Evolução das principais classes de imunoglobulinas.



A truta também possui um isotipo de imunoglobulina distinto da IgG e da IgM. Esse isotipo único, denominado (infelizmente) de IgT, partilha VL com os outros isotipos, mas tem seu próprio conjunto exclusivo de genes VH e JH. Os segmentos gênicos D, J e C da IgT estão localizados acima dos genes da IgM, um arranjo muito incomum. Conforme se esperava, a IgT é produzida muito precocemente na vida do embrião da truta em desenvolvimento.

A cadeia pesada da IgW contém seis domínios  $C_H$ , dois a mais que a IgM. A análise da seqüência indica que ela é ortóloga à IgD. O isotipo IgW ocorre em duas formas: uma forma convencional e uma forma curta, truncada de maneira semelhante à forma truncada da IgY das aves. A IgR, por outro lado, tem apenas dois domínios  $C_H$ . Descreveram-se peptídeos homólogos à cadeia J em alguns peixes, mas não em outros. Na ausência de cadeias J, os monômeros de IgM são mantidos unidos por pontes não-covalentes. Os genes e produtos da IgD foram identificados no bagre, alabote, salmão e bacalhau. Eles têm algumas similaridades com a IgD dos mamíferos, incluindo a co-expressão com IgM na superfície das células B, como resultado do processamento (*splicing*) alternativo. A função da IgD dos teleósteos é desconhecida. Isotipos de cadeia leve foram descritos no bagre, no salmão e na truta. Duas cadeias leves diferentes foram descritas, mas nenhuma é muito homóloga às cadeias  $\kappa$  e  $\lambda$  dos mamíferos. As respostas de anticorpos dos peixes são caracterizadas pela predominância de IgM e por suas respostas secundárias relativamente pobres.

Uma característica incomum da imunidade dos elasmobrânquios é a existência de genes de imunoglobulinas rearranjados na linhagem germinativa. Isto parece desempenhar um papel precoce no desenvolvimento, mas tende a ser silenciado mais tardiamente na vida, quando suas funções são substituídas pelo rearranjo gênico. Dessa forma, no tubarão-lixia, a imunoglobulina predominante nos neonatos é codificada por um gene rearranjado da linhagem germinativa. Isto pode ser um estágio transitório entre a imunidade inata e a imunidade adquirida.

Na presença de soro normal como fonte de complemento, os anticorpos dos peixes podem lisar as células-alvo. Da mesma forma, os anticorpos dos peixes são eficientes na aglutinação. Não há evidências de que os anticorpos dos peixes possam funcionar como opsoninas, nem foram detectados receptores Fc nas células fagocitárias. As paredes dos vasos sanguíneos dos peixes são permeáveis à IgM. Como resultado, os anticorpos são encontrados na maior parte dos fluidos teciduais (plasma, linfa, muco cutâneo). A transferência de anticorpos de fêmeas imunizadas para os seus ovos foi descrita no peixe-plano solha.

Nem todos os antígenos são eficientes imunógenos nos peixes. Os antígenos protéicos solúveis são fracamente imunogênicos, em contraste aos antígenos particulados como bactérias ou eritrócitos estranhos, que são altamente imunogênicos. Muitos peixes cartilagosos mostram efeitos sazonais na produção de anticorpos; ou seja, sob condições constantes de luz e

temperatura, as respostas imunes são mais fracas no inverno do que no verão. As interações sociais também podem influenciar suas respostas imunes: peixes mantidos em altas densidades populacionais são imunossuprimidos.

## Imunidade Mediada por Células

A aquisição da atividade de recombinase capacitou os peixes a gerar TCRs rearranjados e já foram identificados TCRs homólogos tanto nos elasmobrânquios como nos teleósteos. Sua estrutura completa é semelhante à dos mamíferos. Os genes TCR da linhagem germinativa não são rearranjados e estão organizados segundo o padrão de agrupamentos. Os peixes têm ambos os genes do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) classe I e classe II, mas isto não foi encontrado nos agnatas ou nos invertebrados. (Os genes do MHC classe III, ao contrário, foram encontrados nos cordados primitivos.) A estrutura básica de cada molécula de MHC foi conservada, da mesma forma que a organização dos genes classe I e classe II. Nos peixes teleósteos, no entanto, os *loci* classe I e classe II estão em cromossomos diferentes.

Os peixes cartilagosos rejeitam os aloenxertos de escamas lentamente, ao passo que os peixes ósseos os rejeitam muito mais rapidamente. Transplantes repetidos levam a uma rejeição acelerada. Os aloenxertos rejeitados são infiltrados por linfócitos e apresentam destruição dos vasos sanguíneos e das células pigmentadas. Como em todos os ectotermos, a rejeição ao enxerto é mais lenta em temperaturas mais baixas. Muitas citocinas diferentes foram identificadas nos peixes, incluindo a IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$ , fator transformador de crescimento- $\beta$ , interferon- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) e IFN- $\gamma$ .

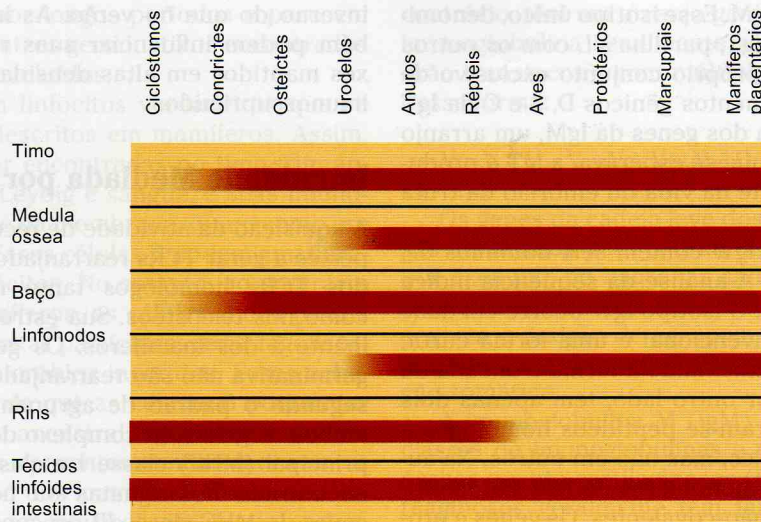
## IMUNIDADE NOS ANFÍBIOS

Conforme os vertebrados evoluíram, eles mostraram um aumento progressivo na complexidade de seus sistemas imunes (Fig. 37-8). Isso é bem observado nos anfíbios, nos quais existem diferenças marcantes entre os urodelos menos complexos (anfíbios de cauda, como os tritões e as salamandras) e os muito mais evoluídos anuros, tais como os sapos e as rãs. Além disso, os anfíbios atravessam uma metamorfose complexa conforme eles amadurecem de girinos para a forma adulta. Isso tem efeitos significativos sobre o desenvolvimento do sistema imune.

Os anfíbios possuem defesas inatas eficientes. Uma característica notável de sua imunidade inata é a presença de muitos peptídeos antimicrobianos potentes na pele. Os anfíbios também possuem um sistema complemento que, apesar da semelhança com o dos mamíferos, é mais eficiente a 16°C.

## Anfíbios Urodelos

Os urodelos geralmente não possuem medula óssea, embora algumas salamandras possam ter uma pequena



**FIGURA 37-8** ■ Evolução dos principais órgãos linfóides nos vertebrados.

quantidade de tecido linfóide no interior de seus ossos longos. Eles têm um timo que se desenvolve lentamente, aparecendo apenas na sétima semana de vida. A timectomia retarda ou bloqueia a rejeição de aloenxertos cutâneos. O timo dos urodelos não é dividido em córtex e medula. Os rins retêm sua função linfóide, como nos peixes. As células-tronco surgem das áreas intertubulares dos rins, tanto em urodelos como nos anuros. No baço, as polpas vermelha e branca não estão separadas.

Os urodelos produzem uma IgM monomérica e podem montar uma boa, porém lenta, resposta de anticorpos contra antígenos bacterianos. Eles não respondem aos antígenos protéicos solúveis, tais como soroalbumina ou ferritina.

