

Apresentando a Imunidade Inata

- ***Células e fatores solúveis***
- ***Sistema complemento***
- ***Bases do reconhecimento inato***

Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes

Departamento de Imunologia
Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo

Tópicos Essenciais da Aula

- 1. Quais são os componentes da resposta imune inata?**
- 2. Como os componentes da imunidade natural reconhecem os microrganismos?**
- 3. Quais respostas são geradas aos diversos grupos de microrganismos após seu reconhecimento?**
- 4. Sistema complemento: vias de ativação, mecanismos efetores e regulação.**

Respostas Imunes: divisões e geração

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

Barreiras biológicas

Inflamação aguda

**RESPOSTA IMUNE ADAPTATIVA OU ADQUIRIDA
(NEO-FORMADA)**

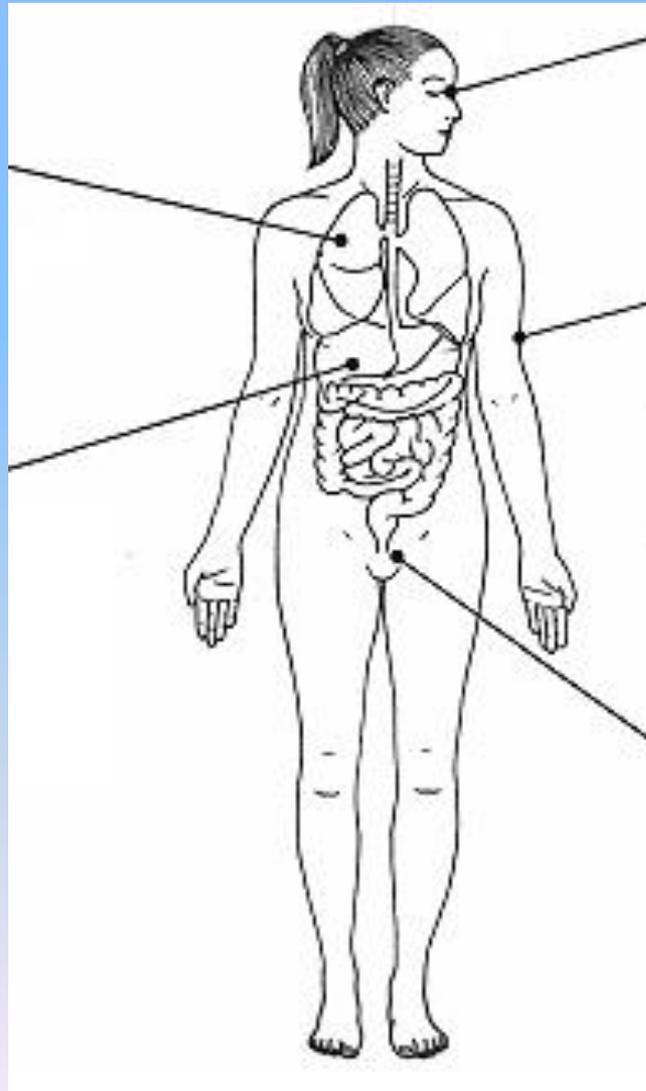
Geração de memória

Imunidade Natural

Barreiras Constitutivas (Físicas e Bioquímicas)

Trato respiratório

- 1. Muco**
- 2. Epitélio ciliado**
- 3. Fagocitose**



Olhos

- 1. Fluxo das lágrimas**
- 2. Lisozima**

Pele

- 1. Barreira anatômica, suor, sebo**
- 2. Secreções antimicrobianas, ácido láctico, ácidos graxos livres**
- 3. pH ácido (glândulas sudoríparas)**
- 4. Microbiota comensal**

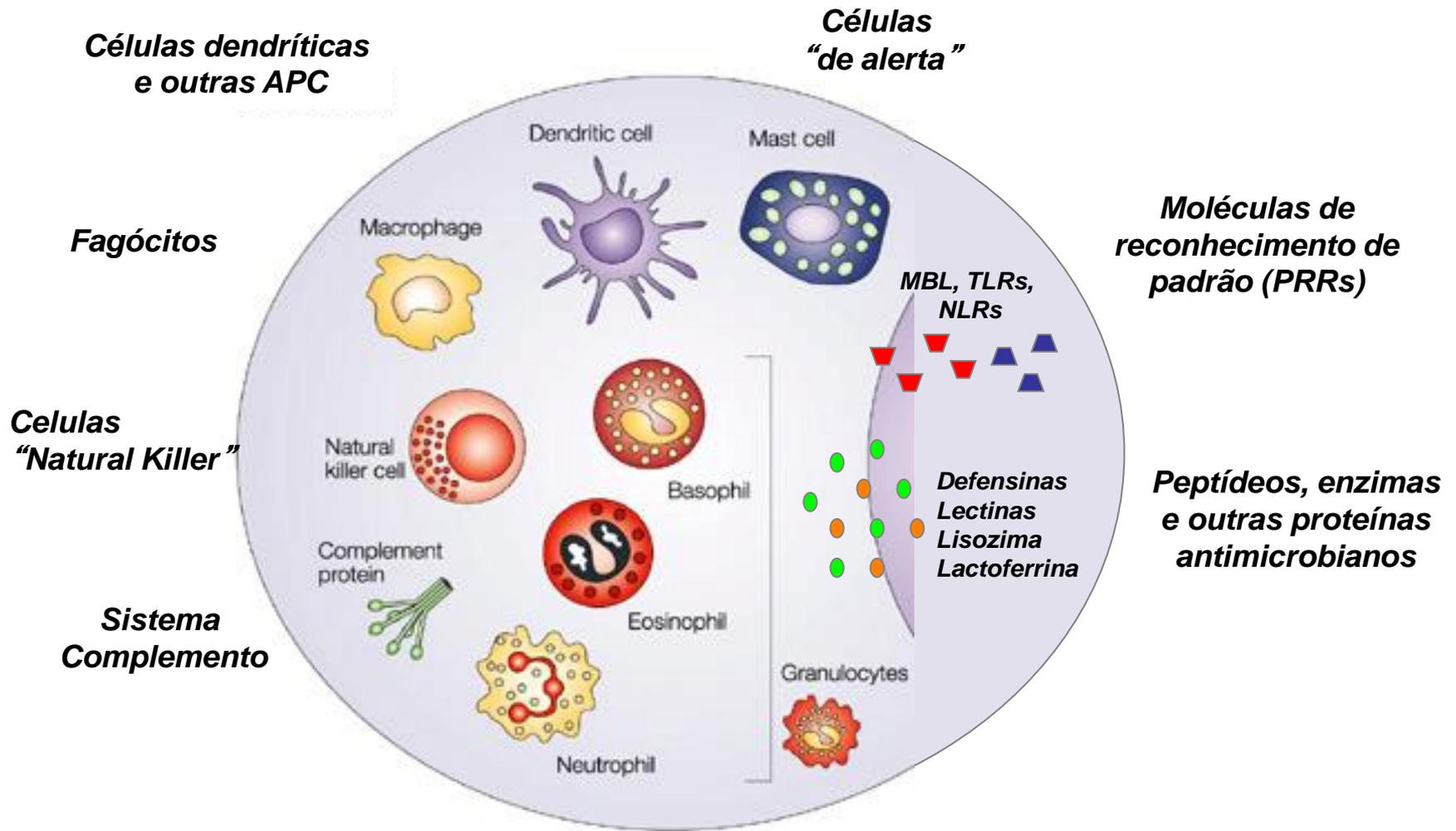
Trato genito-urinário

- 1. Fluxo urinário**
- 2. pH ácido – urina**
- 3. Lisozima**
- 4. Ácido láctico vaginal**

Trato digestório

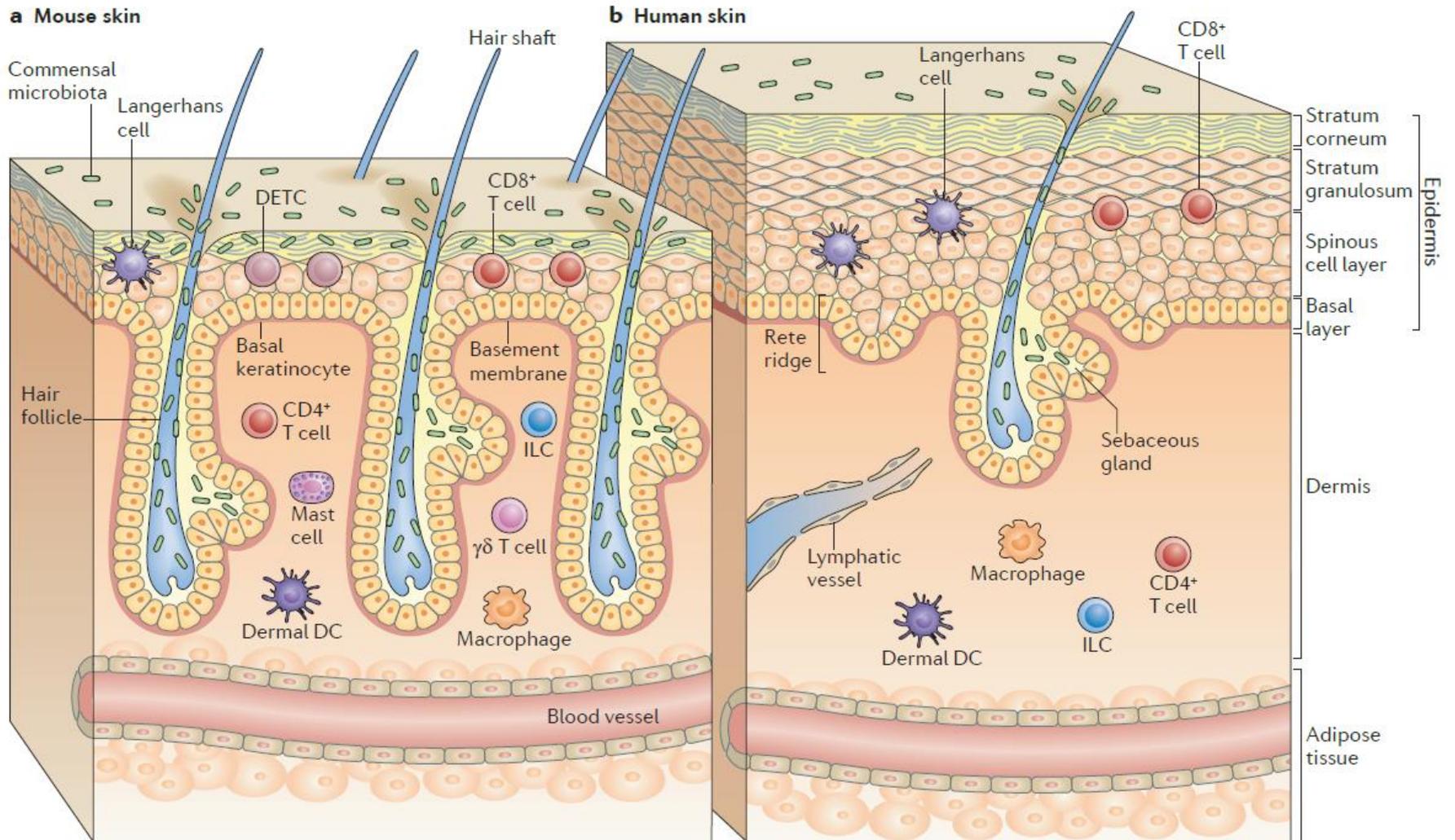
- 1. pH ácido - estômago**
- 2. Microbiota normal**
- 3. pH alcalino - intestino**
- 4. Fluxo mecânico**
- 5. Enzimas**
- 6. Moléculas bactericidas**

Imunidade Inata e seus elementos



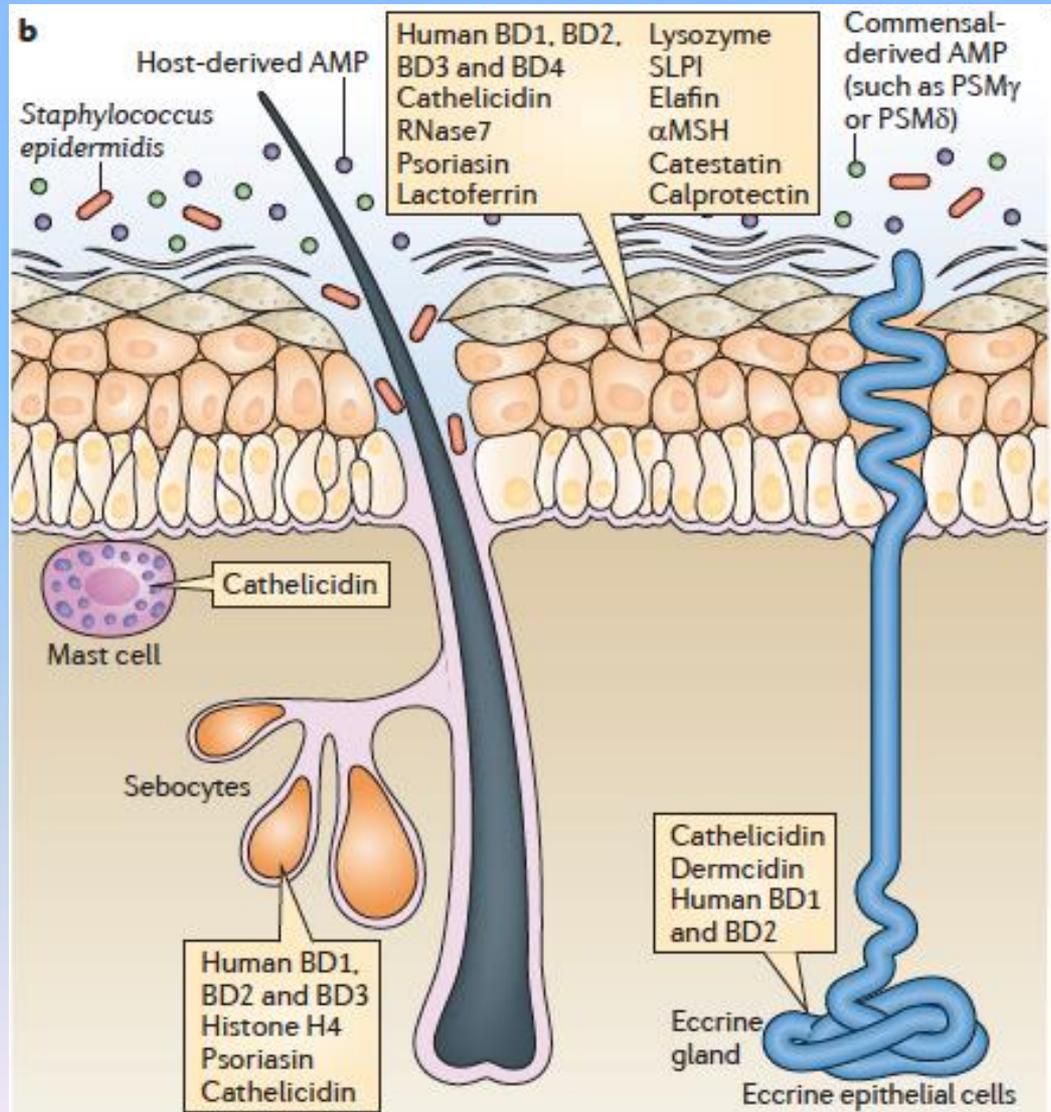
Imunidade Inata: pele e mucosas

Pele



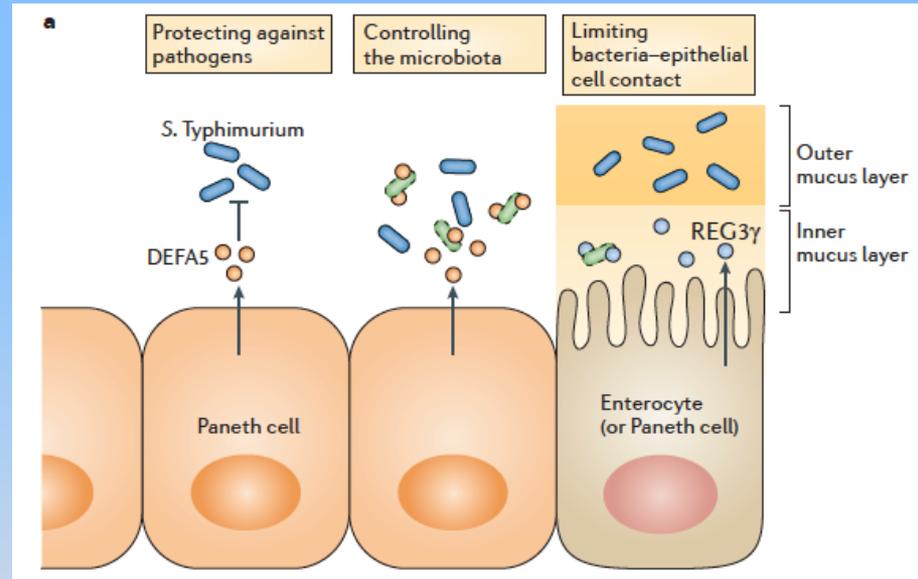
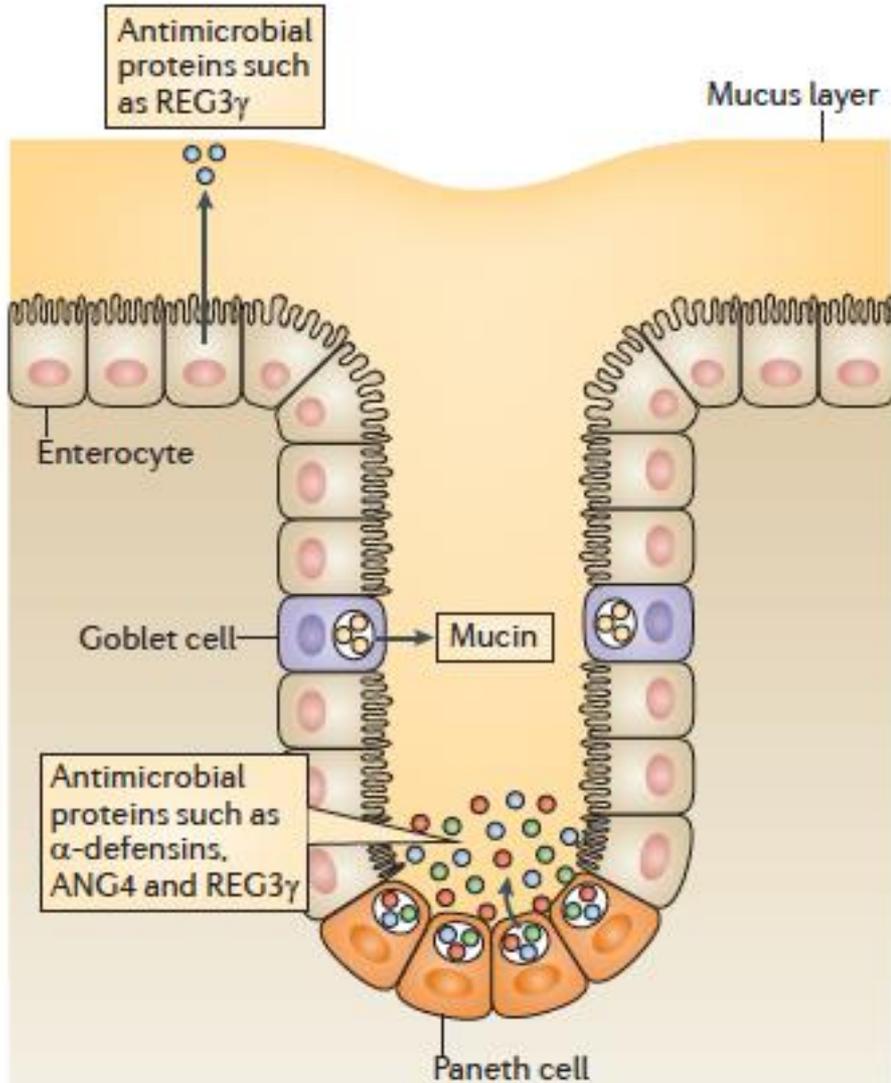
Imunidade Inata: pele e mucosas