Um aloenxerto cutâneo leva cerca de 28 a 42 dias para ser rejeitado nos anfíbios urodelos. O aloenxerto parece saudável por cerca de 3 semanas e, então, é lentamente rejeitado. A rejeição do transplante é prontamente visível porque a destruição das células de pigmento deixa a pele branca. Uma segunda rejeição leva cerca de 8 a 20 dias no tritão, e a memória aloimune dura pelo menos 90 dias.

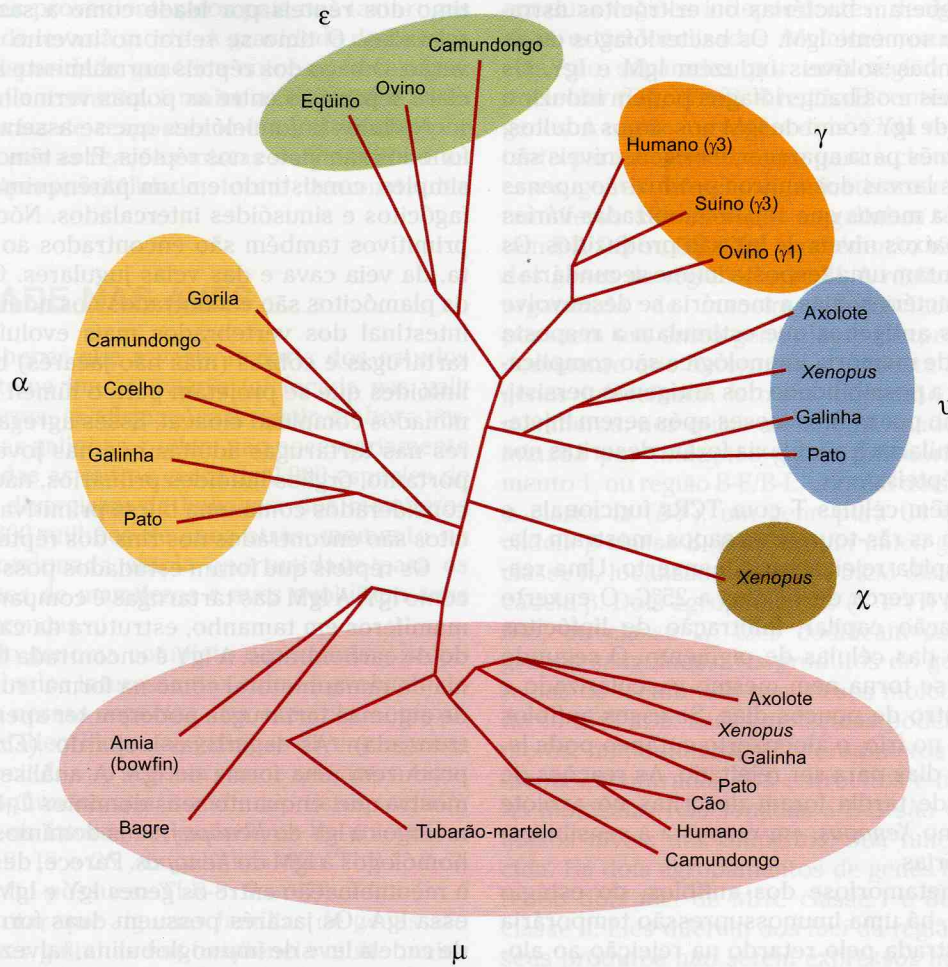
## Anfíbios Anuros

Ao contrário dos urodelos, os anuros (sapos e rãs) possuem uma medula óssea completamente funcional. Seu timo surge a partir da segunda bolsa faríngea e involui por volta de 1 ano de idade. Também involui durante a metamorfose do estágio de girino para o estágio adulto, regenerando-se rapidamente. O timo situa-se imediatamente abaixo da pele, posterior à orelha média. Em contraste ao timo dos peixes, ele mostra uma separação distinta entre o córtex externo e a medula central. O córtex tímico é repleto de linfócitos em proliferação. A medula contém poucos linfócitos, mas os corpúsculos tímicos estão presentes. As imunoglobulinas

podem ser encontradas em cerca de 80% desses timócitos. A timectomia larval nos sapos reduz a resposta a hemácias estranhas, mas a resposta aos lipopolissacarídeos bacterianos não é afetada, sugerindo que esta resposta é T-independente. A timectomia também retarda, mas não impede completamente, a rejeição ao aloenxerto nos sapos. Alguma função residual da célula T volta a se desenvolver muitos meses após a timectomia larval, sugerindo que possa ocorrer desenvolvimento extratímico da célula T. Nas rãs e nos sapos, pela primeira vez, células da camada limítrofe separam a polpa vermelha e a polpa branca periarteriolar do baço. Em alguns anfíbios anuros, observam-se estruturas que lembram os linfonodos. Esses protolinfonodos consistem em uma massa de linfócitos ao redor dos sinusóides sangüíneos. Como resultado, eles filtram mais sangue que linfa. Os agregados linfóides nodulares não parecem estar presentes no intestino de urodelos, mas são observados nos anuros.

Na sua região branquial, larvas de anuros, tais como os girinos do sapo-boi, têm órgãos linfomielóides denominados corpúsculos da cavidade ventral. Os sinusóides desses órgãos estão revestidos por macrófagos, que removem efetivamente do sangue os antígenos particulados injetados. A remoção desses órgãos torna os girinos incapazes de produzir anticorpos contra antígenos solúveis. Eles desaparecem na metamorfose. Os linfócitos são encontrados em grandes números na região subcapsular do fígado dos peixes, anfíbios e répteis. Esse acúmulo de linfócitos ocorre próximo aos sinusóides sangüíneos e pode ter a função de células-tronco.

Tanto os adultos quanto as larvas dos anfíbios têm células B e T. Elas provavelmente se originam dos corpúsculos da cavidade ventral ou do fígado. Os linfócitos tímicos e cerca de 80% dos linfócitos circulantes carregam IgM de superfície. As rãs possuem células similares às NK e às células T citotóxicas.



**FIGURA 37-9** ■ Relações evolutivas entre as principais cadeias pesadas das imunoglobulinas dos vertebrados. Esta é uma árvore de distância, construída por meio de alinhamento das seqüências de aminoácidos de regiões constantes representativas da cadeia de IgH de vertebrados. (De Warr GW, Magor KE, Higgins DA: *Immunol Today* 16: 392-398, 1995.)

Os anfíbios anuros têm duas ou três classes de imunoglobulinas e são os vertebrados menos evoluídos a apresentar troca de isotipos. Sua IgM consiste em pentâmeros ou hexâmeros (no *Xenopus*) e uma ou duas moléculas de IgY de baixo peso molecular (com uma cadeia pesada  $\nu$  de 66 kDa) e IgX (com uma cadeia pesada  $\chi$  de 64 kDa). A IgX é uma classe de imunoglobulina bastante diferente, não encontrada em outros vertebrados (Fig. 37-9). As imunoglobulinas do *Xenopus* também possuem dois tipos de cadeia leve, e os anfíbios anuros possuem imunoglobulinas secretadas na bile e no intestino (mas não no muco cutâneo). Essas imunoglobulinas são IgM e IgY, mas não IgA. No axolote (*Ambystoma mexicanum*), a IgY é uma imunoglobulina secretada, encontrada em estreita associação com moléculas similares ao componente secretor. Isto é diferente do *Xenopus*, no qual a IgY se comporta como a IgY das aves ou a IgG dos mamíferos. A diversidade dos anticorpos dos anfíbios é gerada de uma maneira semelhante à dos mamíferos.

O gene para a cadeia pesada ( $\delta$ ) de IgD foi identificado no sapo *Xenopus tropicalis*, no qual esta imu-

noglobulina é expressa na superfície das células B maduras. A localização do C $\delta$  da cadeia pesada é a mesma encontrada nos mamíferos, imediatamente 3' ao gene da IgM. A análise da seqüência, no entanto, mostra que a IgD do *Xenopus* é ortóloga à IgW encontrada somente nos peixes cartilaginosos e peixes pulmonares. Isto implica que a IgD/W esteve presente nesses ancestrais de todos os vertebrados mandibulados vivos. Ao contrário da IgM, a IgD é, estruturalmente, altamente variável. Portanto, em diferentes espécies, ela mostra muitas duplicações e deleções de domínios, presença de múltiplos processamentos (*splicing*) alternativos, ou mesmo a perda de um gene inteiro, como ocorre nas aves (galinhas). Como resultado, provavelmente, ela desempenha papéis diferentes em diferentes taxa de vertebrados. Um isotipo adicional, a IgF com cadeia pesada C $\phi$ , também foi identificado no *Xenopus*. É a única que possui uma região de dobradiça. Este é o exemplo mais primitivo de tal estrutura. O locus da IgH do *X. tropicalis*, portanto, tem a seguinte ordem, 5' - V<sub>H</sub> - D<sub>H</sub> - J<sub>H</sub> - C $\mu$  - C $\delta$  - C $\chi$  - C $\nu$  - C $\phi$  - 3'.

Rãs que receberam bactérias ou eritrócitos estranhos produzirão somente IgM. Os bacteriófagos ou as proteínas estranhas solúveis induzem IgM e IgY. Os antígenos solúveis e os bacteriófagos podem induzir a produção tanto de IgY como de IgM nos sapos adultos. A IgY leva até 1 mês para aparecer, e os seus níveis são muito baixos. As larvas dos anuros produzirão apenas anticorpos IgM, a menos que sejam imunizadas várias vezes, quando baixos níveis de IgY são produzidos. Os anfíbios não montam uma resposta imune secundária a eritrócitos e a bactérias, mas a memória se desenvolve em resposta aos antígenos que estimulam a resposta de IgY. Estudos de memória imunológica são complicados pelo fato de a possibilidade dos antígenos persistirem na circulação por muitos meses após serem injetados. Reações similares à anafilaxia foram descritas nos anfíbios e nos répteis.

Os anfíbios têm células T com TCRs funcionais, e os anuros, como as rãs-touro e os sapos, mostram claramente uma rápida rejeição ao aloenxerto. Uma reação primária leva cerca de 14 dias a 25°C. O enxerto apresenta dilatação capilar, infiltração de linfócitos e desintegração das células de pigmento. O segundo aloenxerto não se torna nem mesmo vascularizado e é destruído dentro de poucos dias. Se esses anfíbios forem mantidos no frio, o aloenxerto cutâneo pode levar mais de 200 dias para ser rejeitado. As reações de hipersensibilidade tardia foram descritas no axolote (*Ambystoma*) e no *Xenopus*, em resposta à sensibilização a micobactérias.

Durante a metamorfose dos anfíbios, do estágio larval ao adulto, há uma imunossupressão temporária como é demonstrada pelo retardo na rejeição ao aloenxerto. Alguns enxertos podem até mesmo ser tolerados nessa fase. Conforme os girinos se tornam rãs ou sapos, o timo se retrai e ocorre uma queda no número de células B e nos níveis de anticorpos.

As citocinas identificadas nos anfíbios incluem a IL-1, a IL-2 e os interferons. Os linfócitos do *Xenopus* possuem um receptor bastante parecido com o IL-2R e pode ser estimulado pela IL-2 humana *in vivo*. As células peritoneais do *Xenopus* geram atividade similar à da IL-1.

O *Xenopus* tem um MHC muito bem caracterizado, com regiões classes I, II e III, denominadas XLA. A região classe II contém genes para as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$ . Há glicoproteínas transmembrana de 30 a 35 kDa. Acredita-se que haja 20 alelos para a classe I e 30 para a classe II. A região classe III contém um gene para C4. É interessante notar que, embora as moléculas do MHC classe II estejam expressas precocemente no desenvolvimento larval das células B e do epitélio dos girinos, as moléculas do MHC classe I não são expressas antes da metamorfose larval.

## IMUNIDADE NOS RÉPTEIS

O timo dos répteis se desenvolve a partir das bolsas faríngeas e é estruturalmente similar ao que é visto em outras classes de vertebrados. Tanto a involução do

timo dos répteis por idade como a sazonal já foram relatadas. O timo se retrai no inverno e aumenta no verão. O baço dos répteis normalmente apresenta uma clara separação entre as polpas vermelha e branca.

Nódulos linfomielóides que se assemelham aos linfonodos são vistos nos répteis. Eles têm uma estrutura simples, consistindo em um parênquima linfóide com fagócitos e sinusóides intercalados. Nódulos linfóides primitivos também são encontrados ao redor da aorta, da veia cava e das veias jugulares. Os linfócitos e os plasmócitos são encontrados nos nódulos da parede intestinal dos vertebrados mais evoluídos. Algumas tartarugas e cobras (mas não jacarés) têm agregados linfóides que se projetam para o lúmen cloacal, denominados complexo cloacal. Esses agregados são maiores nas tartarugas adultas que nas jovens e não são, portanto, órgãos linfóides primários, não podendo ser considerados como uma bursa primitiva. Poucos linfócitos são encontrados nos rins dos répteis.

Os répteis que foram estudados possuem tanto IgM como IgY. A IgM das tartarugas é comparável à IgM dos mamíferos em tamanho, estrutura da cadeia e conteúdo de carboidratos. A IgY é encontrada tanto na isoforma de tamanho total como na forma truncada (apesar de algumas tartarugas poderem ter apenas a isoforma truncada). As lagartixas-leopardo (*Eublepharis* sp.) produzem uma forma de IgA. A análise da sequência mostra que, enquanto seus domínios C<sub>H1</sub> e C<sub>H2</sub> são homólogos à IgY do *Xenopus*, seus domínios C<sub>H3</sub> e C<sub>H4</sub> são homólogos à IgM do *Xenopus*. Parece, dessa forma, que a recombinação entre os genes IgY e IgM deu origem a essa IgA. Os jacarés possuem duas formas diferentes de cadeia leve de imunoglobulina, talvez homólogas às cadeias  $\kappa$  e  $\lambda$  dos mamíferos.

Três genes de C3 estão presentes nas cobras. Um codifica o C3 funcional do soro. Os outros somente estão expressos na glândula de veneno e codificam uma molécula semelhante ao C3c, presente no veneno. Esta molécula forma uma C3-convertase estável na presença de fator B.

Tartarugas e lagartos imunizados com soroalbumina bovina, soro suíno ou eritrócitos podem montar respostas primárias e secundárias de anticorpos. O anticorpo produzido na resposta primária é a IgM; o anticorpo produzido na resposta secundária é a IgY. Toda resposta de anticorpos dos répteis parece ser dependente de T. As respostas secundárias e a produção de IgY não ocorrem em resposta a certos antígenos bacterianos, tais como os de *Salmonella* sorovariante *adelaide*, *Brucella abortus* ou *Salmonella* sorovariante *typhimurium*. O leitor pode perceber que uma situação semelhante acontece nos mamíferos, em que antígenos timo-independentes como o lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* induzem uma prolongada resposta de IgM, bastante diferente da induzida por antígenos proteicos solúveis (Cap. 17).

Como em outros ectotermos, a taxa de rejeição ao aloenxerto é dependente da temperatura. Tartarugas, cobras e lagartos rejeitam transplantes cutâneos alogênicos em cerca de 40 dias a 25°C. A doença do enxerto-*versus*-hospedeiro pode ser induzida pela in-

jeção de células provenientes dos pais nas tartarugas neonatas e pode levar à morte. A gravidade da doença depende da disparidade genética entre as tartarugas. A mortalidade, entretanto, é maior a 30°C que a 20°C. Outras evidências de respostas imunes mediadas por células, tais como as reações mistas de linfócitos e as reações de hipersensibilidade, foram demonstradas nos répteis.

### IMUNIDADE NAS AVES

Deve-se reconhecer que a vasta maioria dos estudos acerca do sistema imune aviário foi focada nas galinhas. Dessa forma, as afirmações a seguir, embora verdadeiras para as galinhas, podem não necessariamente se aplicar a todas as outras cerca de 9.000 espécies de aves. As aves divergiram da linhagem dos mamíferos por volta de 300 milhões de anos atrás, momento no qual foi proporcionada ampla oportunidade para os sistemas imunes de mamíferos e aves evoluírem suas principais diferenças.