Pele



Imunidade Inata: pele e mucosas

Intestino



Proteínas antimicrobianas

Lisozima (LYZ)

- *Hidrólise do peptidoglicano de bactérias Gram+ (ex.: Streptococcus sp.)*
- *Presente na lágrima, saliva e secreções das mucosas*

Fosfolipase A2 (PLA2)

- *Hidrólise de fosfolípídeos da membrana de bactérias Gram+*
- *Presente na lágrima, secreções intestinais e fluidos inflamatórios*

Lactoferrina (LF)

- *Liga o Ferro (família das transferrinas): competição hospedeiro/patógeno*
- *Liga receptores microbianos, principalmente virais: inibe crescimento e replicação, reduz entrada de vírus nas células e infecção*
- *Aumenta atividade de células NK*
- *Liga DNA e RNA microbiano, afetando a transcrição e tradução de proteínas*
- *Presente nos grânulos secundários dos neutrófilos, saliva, lágrimas, secreções mucosas e no leite materno*
- *Revisão de interesse: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X14002864>*

Peptídeos antimicrobianos (AMPs)

Peptídeos catiônicos de 3-5 KDa

- α -defensinas: neutrófilos, células NK, linfócitos T e células de Paneth
- β -defensinas: leucócitos e células epiteliais

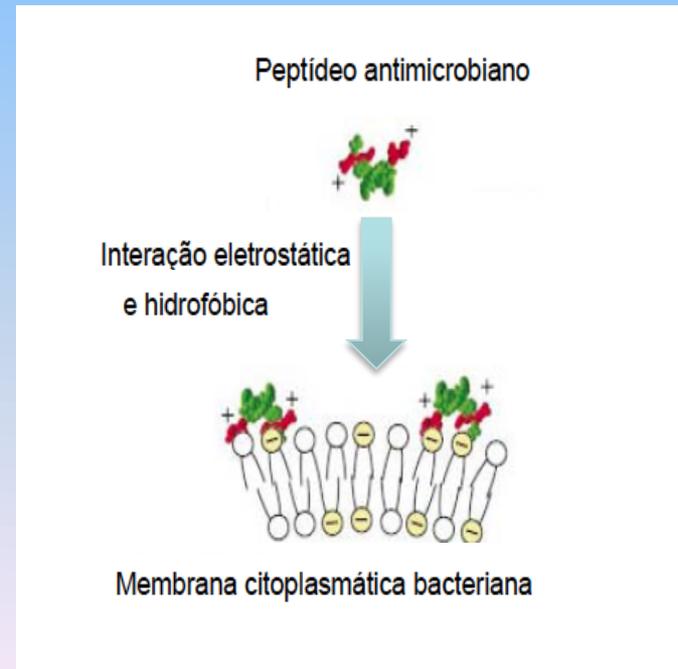
Ação microbicida

- destruição da membrana e formação de poros
- outros mecanismos com alvo intracelular (inibição síntese DNA e/ou RNA e/ou proteínas; inibição respiração mitocondrial)

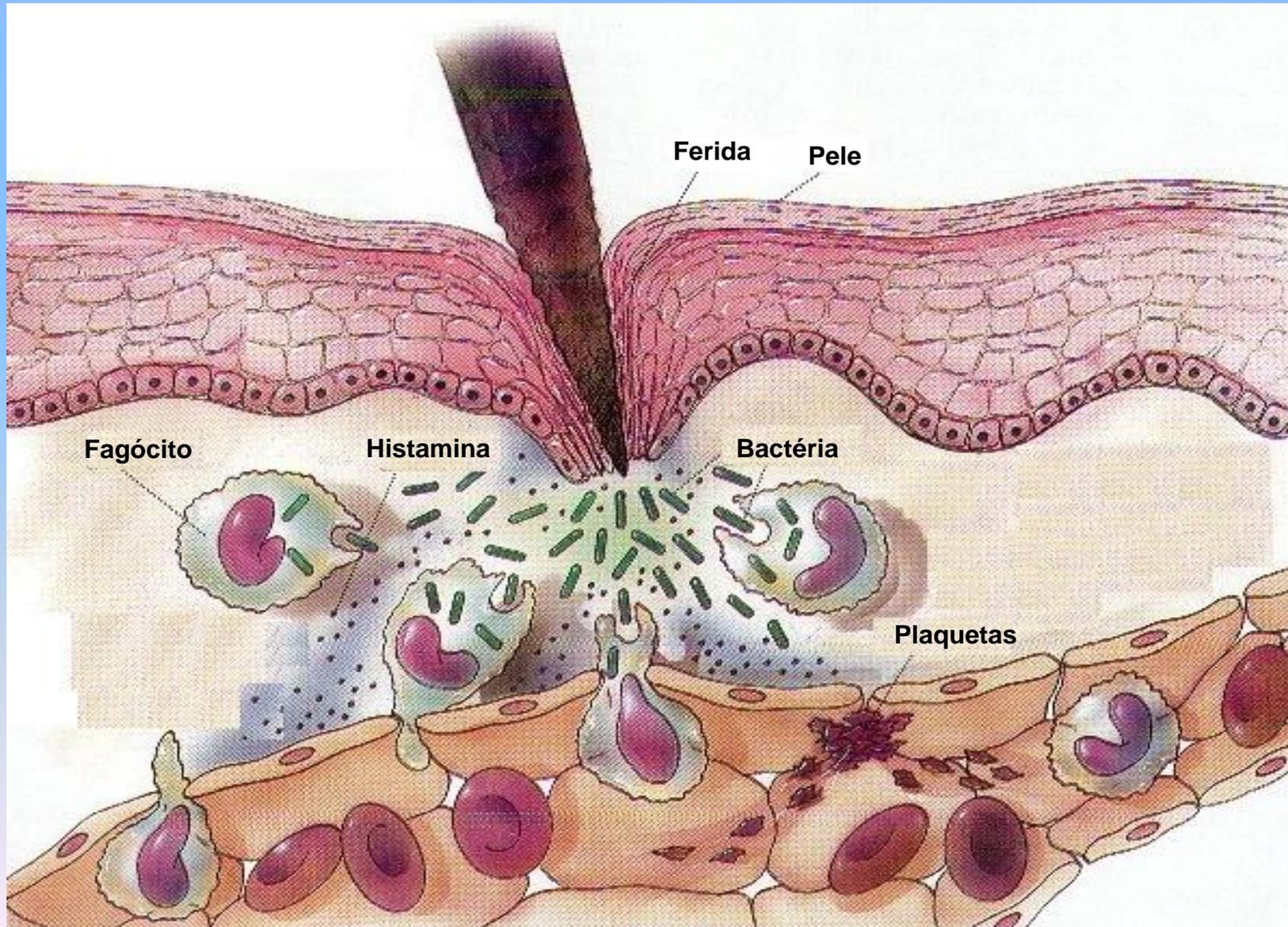
Atividade anti-viral

Atividade quimiotática

Expressão constitutiva e induzida



Ruptura de Barreira Física (Invasão)



Ruptura de Barreira Física (Invasão)

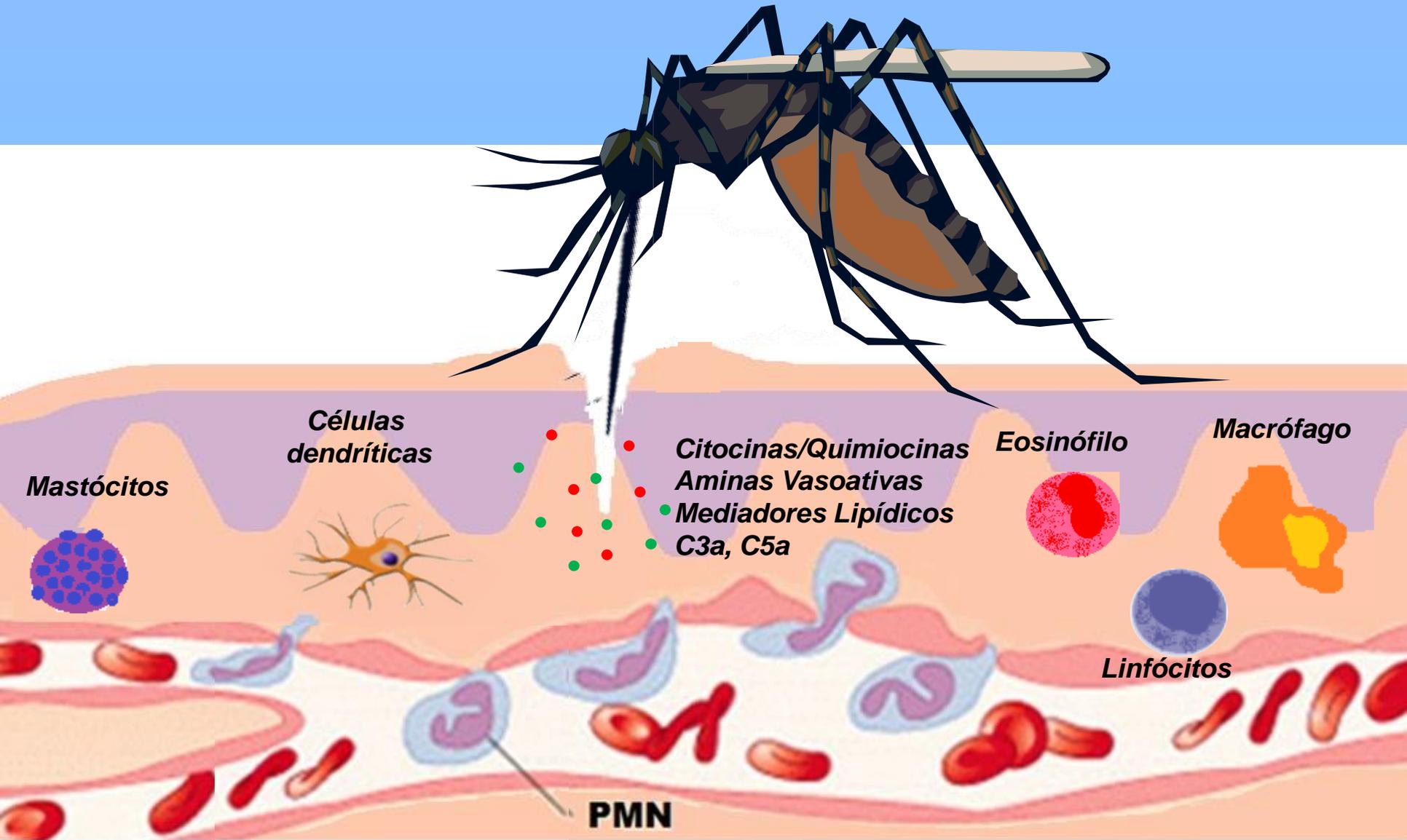


Fonte: Getty Images



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

Pele: Células Residentes, Mediadores Inflamatórios e Células Inflamatórias



INFLAMAÇÃO



CALOR

RUBOR

TUMOR

DOR

**PERDA
DA FUNÇÃO**

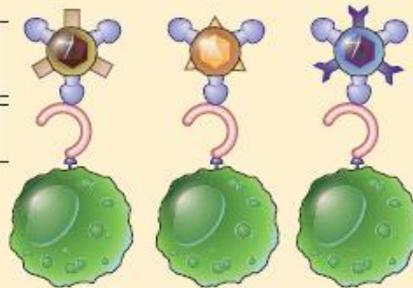
SINAIS CLÁSSICOS DA INFLAMAÇÃO

Imunidade Inata: Reconhecimento dos Microorganismos

Especificidade

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

Microrganismos diferentes
Receptores de manose idênticos

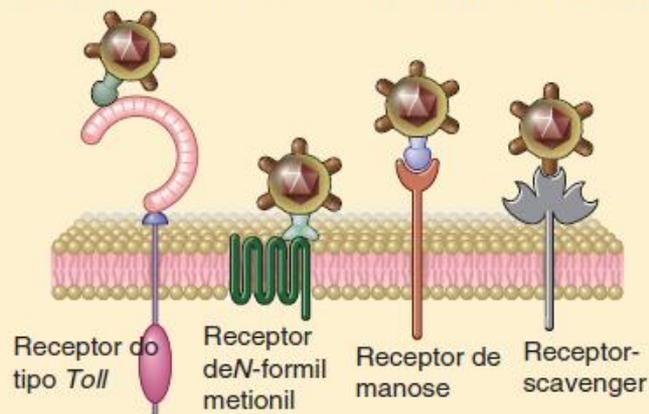


Número de moléculas microbianas reconhecidas

Cerca de 1.000 padrões moleculares (estimativa)

Receptores

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



Número e tipos de receptores

< 100 tipos diferentes de receptores invariáveis

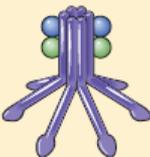
MAMPs

PAMPs

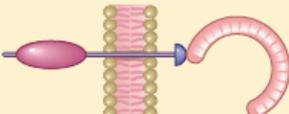
DAMPs

PRRs

Receptores de reconhecimento de padrão solúveis

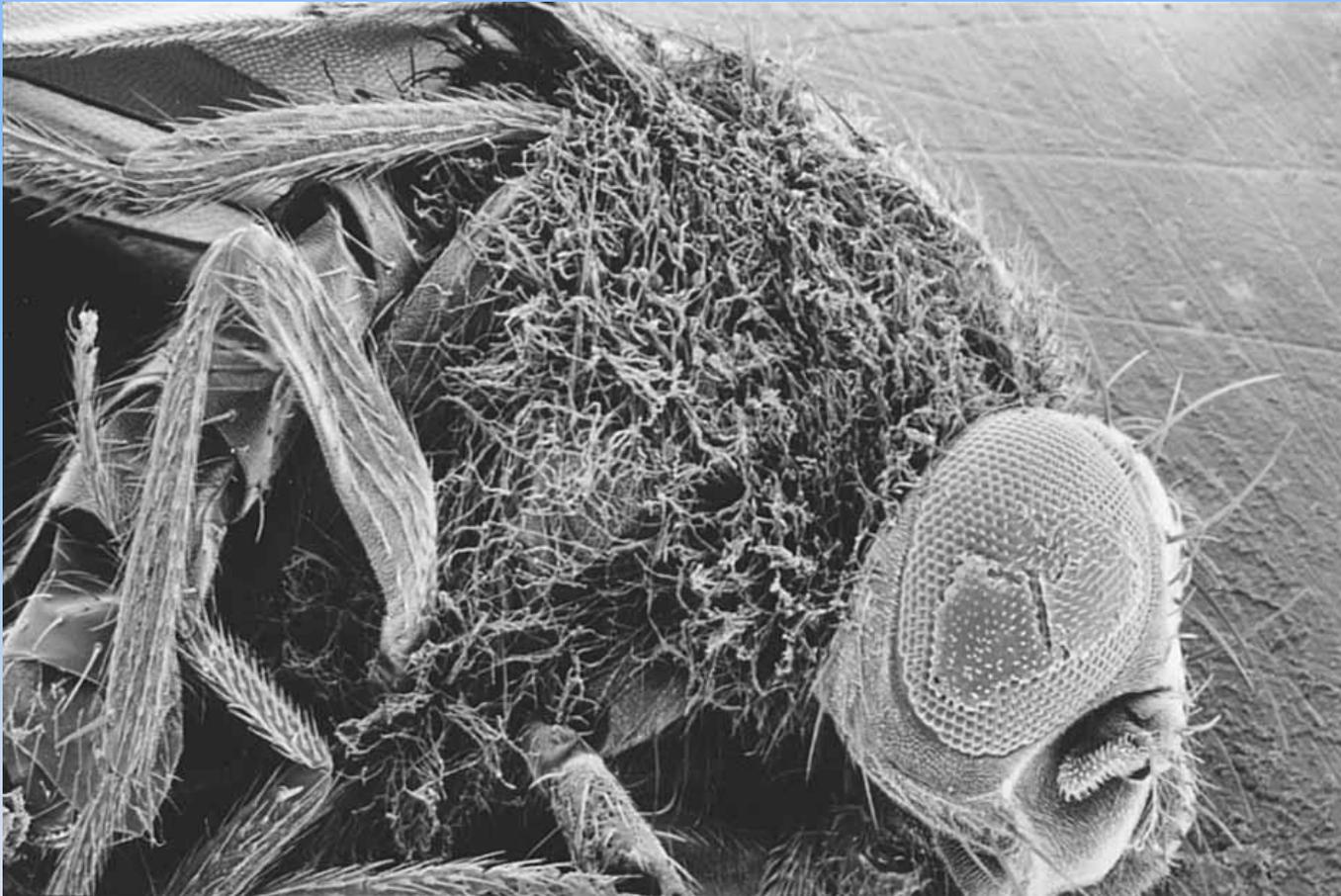
Receptores de Reconhecimento de Padrão Solúveis	Localização	Exemplos específicos	Ligantes (PAMPs ou DAMPs)
<p>Pentraxinas</p> 	Plasma	Proteína C reativa	Fosforilcolina e fosfatidiletanolamina microbianas
<p>Colectinas</p> 	Plasma Alvéolos	Lectina ligante de manose Proteínas surfactantes SP-A e SP-D	Carboidratos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