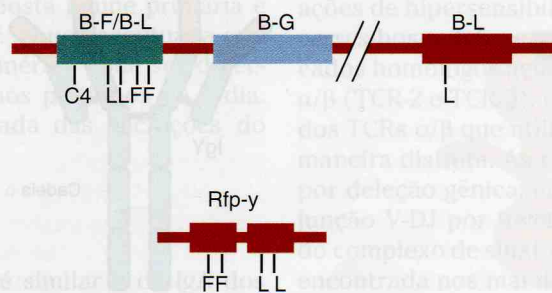
A análise do genoma completo das galinhas propiciou alguns achados interessantes sobre a evolução do sistema imune nessas espécies. Por exemplo, comprovou-se possível identificar nas galinhas diversos genes ortólogos associados ao sistema imune que antes eram tidos como confinados aos mamíferos. Estes incluem a catelicidina, os fatores estimuladores de colônias e as ILs-3, 4, 7, 9, 13 e 26. As galinhas têm TLR-1, 2, 3, 4, 5 e 7, mas não possuem TLR-8, 9 ou 10. Também é interessante notar que algumas famílias de genes são encontradas nas galinhas em frequência muito maior que nos humanos. Muitos desses genes têm papéis na imunidade e na defesa do hospedeiro. Isto inclui alguns receptores de imunoglobulinas, moléculas do MHC classe I, receptores de células NK e antígenos de célula T. O significado dessa expansão não é claro, mas pode simplesmente refletir histórias diferentes de exposição às doenças infecciosas encontradas em galinhas e em humanos.

### Moléculas do MHC das Aves

O MHC das galinhas ocupa 92 kb, contendo apenas 19 genes e, portanto, é muito menor e mais simples que os MHCs dos mamíferos (ou de outras aves). É dividido

em duas regiões independentes, designadas B e Y. As duas estão localizadas no microcromossomo 16, mas elas são separadas por uma região de organização nucleolar (Fig. 37-10). A região B contém três grupos de genes. A região Y contém dois. Cada região contém *loci* tanto para a classe I como para a classe II. No entanto, esses genes diferem significativamente entre aves e mamíferos. Por exemplo, as galinhas têm DM, mas não têm DP, DQ ou DR. Elas também não têm a maior parte dos genes da região classe III. A região B também está organizada de maneira diferenciada. As galinhas possuem um único gene classe I expresso de maneira dominante que determina a resposta imune aos patógenos infecciosos. Isto é o contrário da maioria dos mamíferos, nos quais a responsividade imune é determinada por múltiplos genes polimórficos. O agrupamento 1, ou região B-F/B-L, contém dois genes da cadeia  $\alpha$  classe Ia (*B-F*), um gene para C4 e dois genes da cadeia  $\beta$  classe II (*B-L*). Há um único gene da cadeia  $\alpha$  classe II, localizado cerca de 5 cM distante do gene da cadeia  $\beta$ . Dois agrupamentos (V e VI) formam a região B-G, ou classe IV. Eles codificam os antígenos dos grupos sanguíneos. Os produtos do gene *B-G* são proteínas de membrana com pesos moleculares variando de 40 a 48 kDa. Essas moléculas podem formar monômeros, homodímeros e heterodímeros e são principalmente encontradas nos eritrócitos e nos trombócitos. As moléculas relacionadas a *B-G* são encontradas em baixos níveis nos linfócitos. Sua função é desconhecida. Há dois agrupamentos de genes na região Y, contendo dois *loci* de MHC classe I e dois *loci* de MHC classe II. Eles diferem dos *loci* da região B pelo fato de seus produtos não serem expressos nos eritrócitos. O genes da região Y também regulam o reconhecimento da célula NK.

Nos haplótipos das galinhas comuns, são predominantemente expressos apenas uma molécula classe I e uma única molécula classe II. Como os vírus contêm relativamente poucas proteínas, a suscetibilidade dependente de MHC a uma doença depende da ligação dos antígenos virais à molécula de MHC classe I dominante. Como resultado, a posse de um haplótipo específico determina a suscetibilidade a doenças. Por exemplo, o haplótipo B<sup>21</sup> está associado à resistência à doença de Marek, ao passo que o haplótipo B<sup>19</sup> está associado à suscetibilidade. Galinhas homozigotas para B<sup>1</sup> geralmente têm alta mortalidade adulta, são



**FIGURA 37-10** ■ Estrutura da região B (em cima) e da região Y (embaixo) da galinha. Os genes F são genes classe II e os genes L são genes classe I.

altamente suscetíveis à doença de Marek e respondem fracamente à *Salmonella* sorovariante *pullorum* ou à soralbumina humana. As aves homocigotas para B<sup>5</sup> são capazes de montar uma melhor resposta de anticorpos e desenvolvem lesões de menor gravidade em resposta à infecção por *Eimeria tenella* que as aves homocigotas para B<sup>2</sup>. Certos genótipos de MHC (B<sup>A4/A4</sup> e B<sup>A12/A12</sup>) são expressivamente super-representados nas aves que sofrem de artrite bacteriana e osteomielite causadas primariamente por *Staphylococcus aureus*.

O timo nas aves e nos mamíferos primitivos é semelhante ao que é visto nos mamíferos eutérios. Os centros germinativos não são observados no baço dos peixes, anfíbios ou répteis. Em contrapartida, os centros germinativos dos órgãos linfóides das aves são grandes e bem definidos. Embora se considere que as aves normalmente não possuam linfonodos, elas possuem estruturas que podem ser consideradas como seus equivalentes funcionais. Esses linfonodos aviários consistem em um seio central, que é o lúmen principal de um vaso linfático. Ele é circundado por uma bainha de tecido linfóide que contém centros germinativos (Fig. 37-11). Os linfonodos das aves não têm cápsula externa.

A bursa de Fabricius foi descrita no Capítulo 10. A bursectomia resulta na perda de produção de anticorpos, embora as aves bursectomizadas possam ainda rejeitar aloenxertos cutâneos. Esses resultados foram interpretados como sugestivos de que a bursa é um órgão linfóide primário, cuja função é servir de local para a maturação e diferenciação para o sistema de

células produtoras de anticorpos. A bursa, entretanto, contém algumas células T; elas podem capturar antígenos e conduzir alguma síntese de anticorpos. As aves também têm grande número de linfócitos nas tonsilas cecais e na pele.

Os linfócitos das aves se originam do saco vitelínico e migram para a bursa ou para o timo. Os linfócitos imaturos que entram no timo amadurecem sob influência de fatores derivados das células epiteliais tímicas, e as células T com marcadores reconhecíveis emigram do timo. As células T constituem cerca de 60% a 70% dos linfócitos sanguíneos.

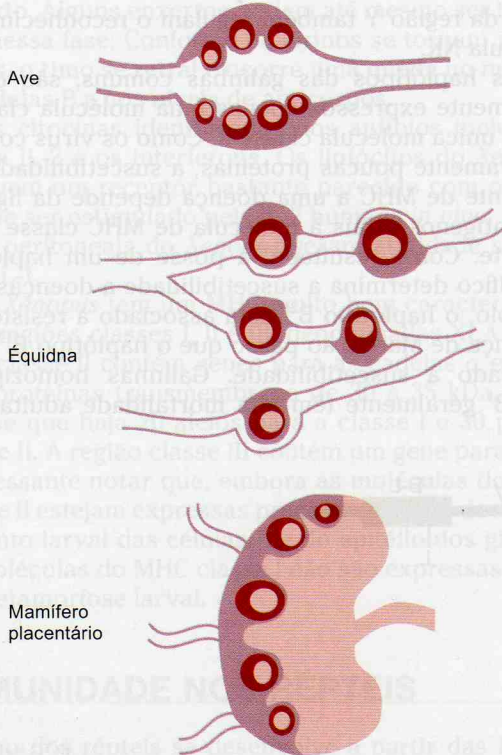
## Classes de Imunoglobulinas

Há três classes principais de imunoglobulinas nas aves (galinhas): IgY, IgM e IgA. Ainda não se identificou nenhum gene para IgD nas aves.