Receptores de reconhecimento de padrão associados à célula

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

Reconhecimento de Estruturas Conservadas

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

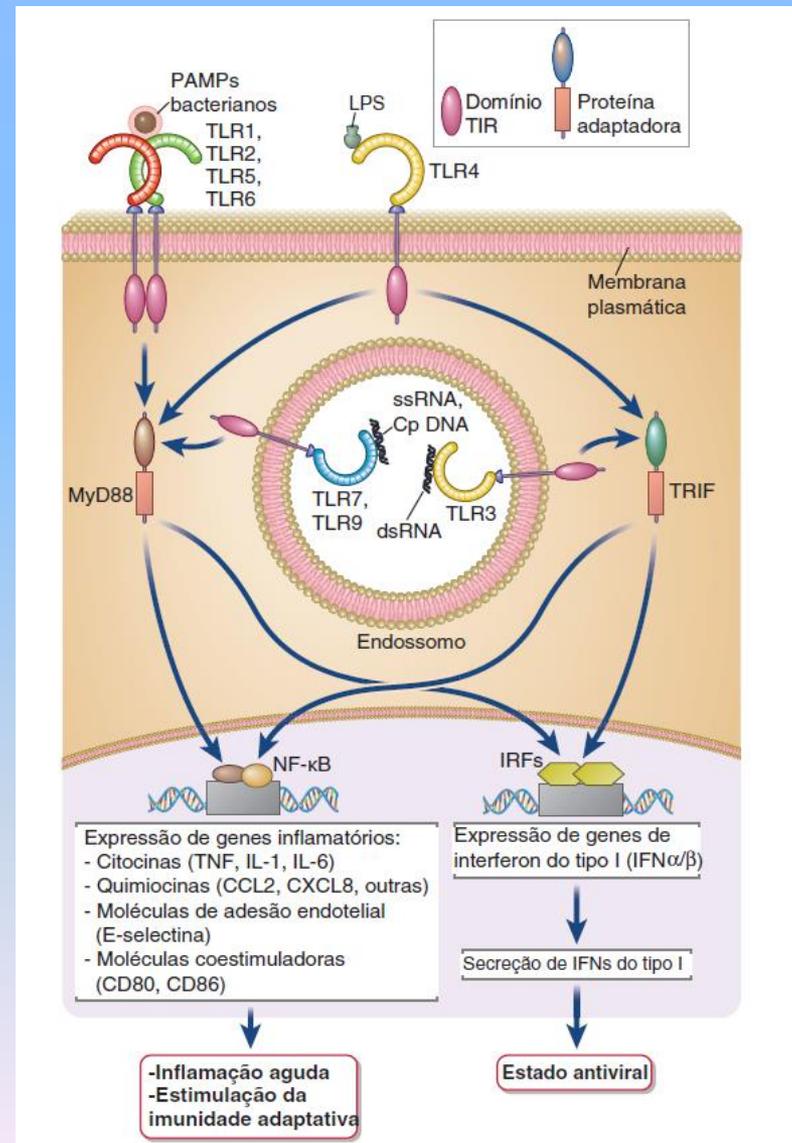
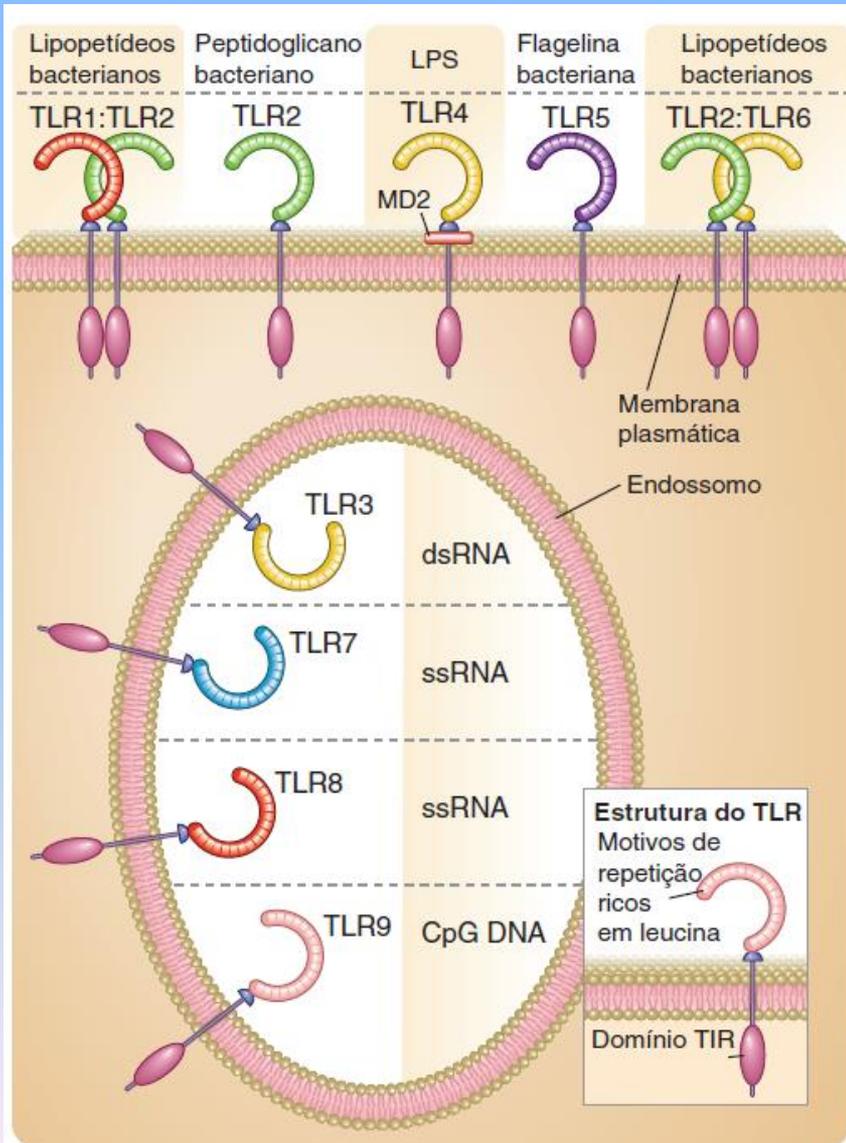


Cell, Vol. 86, 973-983, September 20, 1996, Copyright ©1996 by Cell Press

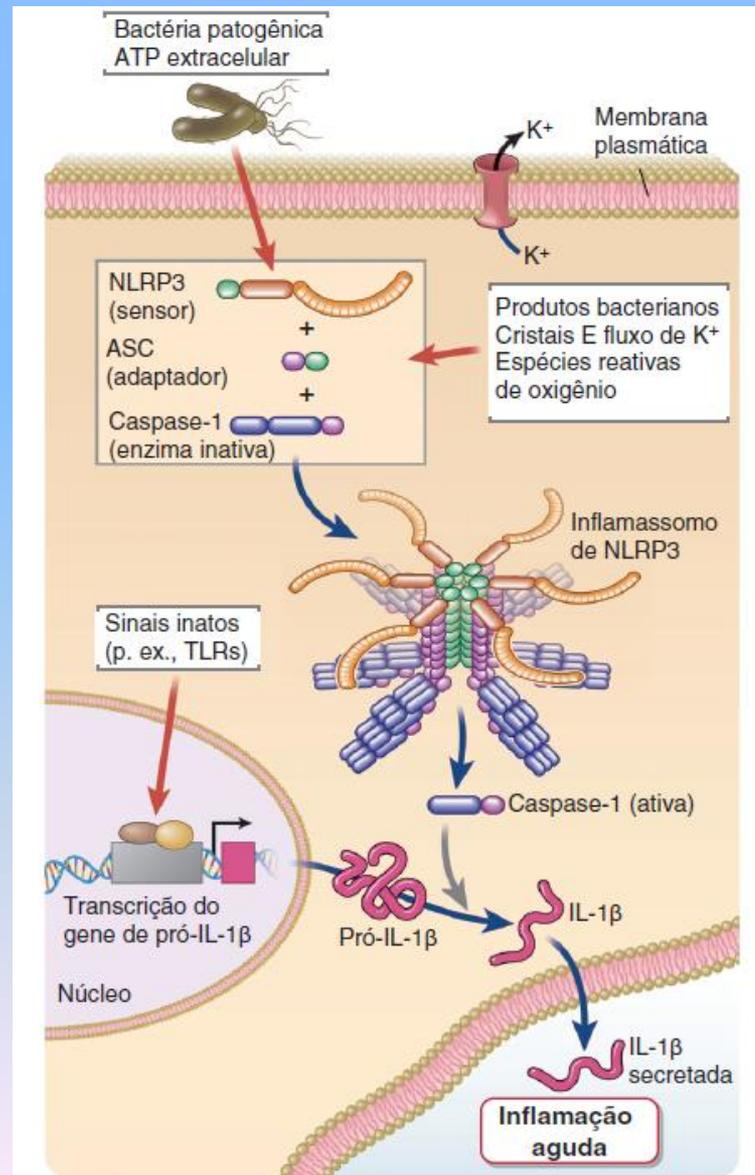
**The Dorsoventral Regulatory Gene Cassette
spätzle/Toll/cactus Controls the
Potent Antifungal Response in *Drosophila* Adults**

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

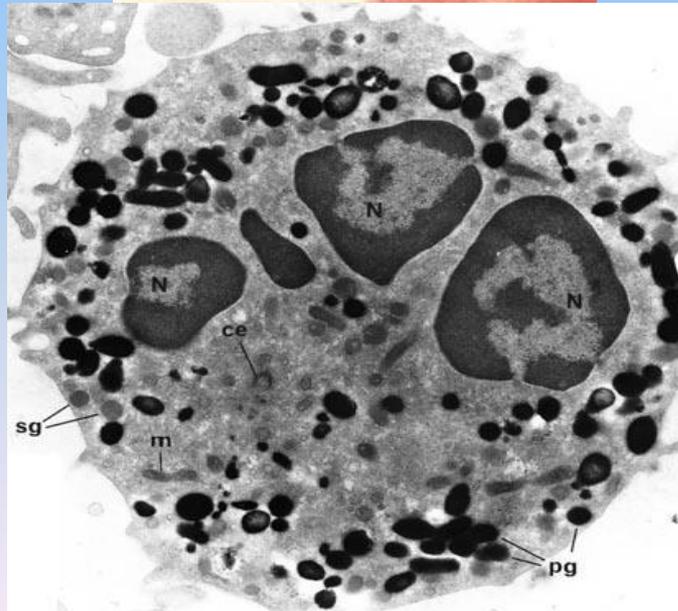
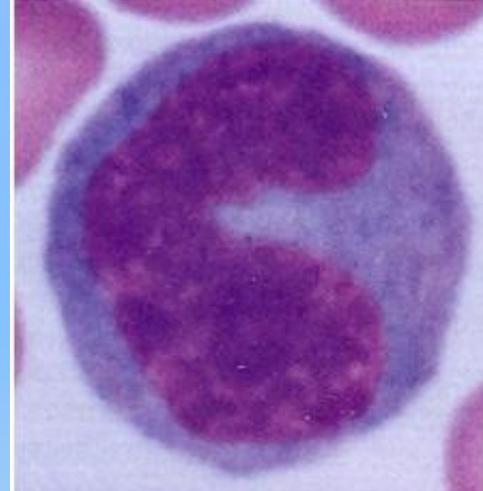
Receptores do tipo Toll (Toll-like receptors - TLRs)



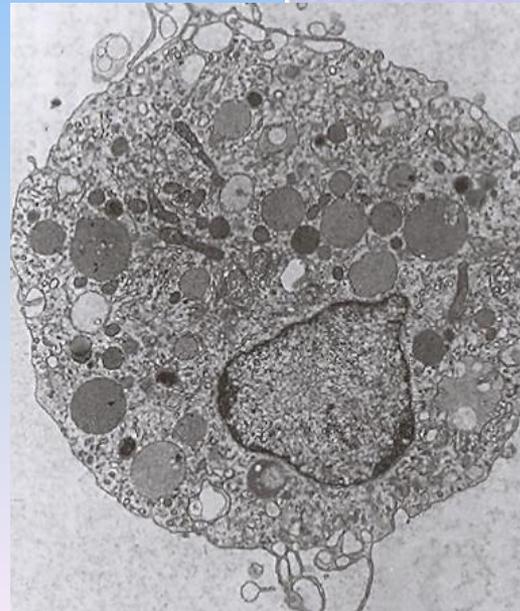
Receptores do tipo NOD (NOD-like receptors - NLRs)



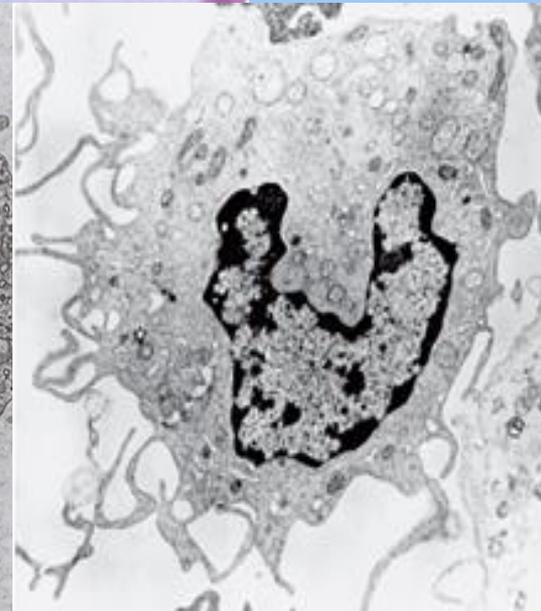
Mecanismos Efetores Celulares: Fagocitose



Neutrófilo

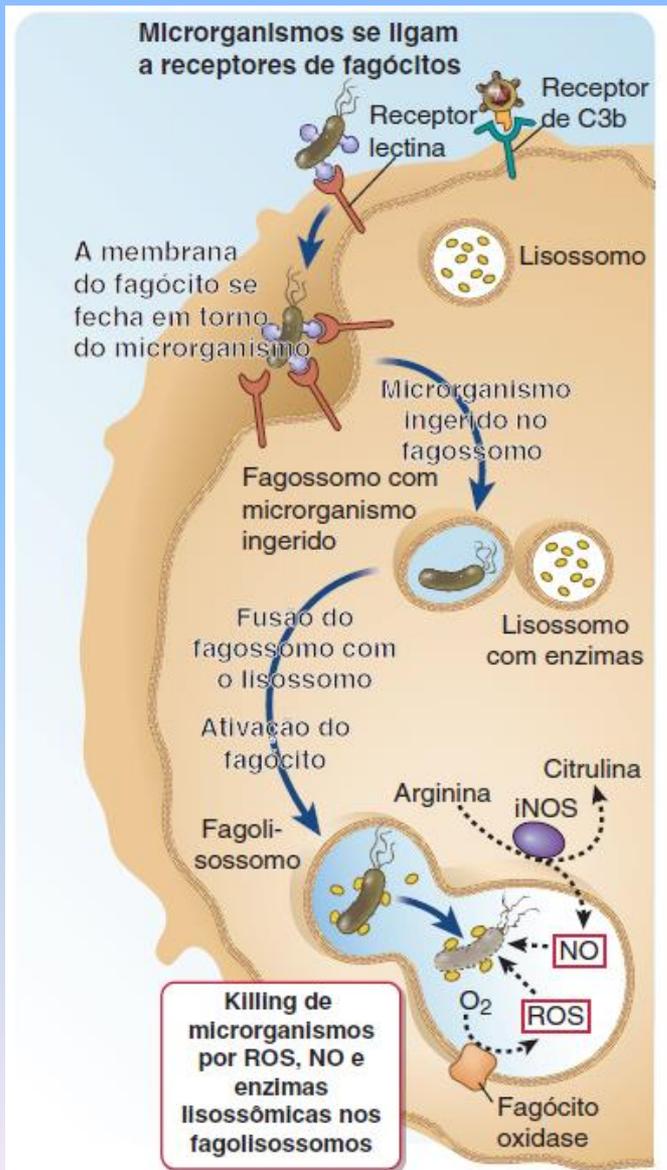


Macrófago

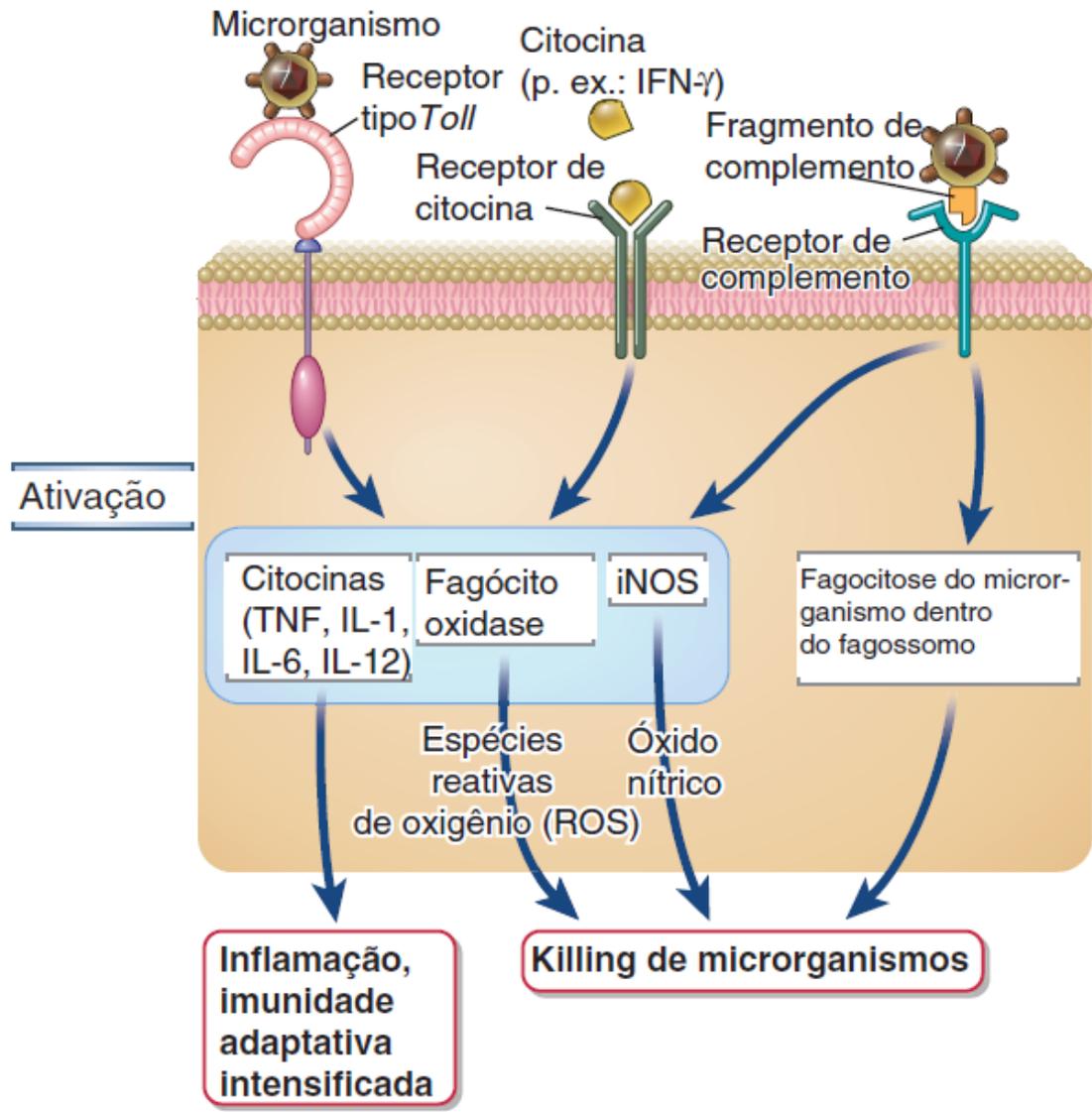
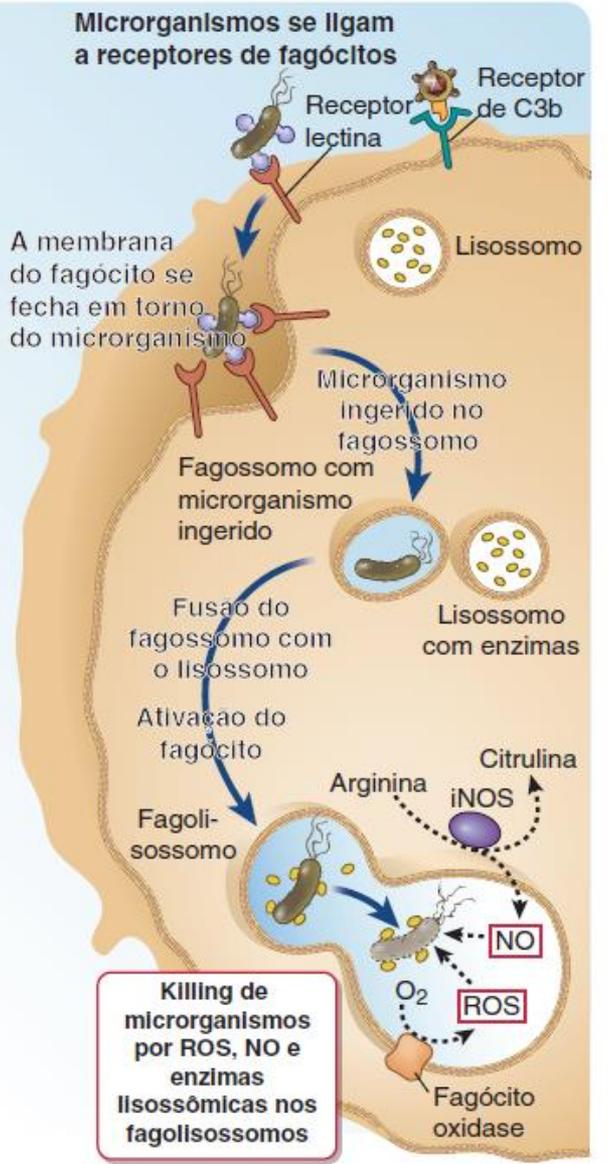


Célula Dendrítica

Resistência Natural as Infecções



Resistência Natural as Infecções

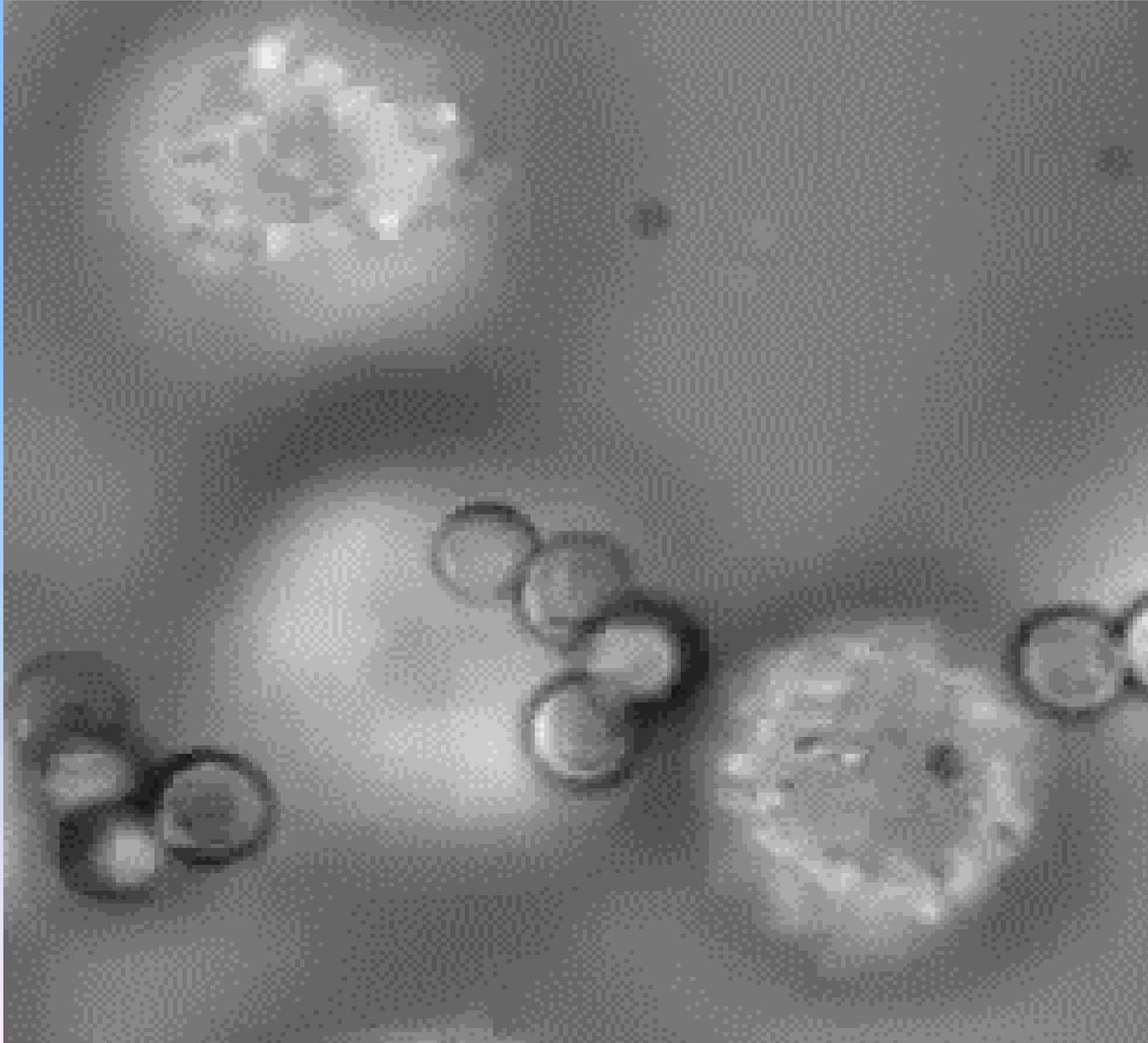


Neutrófilo fagocitando bactéria



© TIMELAPSE VISION INC.

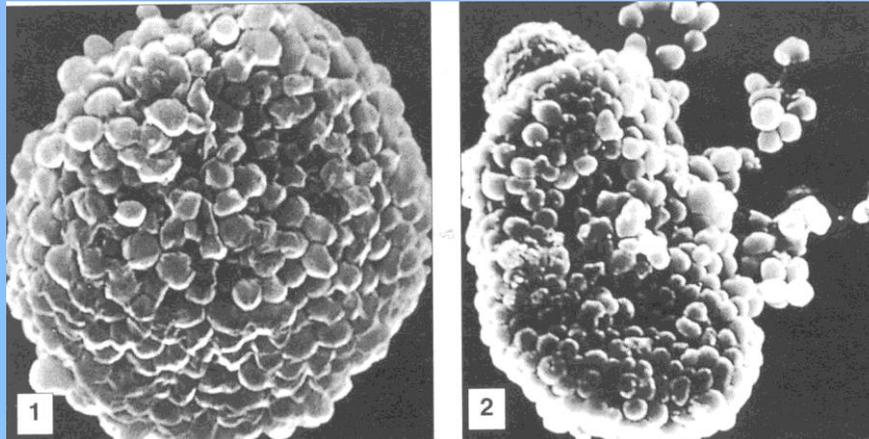
Macrófagos fagocitando conídios



Resistência Natural a Infecções: fagócitos

- 1. Citocinas inflamatórias***
- 2. Intermediários reativos do oxigênio (ROI) produzidos pela oxidase dos fagócitos***
- 3. Intermediários reativos do nitrogênio (RNI) produzidos pela óxido nítrico sintase induzida (iNOS)***
- 4. Enzimas proteolíticas lisossomais***

Mastócitos

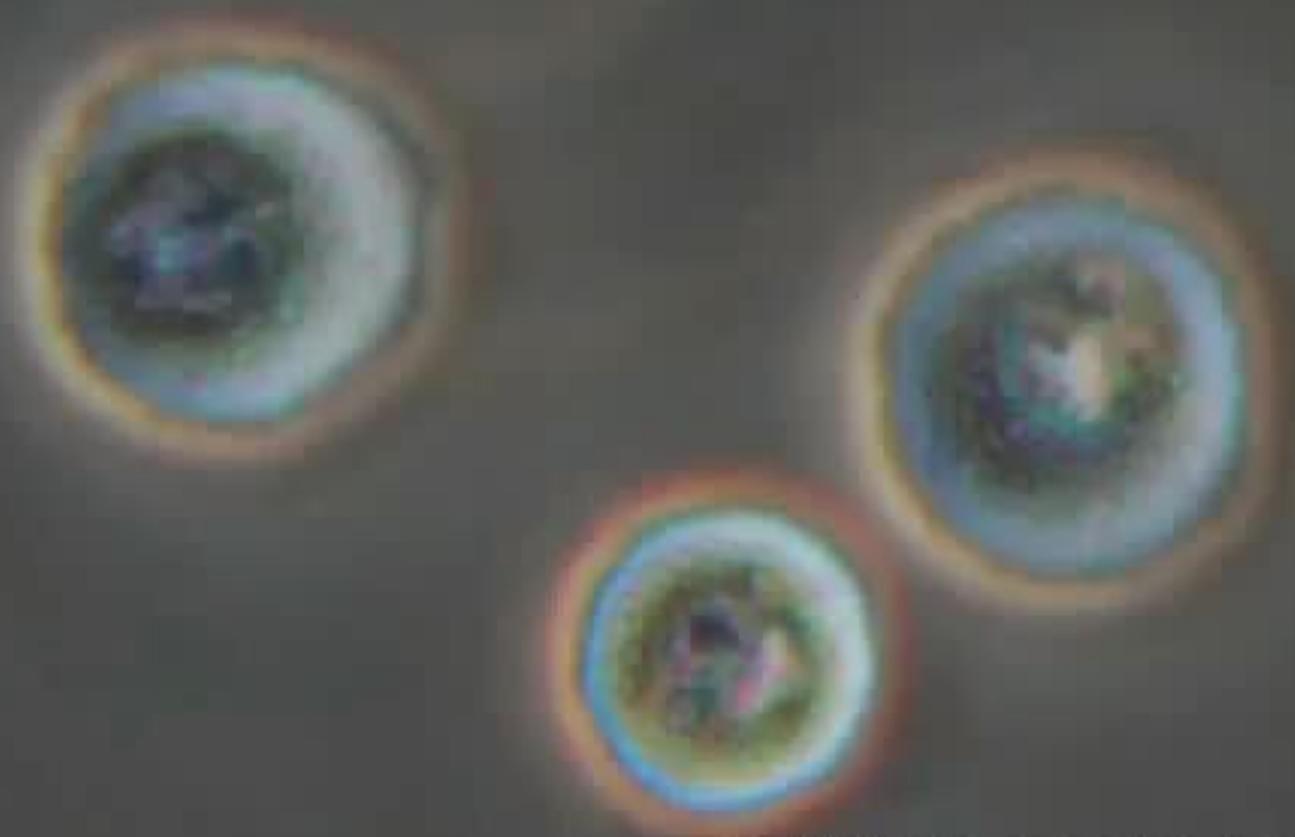


Roitt, 4th Edicao, 1997.