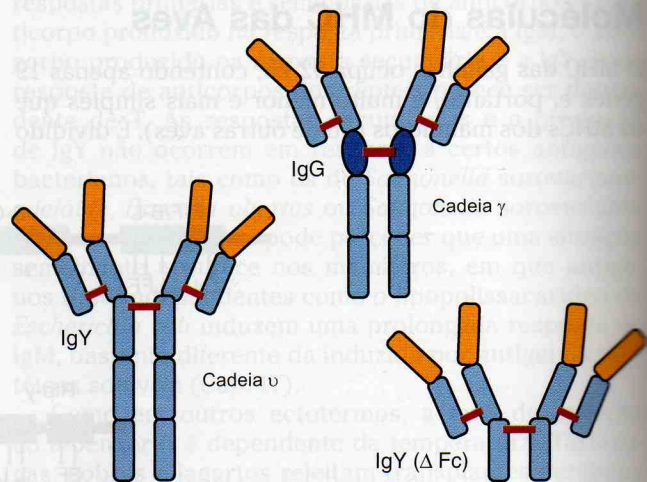
### Imunoglobulina Y

A principal imunoglobulina no soro das aves é denominada IgY. Embora de alguma maneira similar à IgG dos mamíferos, tem diferenças moleculares suficientes para assegurar uma designação diferente. Alguns pesquisadores relataram a existência de três subclasses de imunoglobulinas – denominadas IgY1, IgY2 e IgY3 – apesar de isto não ter sido completamente substanciado.

Como as imunoglobulinas dos mamíferos, a IgY consiste em duas cadeias pesadas e duas leves (Fig. 37-12). As cadeias pesadas, chamadas cadeias epsilon ( $\epsilon$ ), geralmente são constituídas de um domínio variável e quatro constantes, e a molécula completa tem peso molecular de cerca de 180 kDa (7,8 S). No entanto, algumas aves têm uma isoforma truncada que possui apenas dois domínios constantes. (Elas perdem o terceiro e o quarto domínios constantes.) Esta isoforma tem peso molecular de cerca de 120 kDa (5,7 S). Algumas aves, como os patos e os gansos, têm tanto a forma de tamanho total quanto a forma truncada de



**FIGURA 37-11** ■ Estrutura dos linfonodos nas aves, equídnas e mamíferos placentários.



**FIGURA 37-12** ■ Estrutura da imunoglobulina Y (IgY) e IgY( $\Delta$ Fc) comparada com a IgG dos mamíferos.

IgY. Outras, como as galinhas, têm apenas moléculas de tamanho total.

A isoformatruncada de IgY é produzida em consequência do processamento (*splicing*) alternativo do mRNA da cadeia pesada. O nome correto é, portanto, IgY( $\Delta$ Fc). Como a molécula perde a região Fc, não pode ativar complemento ou se ligar aos receptores de Fc. Sua função não é clara. Existe, no entanto, uma tendência durante a evolução para produzir imunoglobulinas de baixo peso molecular. Desta forma, imunoglobulinas truncadas similares foram descritas em alguns peixes (IgM( $\Delta$ Fc)), algumas tartarugas e no marsupial *quokka* (uma espécie de canguru) (*Setonix brachyurus*). Essas moléculas de baixo peso molecular podem oferecer alguma vantagem seletiva. Por exemplo, sugeriu-se que elas não disparariam reações de hipersensibilidade potencialmente letais. Evidências obtidas nos patos-reais (*Anas platyrhynchos*) sugerem que a proporção de IgY( $\Delta$ Fc) para IgY afete a eficiência da fagocitose e determine se os complexos imunes serão fagocitados no baço ou no fígado.

As duas isoformas de IgY não apresentam região de dobradiça. Logo, apesar de bivalentes, essas moléculas são algo inflexíveis e podem causar precipitação ou aglutinação somente em altas concentrações de sal. Elas tendem a mostrar alguma diversidade restrita e uma limitada maturação por afinidade. Estudos acerca das inter-relações entre as imunoglobulinas dos vertebrados mostram claramente que a IgY está relacionada tanto à IgG como à IgE dos mamíferos (Fig. 37-9). De fato, ela pode ter surgido a partir de um precursor evolutivo dessas duas classes.

É interessante notar que as galinhas podem desenvolver anafilaxia. Os sinais da anafilaxia aguda, nas galinhas e em outras aves, são semelhantes aos observados em mamíferos, embora mais provavelmente mediados por IgY. As aves apresentam sialorréia, defecação, penas eriçadas, dispnéia, convulsões, cianose, colapso e morte. O principal órgão-alvo provavelmente é o pulmão, e a morte se deve à hipotensão arterial pulmonar, dilatação cardíaca do lado direito e parada cardíaca. Os agentes farmacológicos envolvidos incluem histamina, serotonina, quininas e leucotrienos.

## Imunoglobulina M

As aves produzem respostas primárias e secundárias de uma maneira semelhante aos mamíferos. A predominância da produção de IgM na resposta imune primária e de IgY na resposta secundária é menos acentuada que nos mamíferos. Uma IgM monomérica pode ser detectada nos ovos das galinhas e nos pintinhos de 1 dia. Acredita-se que ela seja derivada das secreções do oviduto da galinha.

## Imunoglobulina A

A estrutura da IgA da galinha é similar à da IgA dos mamíferos. A única diferença significativa é que a IgA da galinha tem quatro domínios C da cadeia pesada, ao

passo que a IgA dos mamíferos tem apenas três. A IgA sérica das galinhas existe nas duas formas, dimérica (340 kDa) e monomérica (170 kDa). A IgA intestinal está associada ao componente secretor (CS).

## Geração da Diversidade de Anticorpos

As galinhas geram diversidade de anticorpos de uma maneira bastante diferente daquela vista em mamíferos. As galinhas têm apenas um gene V funcional e um gene J para as cadeias leves e pesadas, mas têm 16 genes D diferentes. A diversidade das imunoglobulinas das galinhas é gerada, portanto, por conversão gênica. Apesar de possuírem apenas um gene V funcional, as galinhas têm um grande número de pseudogenes V que servem como doadores de seqüência que, por conversão gênica, diversificam o gene V da cadeia leve funcional. Durante a recombinação dos genes V e J, bases isoladas também são adicionadas a cada gene (adição na região N) e ocorrem junções ao acaso. As imunoglobulinas das galinhas são, ainda, diversificadas por hipermutação somática e junções imprecisas V-J.

A segunda principal diferença envolve o momento do processo. Nos mamíferos, o rearranjo dos genes das imunoglobulinas é um processo contínuo. As galinhas, ao contrário, rearranjam seus genes das imunoglobulinas como uma única onda entre 10 e 15 dias da embriogênese, no momento em que há a expansão clonal das células B na bursa de Fabricius. Durante este período de 5 dias, as aves geram todas as especificidades de anticorpos que elas precisarão para o resto de suas vidas. Após a degeneração da bursa na puberdade, as galinhas têm que produzi-los a partir da diversidade das células B geradas no início da vida. No entanto, uma vez que uma célula B madura de galinha seja estimulada pela exposição a um antígeno, ela pode gerar diversidade adicional da região V por conversão gênica adicional. Se a conversão gênica for bloqueada em uma galinha, pode ocorrer mutação somática. De fato, espécies que fazem conversão gênica também mostram limitada mutação somática, embora o contrário não seja verdadeiro. As galinhas podem gerar cerca de  $10^6$  moléculas de imunoglobulinas diferentes. Isso é aproximadamente uma ordem de magnitude menor que a do camundongo.