Principais constituintes dos grânulos

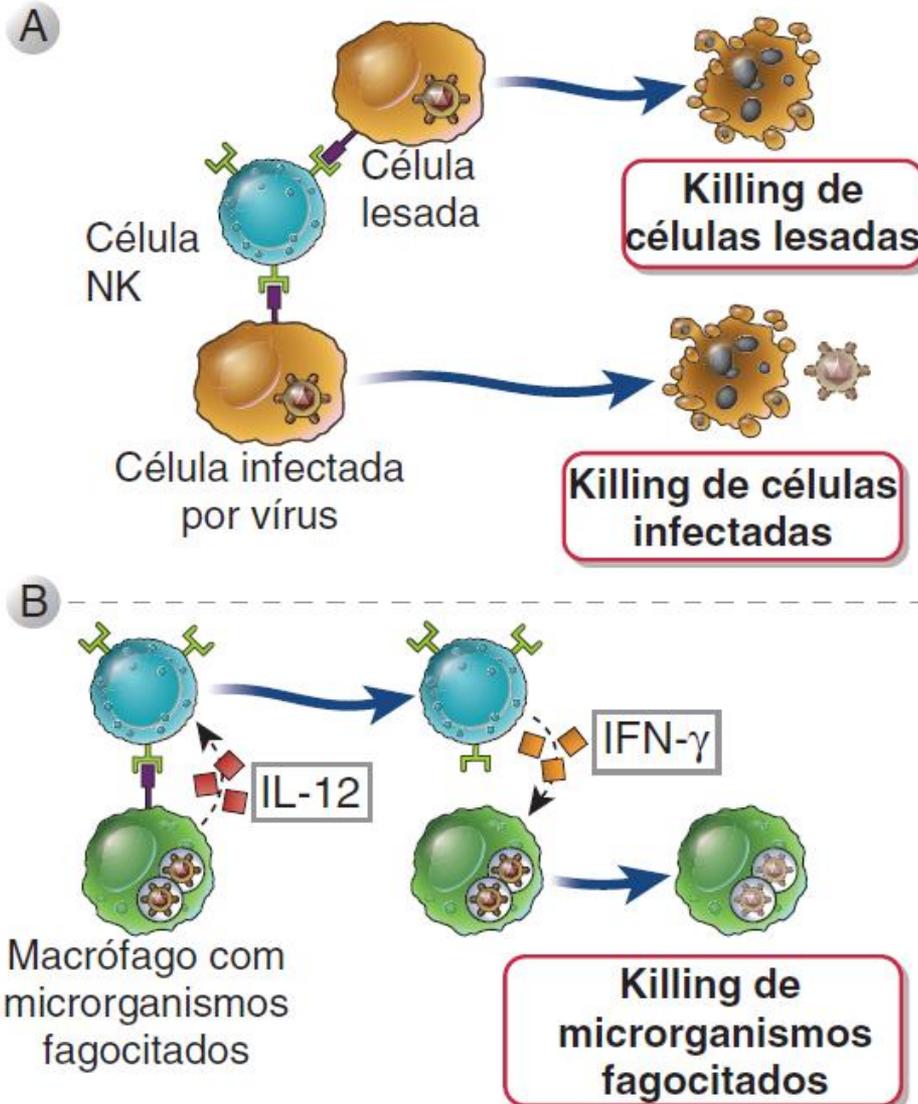
- **aminas biogênicas (vasoativas): histamina e serotonina**
- **serina proteases neutras: triptase e quimase**
- **outras enzimas: carboxipeptidase A e catepsina G**
- **proteoglicanas**
- **citocinas**

Desgranulação de Mastócitos

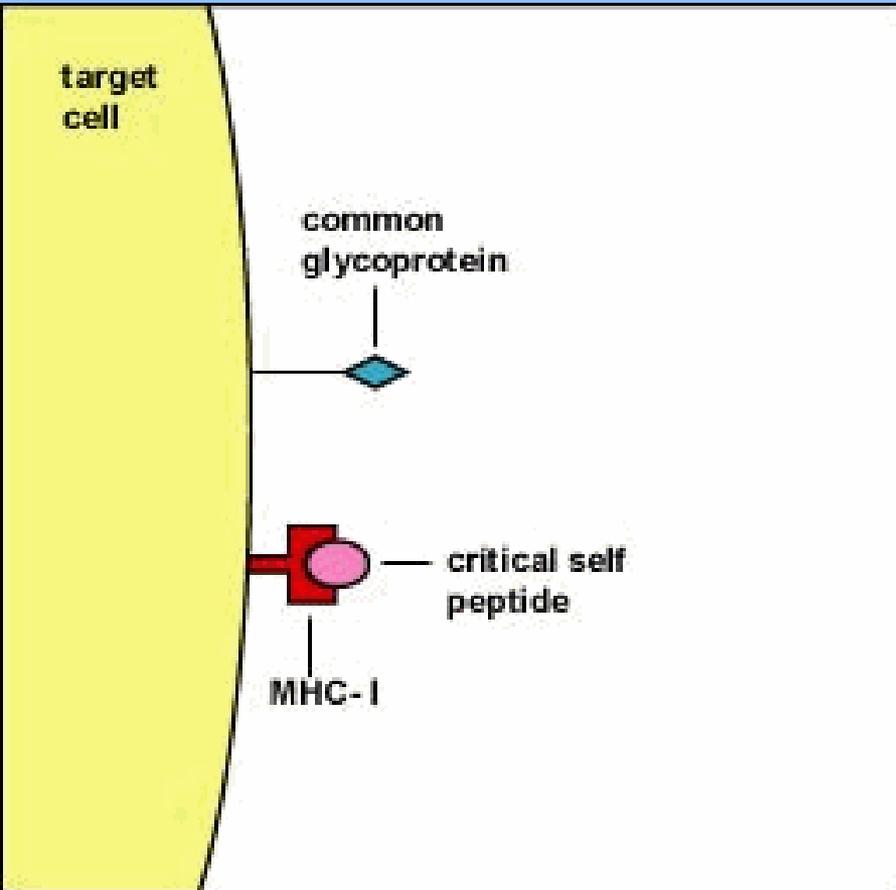


© TIMELAPSE VISION INC.

Células NK: ***população linfóide que atua na imunidade inata***

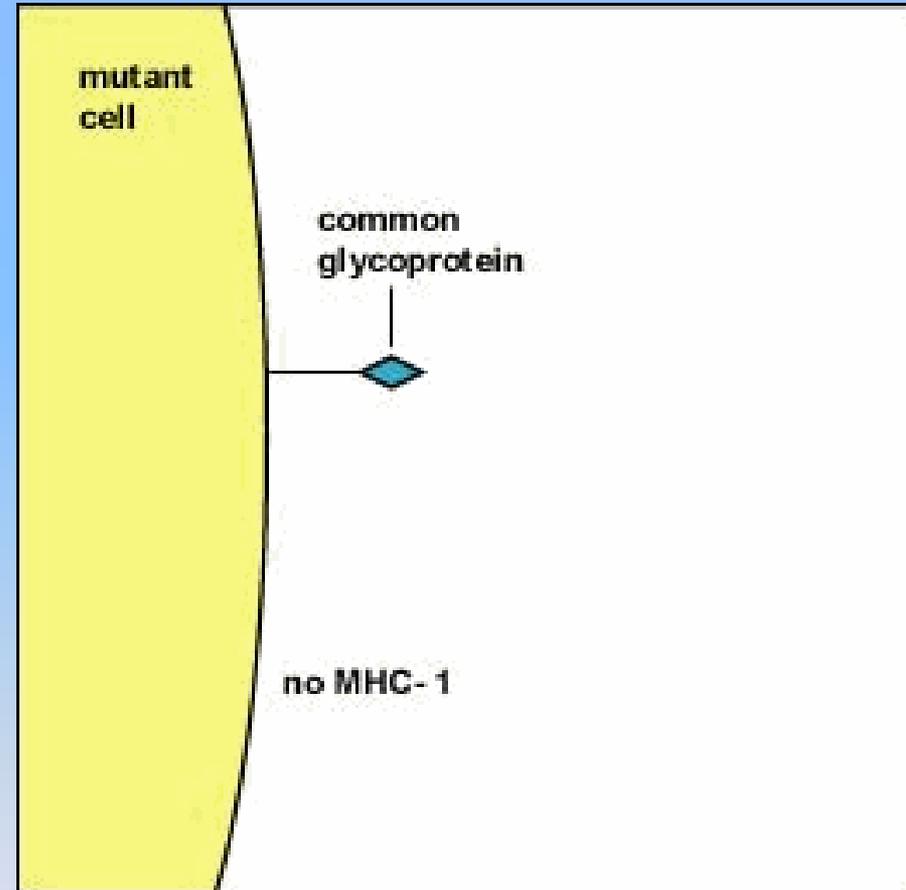


Mecanismo de Ação das Células NK



***CÉLULAS PRÓPRIAS
EXPRESSANDO NÍVEIS NORMAIS
DE MHC I INIBEM AS NK***

Mecanismo de Ação das Células NK

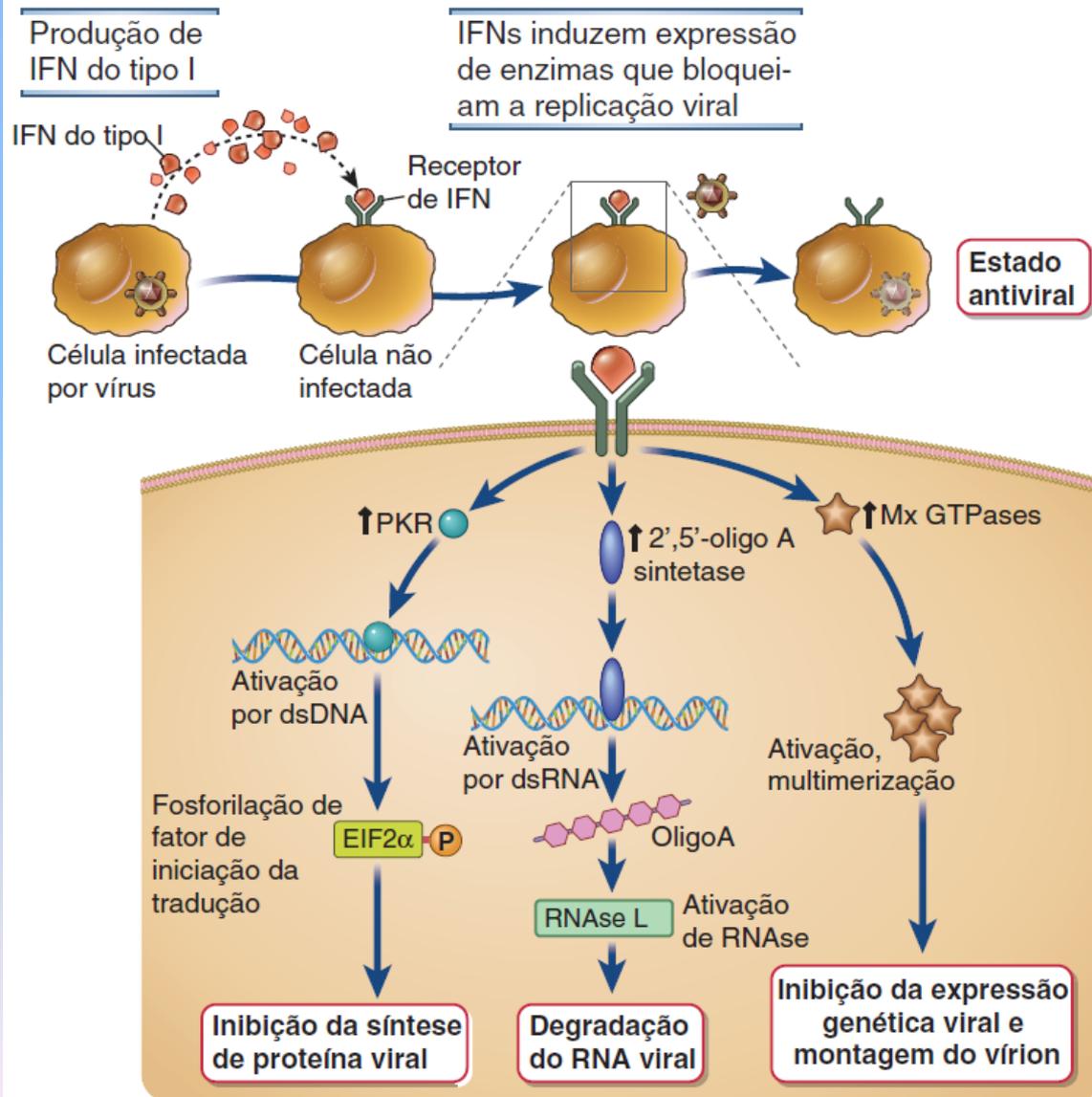


***AS NK MATAM CÉLULAS
EXPRESSANDO
NÚMERO REDUZIDOS DE MHC I***

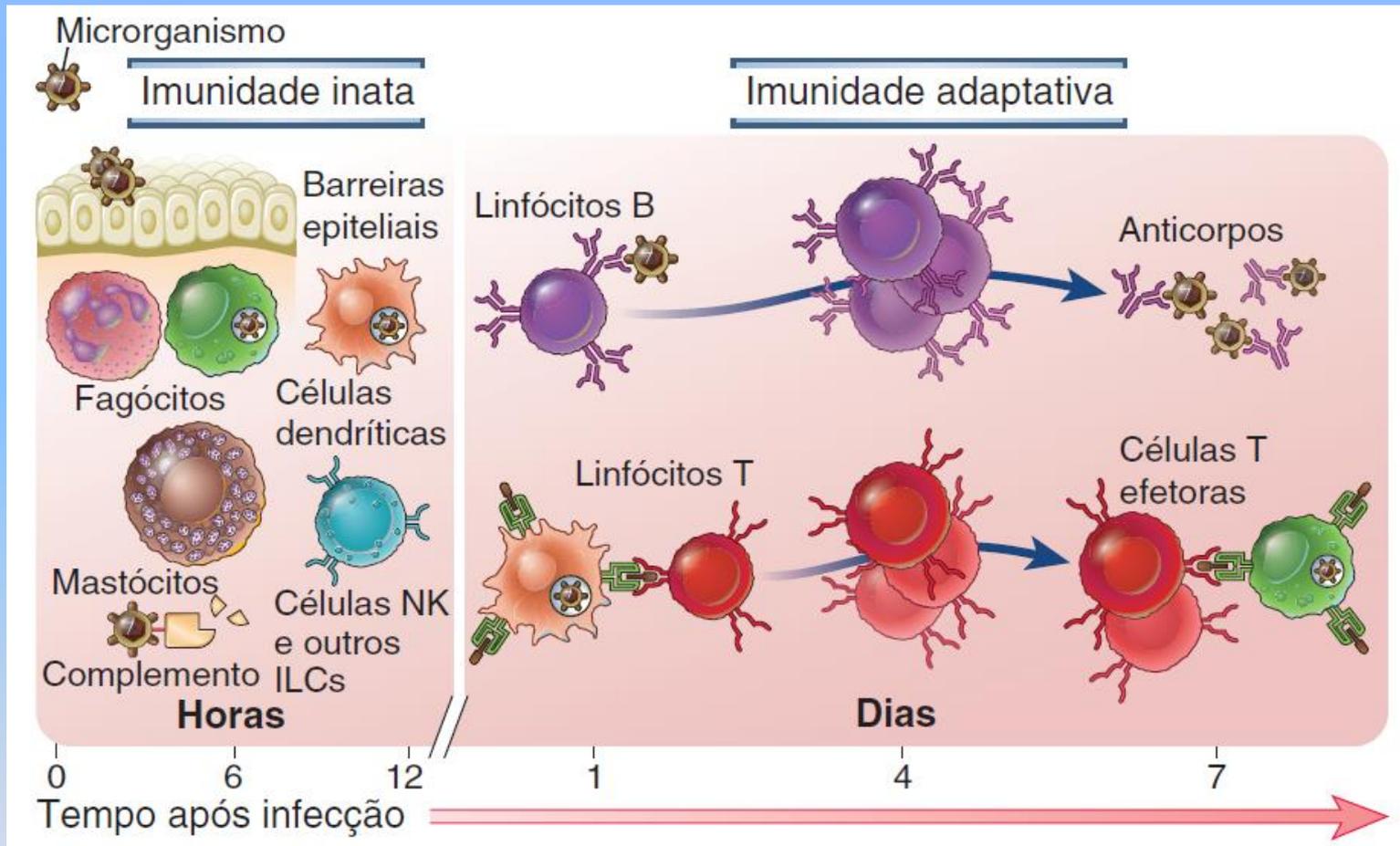
Célula natural killer matando célula tumoral



Resposta antiviral dos interferons do tipo I



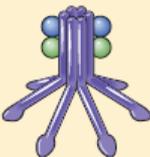
Características da Imunidade Inata (Natural)



Abbas, Lichtman, Pillai, 9a. Edição, 2019.

- filogeneticamente antiga
- diversidade codificada pela linhagem germinativa
- dirigida contra estruturas compartilhadas
- não possui memória
- auto-tolerância

Receptores de reconhecimento de padrão solúveis

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

Tópicos Essenciais da Aula

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

Jules Bordet (1870-1961)

Vibrião da Cólera



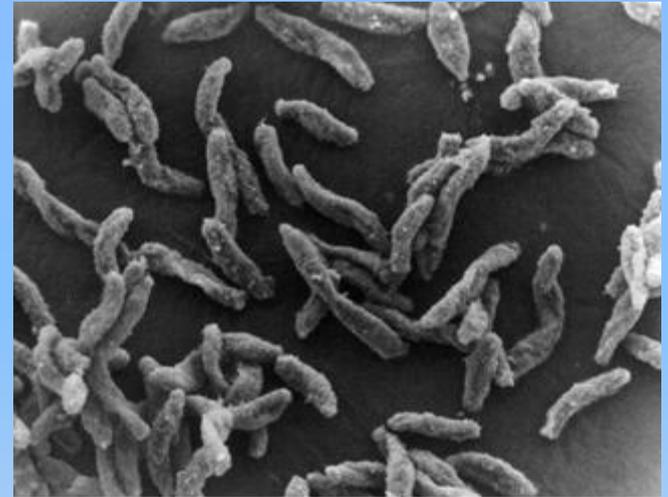
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1919

"for his discoveries relating to immunity"



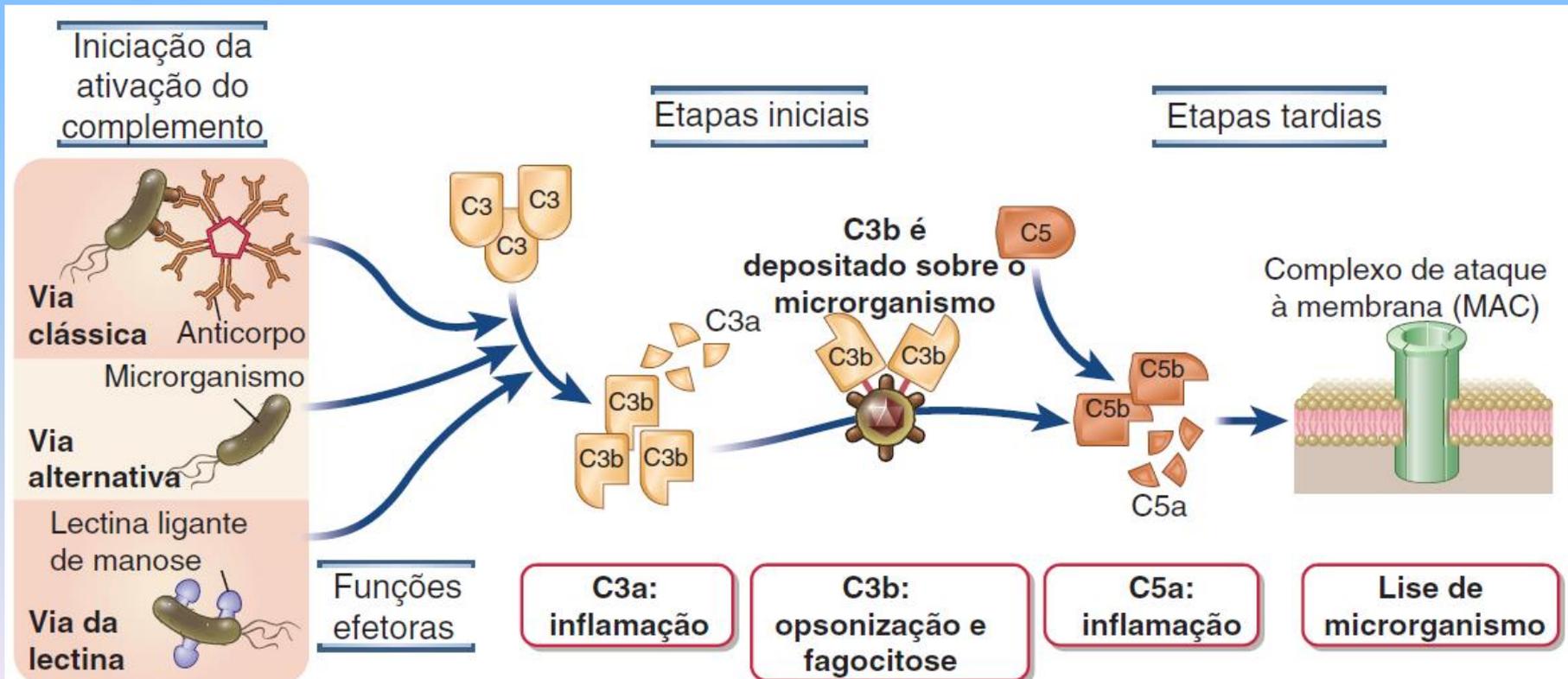
Jules Bordet

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



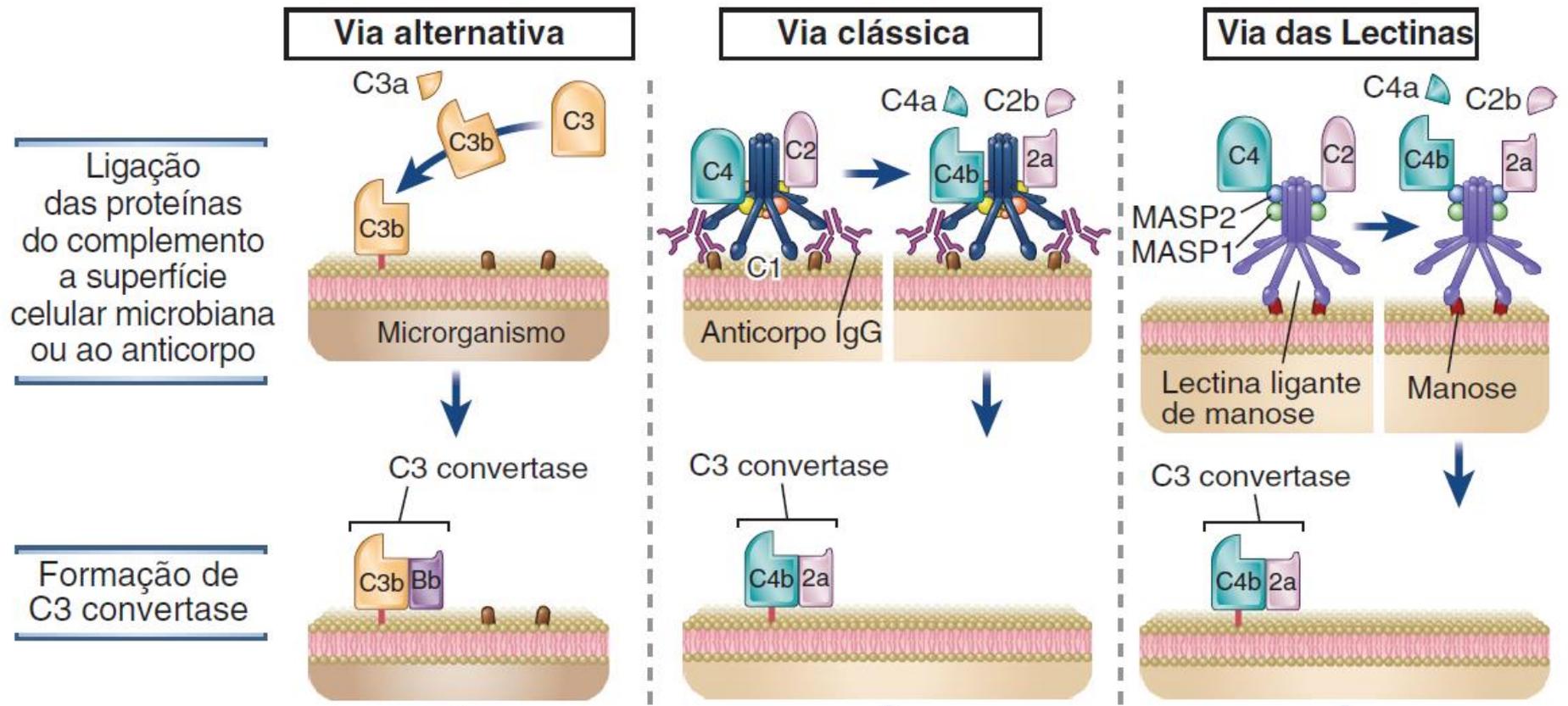
Definição

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

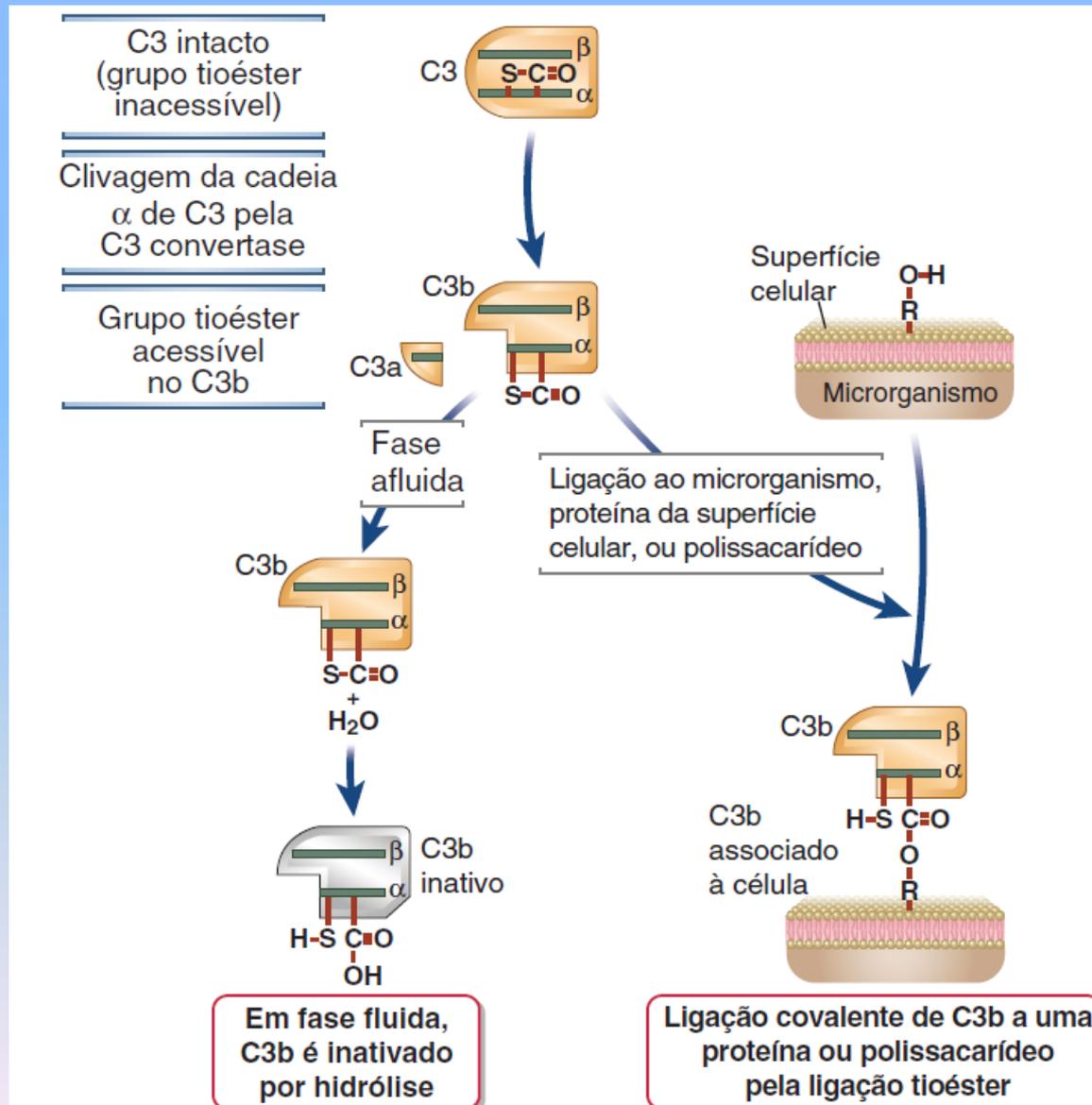


Vias de Ativação do Sistema Complemento

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



Ativação da Via Alternativa



Ativação da Via Alternativa

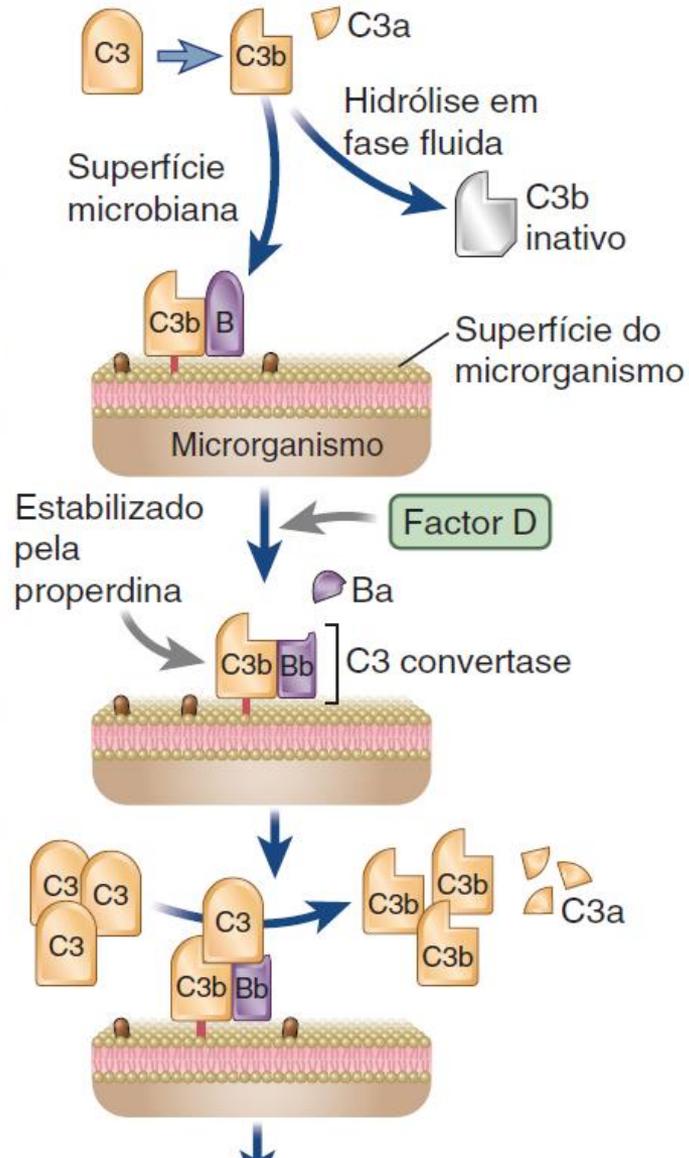
Clivagem espontânea de C3

Hidrólise e inativação de C3b em fase fluida

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

Clivagem do Fator B pelo Fator D; estabilização pela properdina

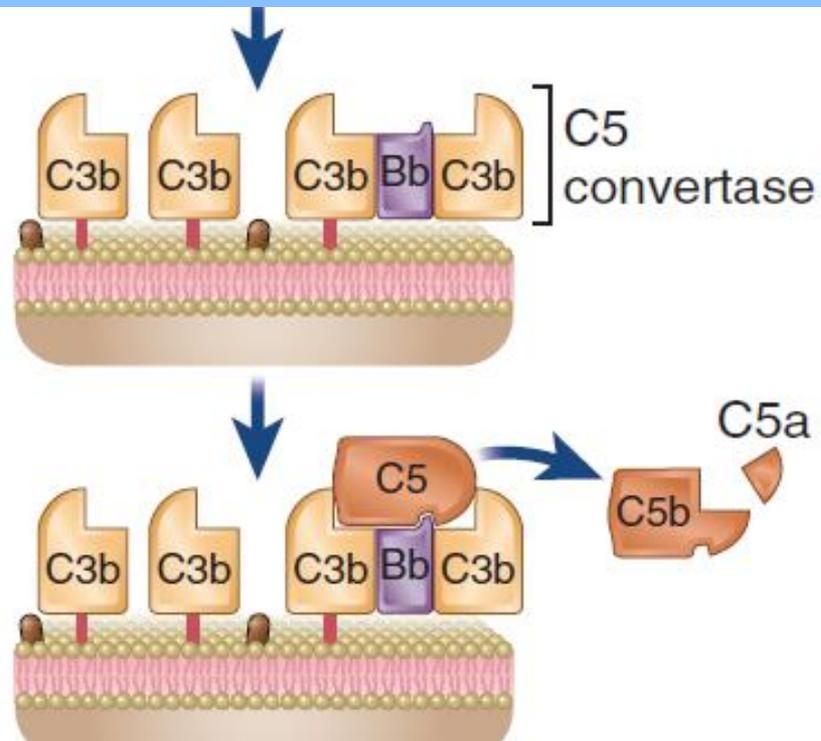
Clivagem de moléculas C3 adicionais pela C3 convertase associada à célula



Ativação da Via Alternativa

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

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

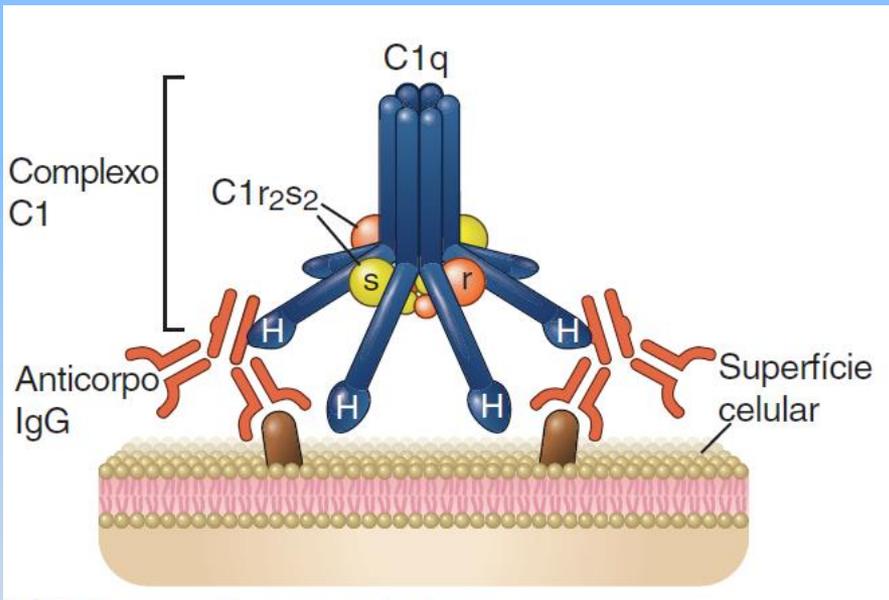


Características dos Componentes da Via Alternativa

TABELA 13.4 Proteínas da Via Alternativa do Complemento

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

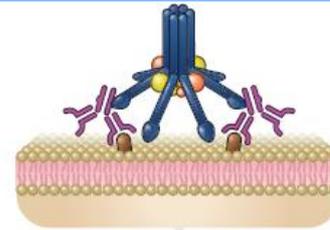
Ativação da Via Clássica



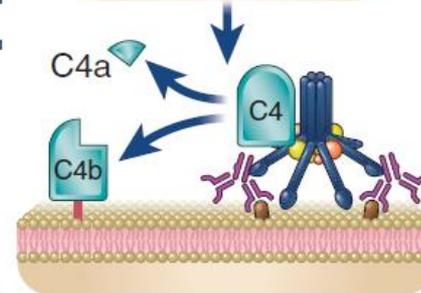
	Ativação do complemento
<p>A IgG solúvel (porções Fc não adjacentes)</p>	Não
<p>B IgG ligada ao antígeno</p>	Sim
<p>C IgM solúvel (forma plana)</p>	Não
<p>D IgM ligada ao antígeno (forma de grampo)</p>	Sim