As células T das galinhas podem participar das reações de hipersensibilidade tardia, doença do enxerto-versus-hospedeiro e rejeição ao enxerto. Foram identificados homólogos aviários do TCR  $\gamma/\delta$  (TCR-1) e do TCR  $\alpha/\beta$  (TCR-2 e TCR-3). O TCR-2 e o TCR-3 são subgrupos dos TCRs  $\alpha/\beta$  que utilizam os segmentos gênicos  $V_\beta$  de maneira distinta. As células TCR-2 sofrem junção V-DJ por deleção gênica, enquanto as células TCR-3 sofrem junção V-DJ por inversão cromossômica. A estrutura do complexo de sinalização CD3 das aves é diferente da encontrada nos mamíferos, na medida em que contém apenas dois dímeros,  $\delta/\gamma-\epsilon$  e  $\zeta-\zeta$ , em vez de três. Há evidências de que as galinhas possuam tanto células Th1

como Th2. Por exemplo, a IL-18 das galinhas estimula a liberação de IFN- $\gamma$  pelas células T CD4<sup>+</sup>.

As aves rejeitam os aloenxertos cutâneos em cerca de 7 a 14 dias. O exame histológico mostra infiltração maciça de linfócitos no tecido transplantado. Acredita-se que esses linfócitos sejam células T, já que a timectomia neonatal resulta em falha na rejeição a transplantes. Se as células T de galinhas forem colocadas sobre a membrana corioalantóica de embriões de pintinhos de 13 a 14 dias, as células atacam os tecidos do pintinho. Isso resulta na formação de pústula na membrana e aumento do baço. As células enxertadas atacam as células hematopoiéticas do receptor. Poucos dias após a eclosão, os pintinhos se tornam resistentes a essa forma de ataque do enxerto-*versus*-hospedeiro.

## IMUNIDADE NOS MONOTREMOS E MARSUPIAIS

Os mamíferos menos evoluídos, os monotremos, tais como o ornitorrinco (*Ornithorhynchus anatinus*) e as équidnas (*Tachyglossus aculeatus*), possuem baço, timo e tecidos linfóides associados ao intestino que são tão bem desenvolvidos quanto os de marsupiais e mamíferos eutérios. Entretanto, no lugar dos linfonodos típicos dos mamíferos, eles possuem nódulos linfóides que consistem em diversos nódulos linfóides, cada qual com um centro germinativo suspenso pelos vasos sanguíneos, no interior do lúmen de um plexo linfático. Dessa forma, cada nódulo é banhado em linfa. Geralmente, há apenas um centro germinativo por nódulo. A evolução da predominância sangüínea das imunoglobulinas IgY e IgG ocorreu, provavelmente, muito cedo na evolução dos mamíferos, uma vez que os monotremos não possuem IgY mas possuem IgG. Eles têm duas subclasses de IgG, IgG1 e IgG2, bem como IgE e IgM. Embora bastante diferentes da IgG e da IgE dos marsupiais e dos eutérios, elas mostram uma estrutura geral semelhante às outras imunoglobulinas dos mamíferos. Assim, todas as principais alterações estruturais que deram origem às classes de imunoglobulinas expressas nos mamíferos modernos evoluíram antes da separação dos monotremos dos marsupiais e dos mamíferos placentários e, provavelmente, logo após a separação da linhagem dos répteis, 300 milhões de anos atrás. Os monotremos, como outros mamíferos, produzem predominantemente IgM em uma resposta imune primária e IgG em uma resposta imune secundária.

O recente seqüenciamento completo do genoma do marsupial cúica (*Monodelphis domestica*) permitiu aos pesquisadores analisar os genes do sistema imune (o imunoma) deste animal em detalhe. Ele contém genes para todas as famílias-chave de genes imunes. Houve substancial duplicação ou conversão gênica envolvendo receptores de leucócitos, complexos de NK, imunoglobulinas, interferons tipo I e defensinas. O genoma da cúica também contém uma nova cadeia de TCR que é expressa no início do desenvolvimento, antes dos TCRs convencionais, e pode proporcionar proteção

durante os primeiros poucos dias de vida antes de o sistema imune da cúica estar funcional. Essa cadeia de receptor, denominada TCR $\mu$ , consiste em genes V, D e J recombinados, como nos mamíferos eutérios ou pré-juncionados, no DNA da linhagem germinativa. Lembra uma isoforma de TCR dos tubarões e pode representar um resquício de um sistema receptor muito antigo.

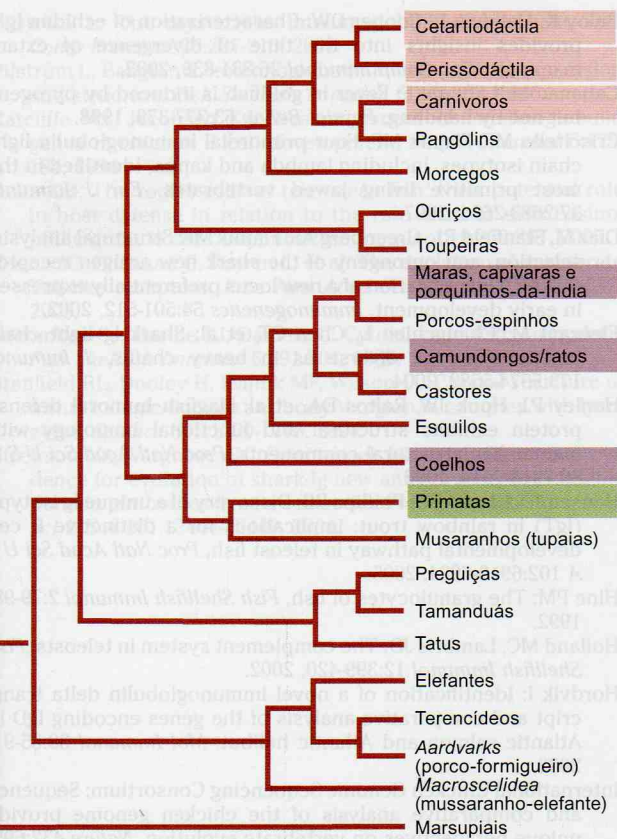
Os marsupiais produzem imunoglobulinas de uma maneira semelhante à dos mamíferos eutérios. Eles possuem quatro isotipos de imunoglobulinas: IgM, IgG, IgE e IgA. O marsupial gambá (*Didelphis sp.*) lembra os vertebrados mais primitivos, respondendo bem aos antígenos particulados, tais como bactérias, mas respondendo fracamente aos antígenos solúveis. Quando inoculado com eritrócitos de ovelha, a resposta imune primária do gambá foi de longa duração e razoavelmente forte. A resposta secundária foi mais fraca que a primeira e permaneceu por um período muito mais curto.

Os mamíferos possuem um número muito grande de segmentos gênicos V. Quando suas seqüências são analisadas, elas podem ser apresentados como diferentes famílias de genes Vh. Assim, foram identificadas sete famílias gênicas em humanos e 15 nos camundongos. Análises adicionais dessas famílias mostram que elas formam três "clãs" principais (clãs I, II e III). Estudos comparativos mostraram que esses três clãs existem há provavelmente mais de 400 milhões de anos. As seqüências Vh dos peixes são mais estreitamente relacionadas ao clã III dos mamíferos. No entanto, os peixes possuem dois clãs adicionais não encontrados em mamíferos. Os monotremos e os marsupiais têm genes Vh que também pertencem ao clã III. Da mesma forma, apesar de galinhas, coelhos e suínos terem relativamente poucos genes Vh, os genes V dessas três espécies pertencem ao clã III. Isso nos leva a acreditar que o clã III é o mais antigo dos clãs mamíferos. Entretanto, bovinos e ovinos também expressam apenas uma única família de genes Vh e esta pertence ao clã II. Isto pode se dever à inativação e perda do clã III nessas espécies.

## FILOGENIA DOS MAMÍFEROS

Este livro está focado na imunidade de um pequeno grupo de mamíferos domésticos. Esses animais foram selecionados não como representativos da diversidade dos mamíferos, mas pelas características comportamentais que os levou à domesticação ou pela facilidade com a qual eles são mantidos em cativeiro. Se examinarmos suas localizações na filogenia dos mamíferos (Fig. 37-13), podemos ver que a maioria das espécies animais domésticas são relacionadas de maneira relativamente estreita. Mesmo os animais domésticos de estimação, como os cães e gatos, estão mais próximos das espécies animais de criação que dos primatas. Da mesma forma, os animais de laboratório tendem a se reunir em um grupo separado. Não é surpreendente, portanto, que haja diferenças entre os sistemas imunes das espécies de interesse veterinário. Também está



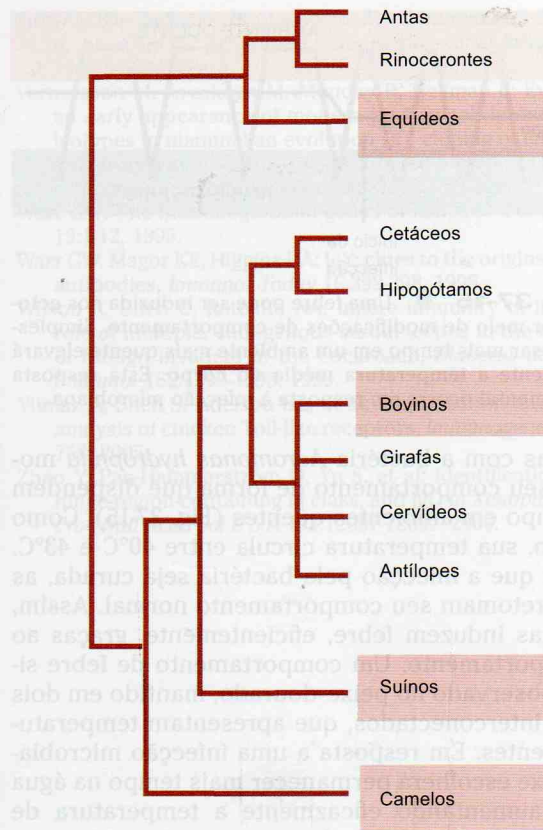


**FIGURA 37-13** ■ Filogenia dos mamíferos aceita atualmente, com base na análise das seqüências gênicas. Observe que nenhuma das espécies animais domésticas pode ser considerada representativa dos mamíferos por inteiro.

claro que, se quisermos entender o significado dessas diferenças e como elas evoluíram, devemos examinar o sistema imune de outros mamíferos, não-relacionados. Mesmo dentro dos principais herbívoros domésticos (Fig. 37-14), sua filogenia demonstra porque há diferenças significativas entre seus sistemas imunes.

## FEBRE

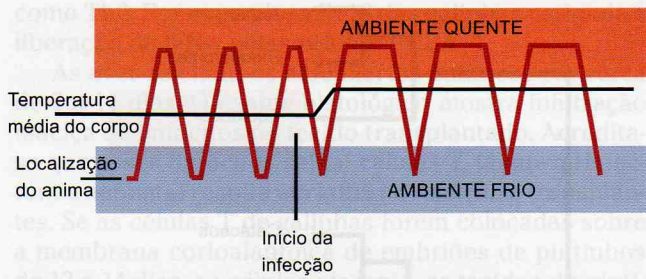
Os vertebrados geralmente respondem aos antígenos mais rapidamente e mais intensamente sob altas temperaturas. Inversamente, baixas temperaturas podem ser significativamente imunossupressoras nos ectotermos. Assim, nos peixes aclimatizados em baixas temperaturas, o período necessário para se obter uma resposta primária (período *lag*) após uma vacinação pode ser longo ou mesmo pode haver uma completa ausência de resposta detectável de anticorpos. Somente determinadas fases da resposta de anticorpos são dependentes da temperatura. Por exemplo, as respostas imunes secundárias podem ser desencadeadas em baixas temperaturas, desde que a imunização primária tenha ocorrido em temperatura alta. Nos peixes, as células que são sensíveis às baixas temperaturas são as células T auxiliares, e esse efeito se deve à perda da fluidez da membrana da célula e da reatividade às inter-



**FIGURA 37-14** ■ Filogenia molecular dos herbívoros domésticos. Restam muitos hiatos no nosso conhecimento da imunologia dessas espécies.

leucinas. A aclimatização a baixas temperaturas também pode ocorrer. Por exemplo, o peixe dourado que é aclimatizado em uma temperatura baixa pode ser capaz de produzir uma quantidade de células produtoras de anticorpos similar à quantidade produzida por aqueles que permanecem em temperaturas mais quentes. A natureza do antígeno também é crucial pelo fato de que determinados mitógenos dependentes da célula T tornam-se ineficientes a baixas temperaturas, implicando novamente que a célula-alvo é uma célula T auxiliar. A temperatura do ambiente influencia a rejeição aos aloenxertos nos ectotermos.

Apesar de bem reconhecido que a maior parte dos endotermos, tais como os mamíferos, desenvolvem febre quando infectados, é menos aparente que ectotermos como os peixes ou répteis, e mesmo os artrópodes, também desenvolvam febre em resposta à infecção. Os ectotermos são incapazes de alterar sua temperatura corpórea por mecanismos fisiológicos. Como resultado, eles não podem desenvolver uma febre se forem mantidos em ambiente de temperatura constante. Se, entretanto, eles forem mantidos em um ambiente com áreas frias e quentes, eles irão circular entre essas áreas e manter sua temperatura corpórea dentro de limites bem definidos. Por exemplo, observou-se que as iguanas (*Dipsosaurus dorsalis*) normais mantêm sua temperatura entre 37°C e 41°C. Contudo, as iguanas



**FIGURA 37-15** ■ Uma febre pode ser induzida nos ectotermos por meio de modificações de comportamento. Simplesmente passar mais tempo em um ambiente mais quente elevará eficientemente a temperatura média do corpo. Esta resposta comportamental ocorre em resposta à infecção microbiana.

infectadas com a bactéria *Aeromonas hydrophila* modificam seu comportamento de forma que dispendem mais tempo em ambientes quentes (Fig. 37-15). Como resultado, sua temperatura circula entre 40°C e 43°C. Uma vez que a infecção pela bactéria seja curada, as iguanas retomam seu comportamento normal. Assim, as iguanas induzem febre, eficientemente, graças ao seu comportamento. Um comportamento de febre similar é observado no peixe-dourado, mantido em dois tanques interconectados, que apresentam temperaturas diferentes. Em resposta a uma infecção microbiana, o peixe escolherá permanecer mais tempo na água quente, aumentando eficazmente a temperatura de seu corpo. Os benefícios desse comportamento para os ectotermos é óbvio, porque, conforme foi indicado previamente, seu sistema imune funciona muito mais eficientemente em temperaturas mais altas. Muitos insetos também respondem a infecções bacterianas ou fúngicas pelo desenvolvimento de um comportamento de febre. Isto é, eles elevam sua temperatura média do corpo dispendendo mais tempo em um ambiente mais quente. É interessante notar, entretanto, que nem todos os patógenos de insetos podem estimular tal resposta e nem todos os insetos respondem da mesma maneira. Por exemplo, a bactéria *Serratia marcescens* pode induzir febre no gafanhoto do deserto, mas não no grilo doméstico.

Alguns mamíferos hibernam, mais notadamente os ursos, morcegos e alguns roedores. Nesse período, sua temperatura corpórea pode cair. Se os morcegos são resfriados a 8°C, eles cessam a produção de anticorpos, mas o reaquecimento permite a recuperação da síntese de anticorpos. Essa interrupção da resposta de anticorpos nos morcegos hibernantes pode possibilitá-los atuar como portadores persistentes de viroses como a raiva.

#### FONTES DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

- Adamo SA: The specificity of behavioral fever in the cricket, *Acheta domesticus*, *J Parasitol* 84:529-533, 1998.  
 Alder MN, Rogozin IB, Iyer LM, et al: Diversity and function of adaptive immune receptors in a jawless vertebrate, *Science* 310:1970-1973, 2005.  
 Arason GJ: Lectins as defense molecules in vertebrates and invertebrates, *Fish Shellfish Immunol* 6:277-289, 1996.