Ativação da Via Clássica

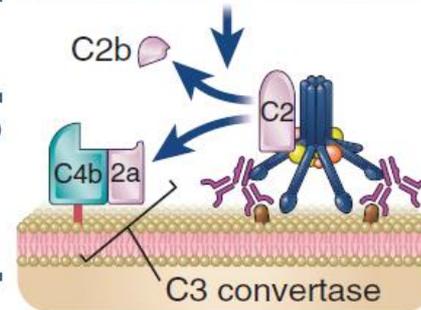
Ligação de anticorpos a antígenos multivalentes; ligação da C1 a anticorpos



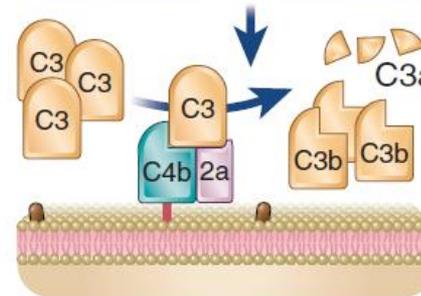
Clivagem de C4 pela enzima C1_r2_s2; ligação covalente de C4b a superfície antigênica e a anticorpos



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

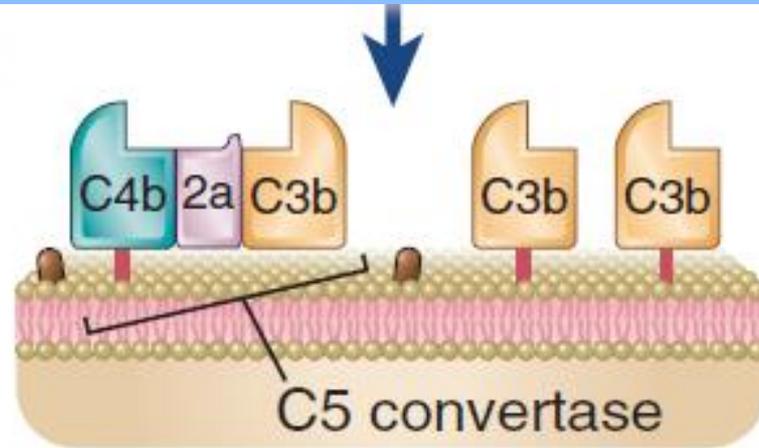


Clivagem de C3 pela C3 convertase

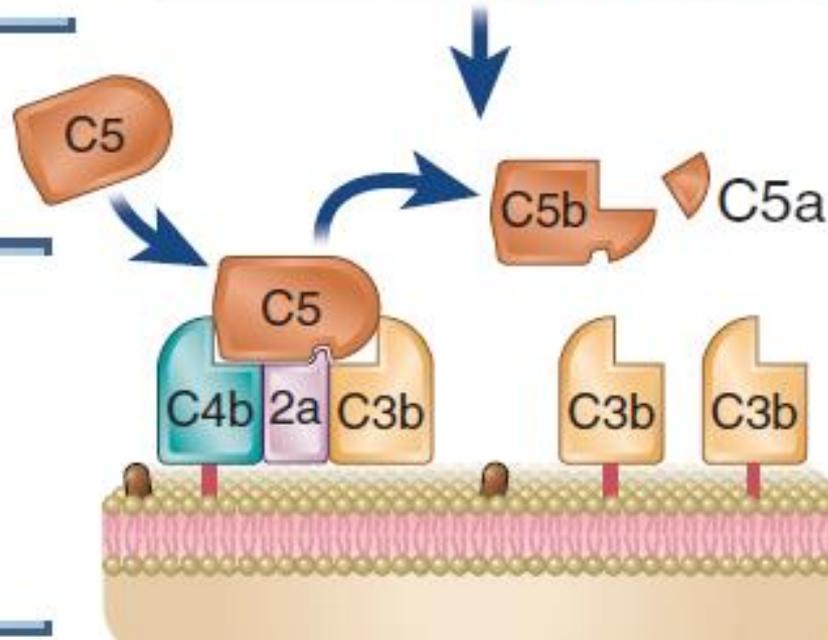


Ativação da Via Clássica

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



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

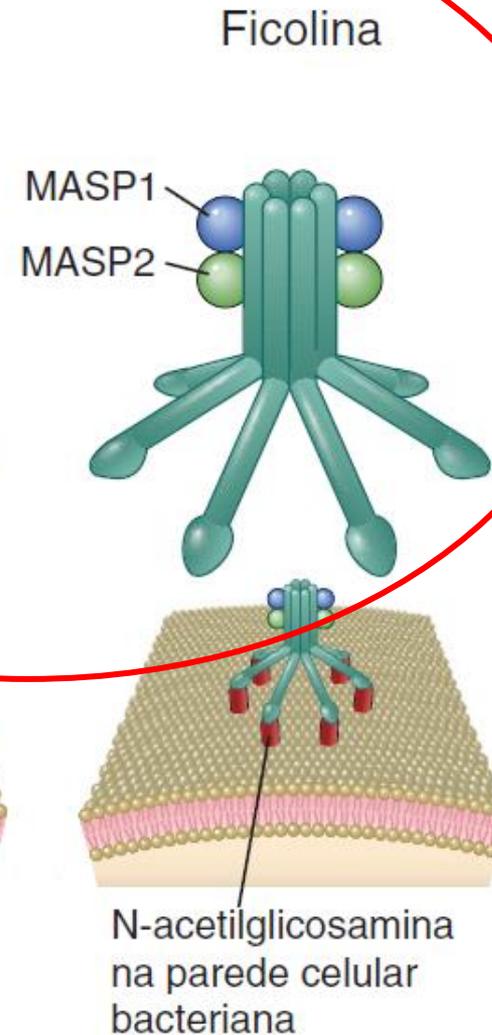
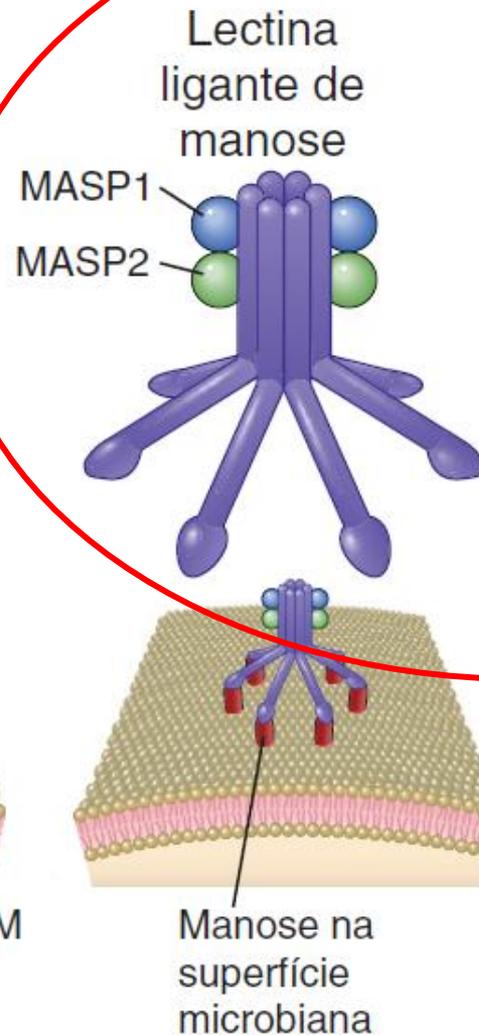
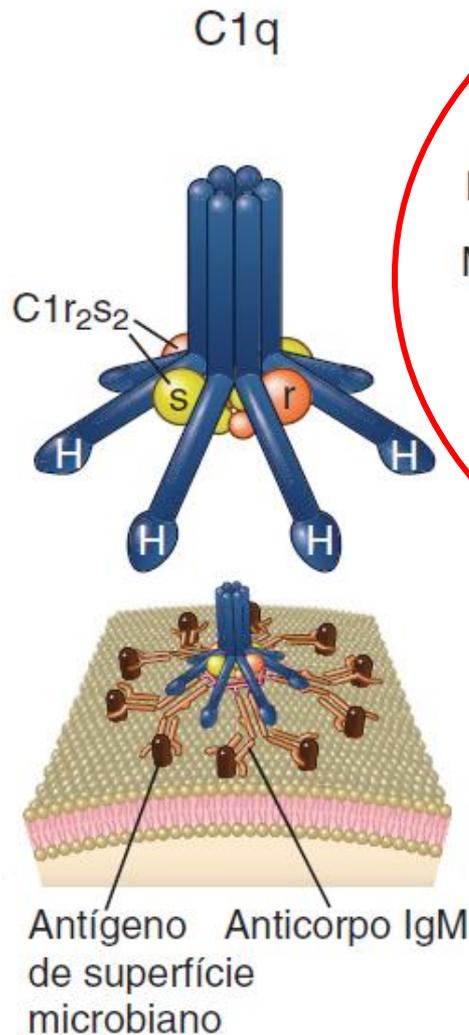


Características dos Componentes da Via Clássica

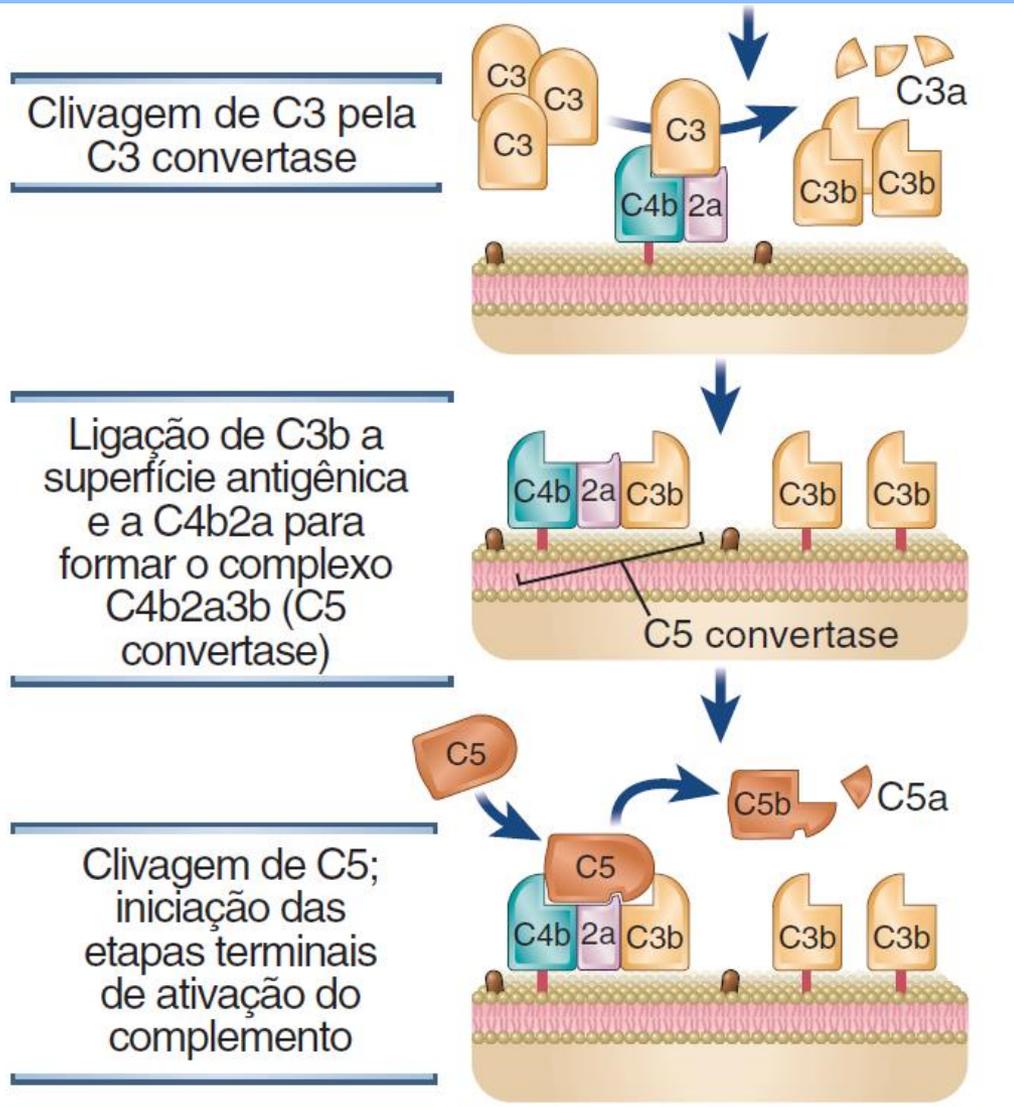
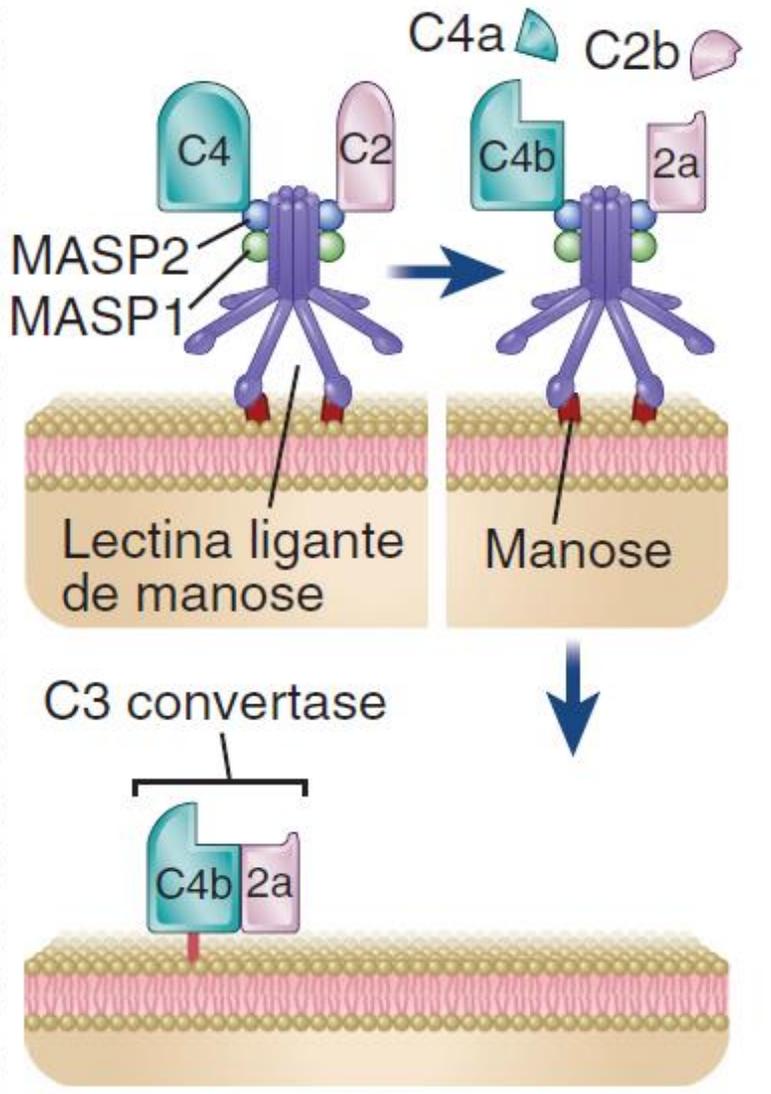
TABELA 13.5 Proteínas da Via Clássica do Complemento