- Belov K, Hellman L, Cooper DW: Characterization of echidna IgM provides insights into the time of divergence of extant mammals, *Dev Comp Immunol* 26:831-839, 2002.  
 Cabanac M, Laberge F: Fever in goldfish is induced by pyrogens but not by handling, *Physiol Behav* 63:377-379, 1998.  
 Criscitello MF, Flajnik MF: Four primordial immunoglobulin light chain isotypes, including lambda and kappa, identified in the most primitive living jawed vertebrates, *Eur J Immunol* 37:2683-2694, 2007.  
 Diaz M, Stanfield RL, Greenberg AS, Flajnik MF: Structural analysis, selection, and ontogeny of the shark new antigen receptor (IgNAR): identification of a new locus preferentially expressed in early development, *Immunogenetics* 54:501-512, 2002.  
 Fleurant M, Changchien L, Chen CT, et al: Shark Ig light chain junctions are as diverse as in heavy chains, *J Immunol* 173:5574-5582, 2004.  
 Hanley PJ, Hook JW, Raftos DA, et al: Hagfish humoral defense protein exhibits structural and functional homology with mammalian structural components, *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:7910-7914, 1992.  
 Hansen JD, Landis ED, Phillips RB: Discovery of a unique Ig isotype (IgT) in rainbow trout: implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish, *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:6919-6924, 2005.  
 Hine PM: The granulocytes of fish, *Fish Shellfish Immunol* 2:79-98, 1992.  
 Holland MC, Lambris JD: The complement system in teleosts, *Fish Shellfish Immunol* 12:399-420, 2002.  
 Hordvik I: Identification of a novel immunoglobulin delta transcript and comparative analysis of the genes encoding IgD in Atlantic salmon and Atlantic halibut, *Mol Immunol* 39:85-91, 2002.  
 International Chicken Genome Sequencing Consortium: Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution, *Nature* 432:695-716, 2004.  
 Johansson J, Aveskogh M, Munday B, Hellman L: Heavy chain V region diversity in the duck-billed platypus (*Ornithorhynchus anatinus*): long and highly variable complementarity-determining region 3 compensates for limited germline diversity, *J Immunol* 168:5155-5162, 2002.  
 Joiner KS, Hoerr FJ, van Santen E, Ewald SJ: The avian major histocompatibility complex influences bacterial skeletal disease in broiler breeder chickens, *Vet Pathol* 42:275-281, 2005.  
 Kaufman J, Milne S, Göbel TWF, et al: The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex, *Nature* 401:923-925, 1999.  
 Kawashima M, Kuwamura M, Takeya M, et al: Morphologic characteristics of pulmonary macrophages in cetaceans: particular reference to pulmonary intravascular macrophages as a newly identified type, *Vet Pathol* 41:682-686, 2004.  
 Lee SY, Söderhäll K: Early events in crustacean innate immunity, *Fish Shellfish Immunol* 12:421-437, 2002.  
 Li J, Barreda DR, Zhang Y-A, et al: B lymphocytes from early vertebrates have potent phagocytic and microbicidal abilities, *Natu Immunol* 7:1116-1124, 2006.  
 Magor KE, Higgins DA, Middleton DL, Warr GW: One gene encodes the heavy chains for three different forms of IgY in the duck, *J Immunol* 153:5549-5555, 1994.  
 Mansikka A: Chicken IgA H chains: implications concerning the evolution of H chain genes, *J Immunol* 149:855-861, 1992.  
 Moon DA, Veniamin SM, Parks-Dely JA, Magor KE: The MHC of the duck (*Anas platyrhynchos*) contains five differentially expressed class I genes, *J Immunol* 175:6702-6712, 2005.  
 Nonaka M, Smith SL: Complement system of bony and cartilaginous fish, *Fish Shellfish Immunol* 10:215-228, 2000.  
 Ohta Y, Flajnik M: IgD, like IgM, is a primordial immunoglobulin class perpetuated in most jawed vertebrates, *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:10723-10726, 2006.  
 Pancer Z, Saha NR, Kasamatsu J, et al: Variable lymphocyte receptors in hagfish, *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9224-9229, 2005.  
 Parra ZE, Baker ML, Schwartz RS, et al: A unique T cell receptor discovered in marsupials, *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:9776-9781, 2007.

Pilström L: The mysterious immunoglobulin light chain, *Dev Comp Immunol* 26:207-215, 2002.

Pilström L, Bengten E: Immunoglobulin in fish—genes, expression and structure, *Fish Shellfish Immunol* 6:243-262, 1996.

Ratcliffe MJ, Jacobsen KA: Rearrangement of immunoglobulin genes in chicken B cell development, *Semin Immunol* 6:175-184, 1994.

Reite OB: The rodlet cells of teleostean fish: their potential role in host defense in relation to the role of mast cells/eosinophilic granule cells, *Fish Shellfish Immunol* 19:253-267, 2005.

Roach JC, Glusman G, Rowen L, et al: The evolution of vertebrate Toll-like receptors, *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9577-9582, 2005.

Secombes CJ, Hardie LJ, Daniels G: Cytokines in fish: an update, *Fish Shellfish Immunol* 6:291-304, 1996.

Stanfield RL, Dooley H, Flajnik MF, Wilson IA: Crystal structure of a shark single-domain antibody V region in complex with lysozyme, *Science* 305:1770-1773, 2004.

Streltsov VA, Varghese JN, Carmichael JA, et al: Structural evidence for evolution of shark Ig new antigen receptor variable domain antibodies from a cell-surface receptor, *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:12444-12449, 2004.

Sunyer JO, Zarkadis IK, Lambris JD: Complement diversity: a mechanism for generating immune diversity? *Immunol Today* 19:519-523, 1998.

Vernersson M, Aveskogh M, Munday B, Hellman L: Evidence for an early appearance of modern post-switch immunoglobulin isotypes in mammalian evolution (II); cloning of IgE, IgG1 and IgG2 from a monotreme, the duck-billed platypus, *Ornithorhynchus anatinus*, *Eur J Immunol* 32:2145-2155, 2002.

Warr GW: The immunoglobulin genes of fish, *Dev Comp Immunol* 19:1-12, 1995.

Warr GW, Magor KE, Higgins DA: IgY: clues to the origins of modern antibodies, *Immunol Today* 16:392-398, 1995.

Wilson R, Chen C, Ratcliffe NA: Innate immunity in insects: the role of multiple, endogenous serum lectins in the recognition of foreign invaders in the cockroach, *Blaberus discoidalis*, *J Immunol* 162:1590-1596, 1999.

Yilmaz A, Shen S, Adelson DL, et al: Identification and sequence analysis of chicken Toll-like receptors, *Immunogenetics* 56:743-753, 2005.

Zhao Y, Pan-Hammarström Q, Yu S, et al: Identification of IgF, a hinge-region-containing Ig class, and IgD in *Xenopus tropicalis*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:12087-12092, 2006.

PONTOS-CHAVE

- Testes para anticorpos básicos podem ser utilizados para detectar a presença de uma doença infecciosa. Anticorpos específicos também podem ser utilizados para identificar um antígeno desconhecido.
- Os testes mais sensíveis e específicos detectam de forma direta o antígeno ou anticorpo de interesse. Estes testes são designados testes de ligação primária. Um exemplo de teste de ligação primária é um ensaio imunoenzimático.
- Testes de ligação secundária tendem a ser os mais fáceis de serem realizados, mas são menos sensíveis que os de ligação primária. Exemplos incluem os testes de precipitação e aglutinação.
- Os testes terciários mensuram diretamente a proteção. Eles são normalmente complexos e por isso podem não ser tão úteis para testes rápidos. Um exemplo é um teste de neutralização viral.

- Testes sorológicos são julgados pelo número de resultados falso-positivos que podem gerar (sua especificidade) e pelo número de testes falso-negativos que podem gerar (sua sensibilidade).
- Em geral, testes que possuem alta sensibilidade tendem a ter baixa especificidade e vice-versa.

As respostas imunes são utilizadas de dois modos para diagnosticar uma doença. Primeiro, os anticorpos podem ser utilizados para detectar ou identificar um antígeno de interesse. Estes antígenos podem estar associados a um agente infeccioso ou simplesmente ser moléculas que necessitam ser localizadas ou mensuradas. Segundo, através da detecção de anticorpos específicos no soro, é possível determinar