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

Ativação da Via das Lectinas



Ativação da Via das Lectinas

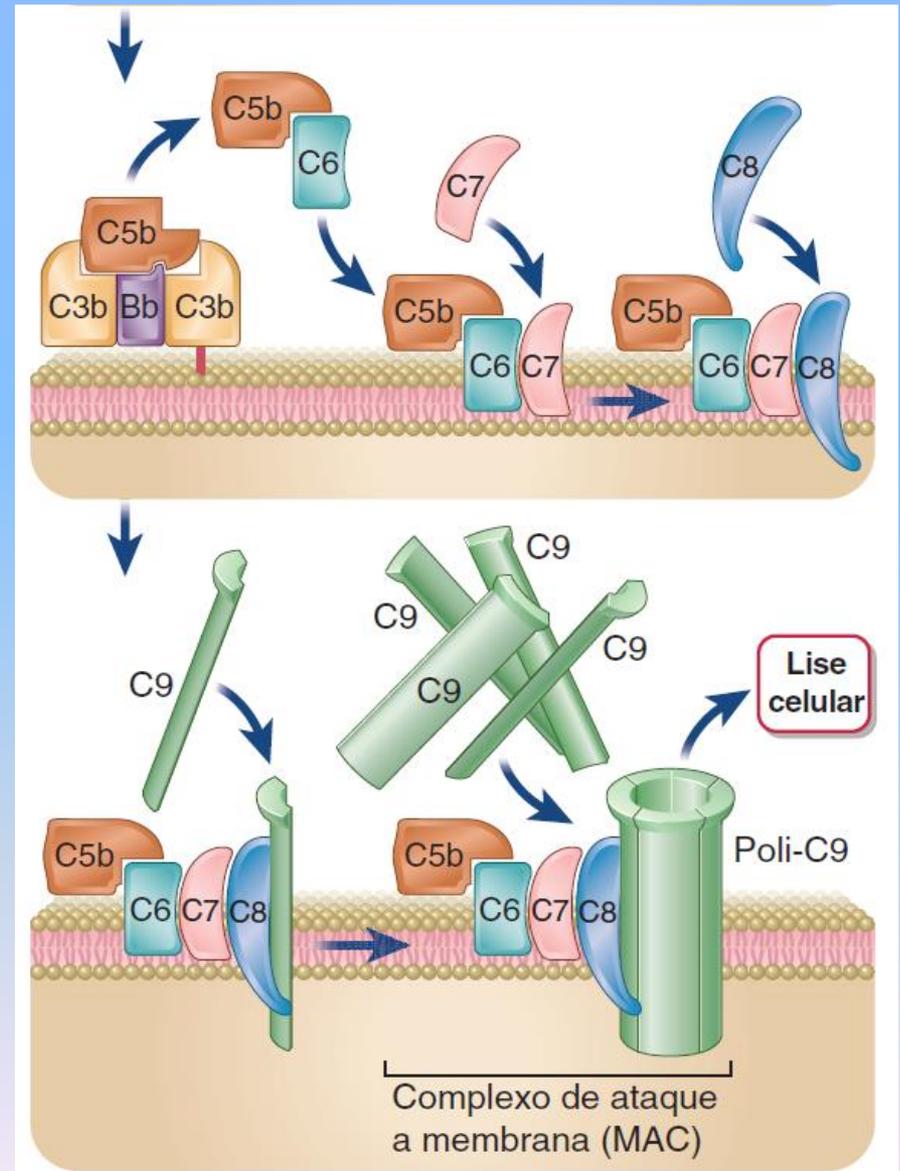
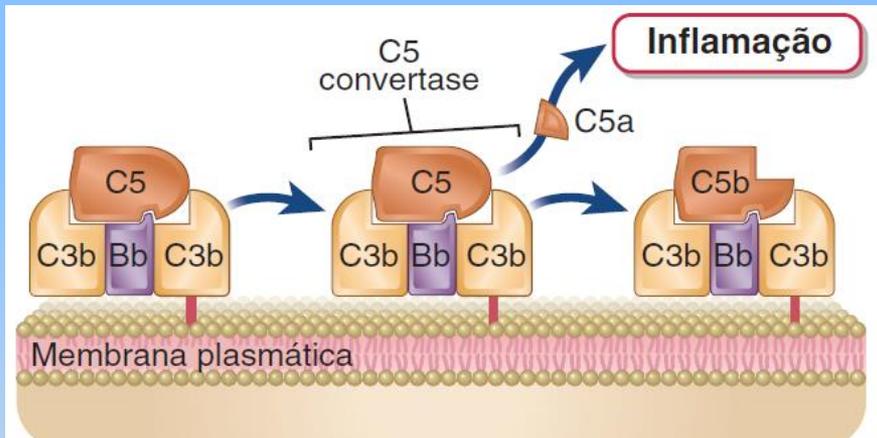


Características dos Componentes da Via das Lectinas

TABELA 13.6 Proteínas da Via das Lectinas do Complemento

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

Etapa Terminal (Comum) da Ativação do Complemento



Características dos Componentes da Etapa Terminal da Ativação do Complemento

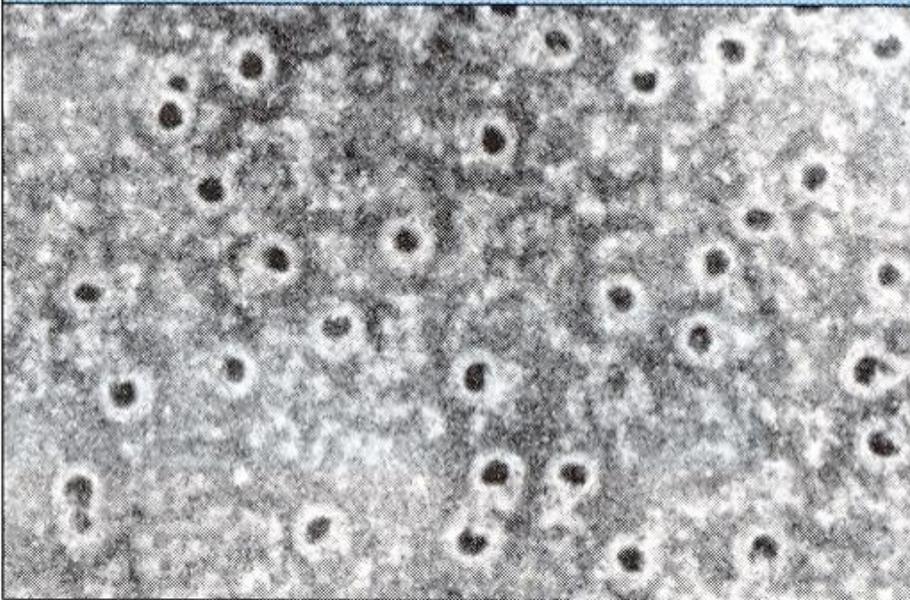
TABELA 13.7 Proteínas das Etapas Terminais da Ativação do Complemento

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

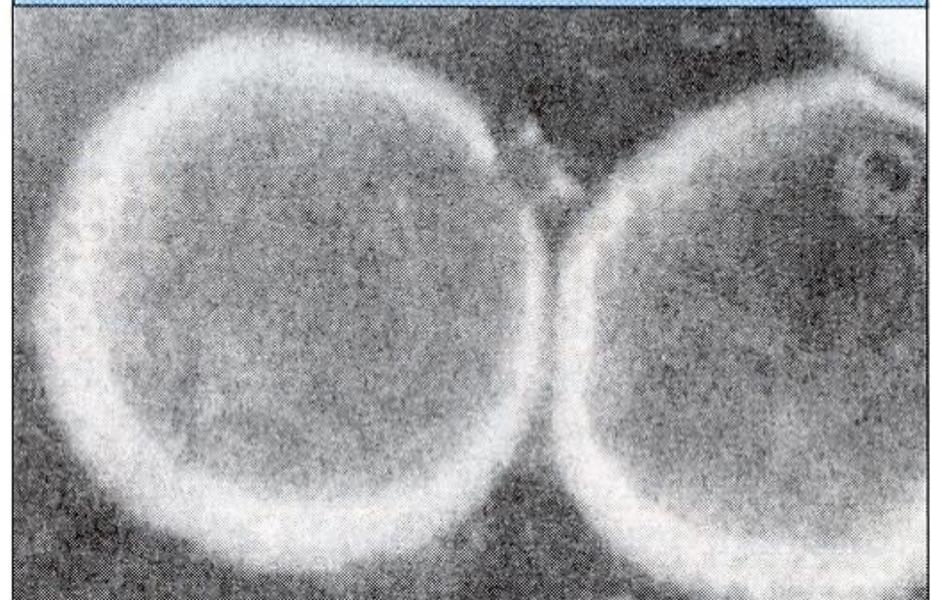
Complexo de Ataque à Membrana (MAC)

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

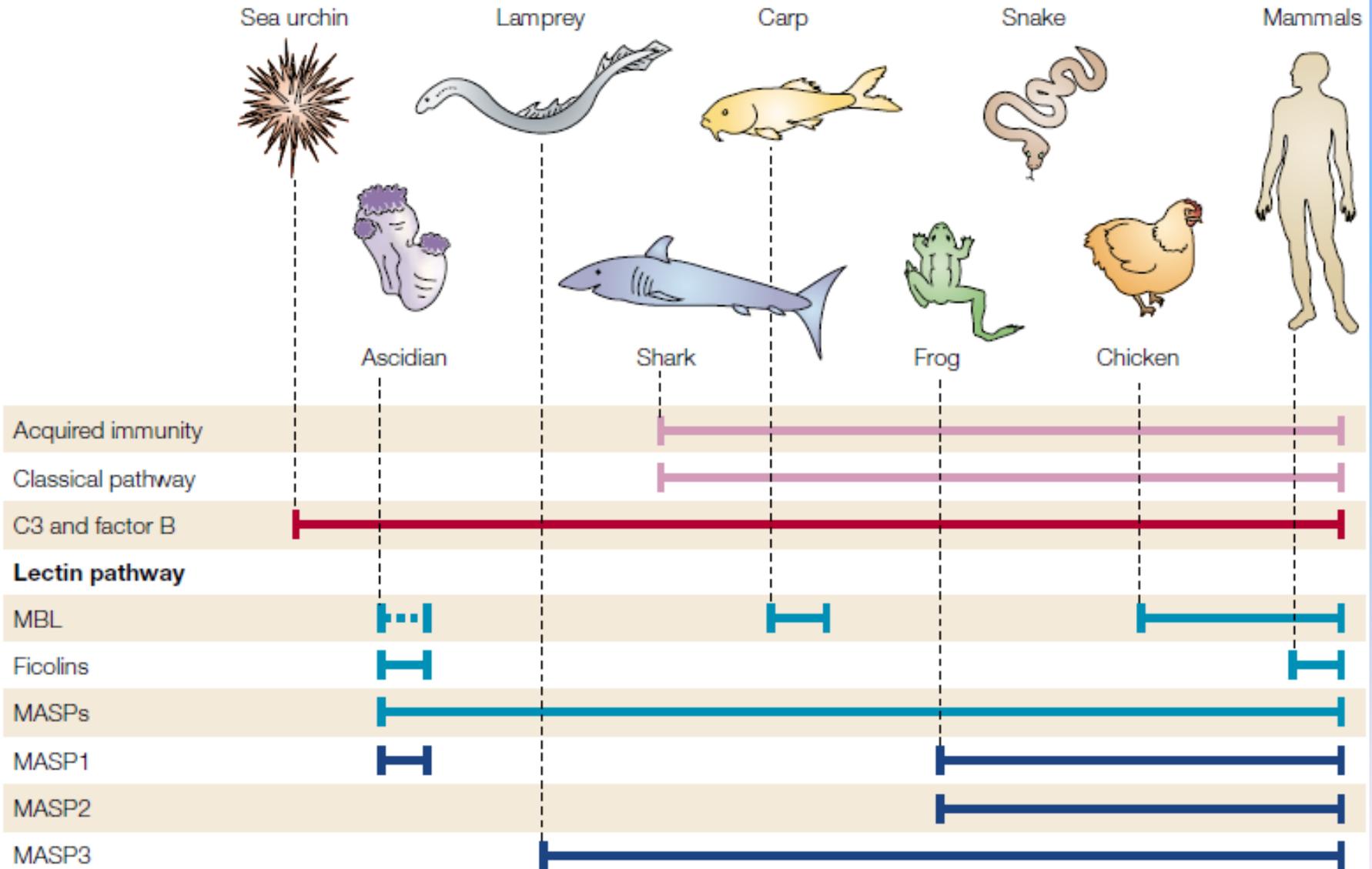
Lesões de membrana (anéis)
vistas de cima



Lesões de membrana (tubos)
vistas de lado



Via Alternativa e Via das Lectinas são filogeneticamente mais antigas



Receptores dos Componentes do Sistema Complemento

Receptor	Major ligands	Activity	Cellular distribution
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Blocks formation of C3 convertase; binds immune complexes to cells	Erythrocytes, neutrophils, monocytes, macrophages, eosinophils, follicular dendritic cells, B cells, some T cells
CR2 (CD21)	C3d, C3dg,* iC3b	Part of B-cell coreceptor; binds Epstein-Barr virus	B cells, follicular dendritic cells, some T cells
CR3 (CD11b/18)	iC3b	Bind cell-adhesion molecules on neutrophils, facilitating their extravasation; bind immune complexes, enhancing their phagocytosis	Monocytes, macrophages, neutrophils, natural killer cells, some T cells
CR4 (CD11c/18)			
C3a/C4a receptor	C3a, C4a	Induces degranulation of mast cells and basophils	Mast cells, basophils, granulocytes
C5a receptor	C5a	Induces degranulation of mast cells and basophils	Mast cells, basophils, granulocytes, monocytes, macrophages, platelets, endothelial cells

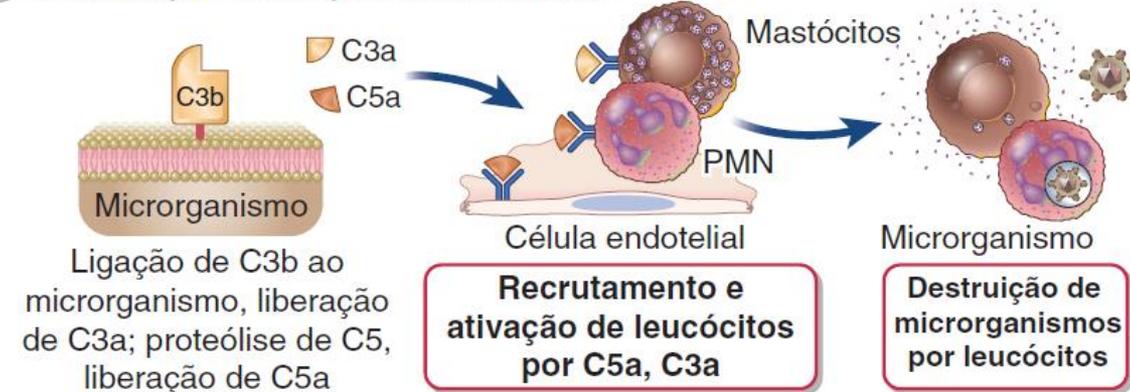
*Cleavage of C3dg by serum proteases generates C3d and C3g.

Sistema Complemento: Funções

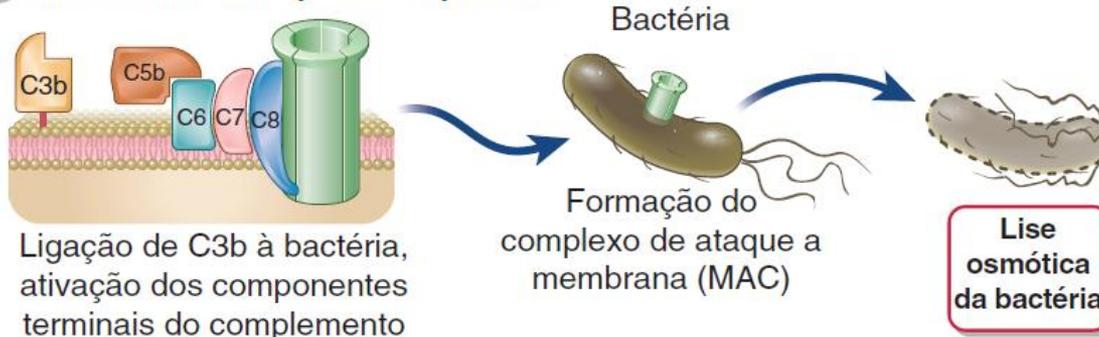
A Oponização e fagocitose



B Estimulação de reações inflamatórias

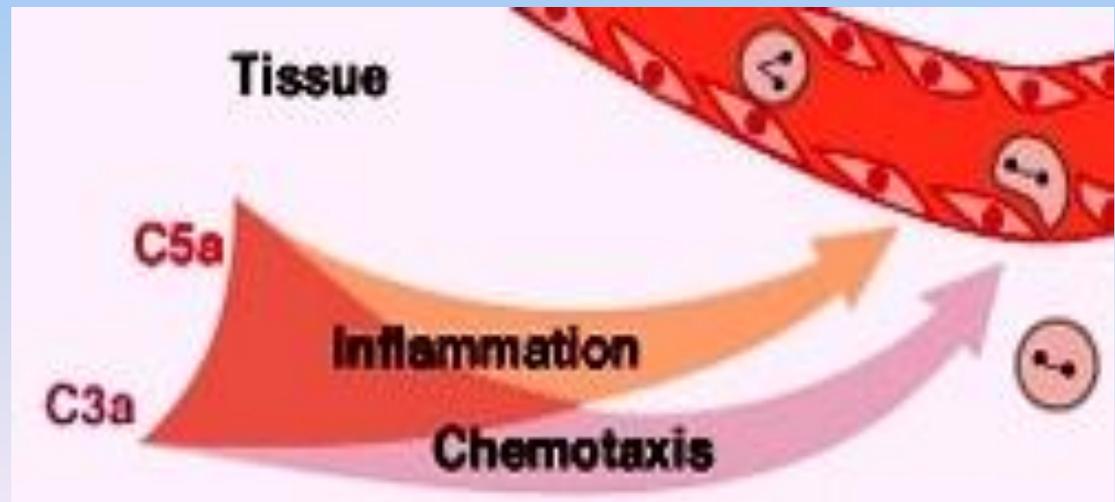
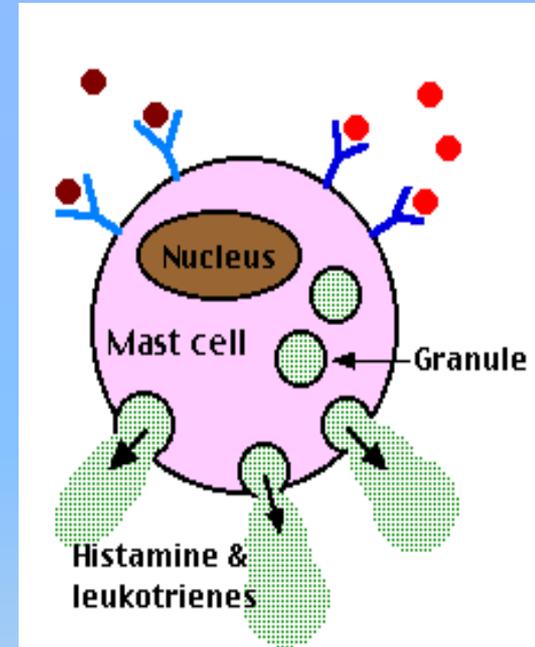


C Citólise mediada pelo complemento

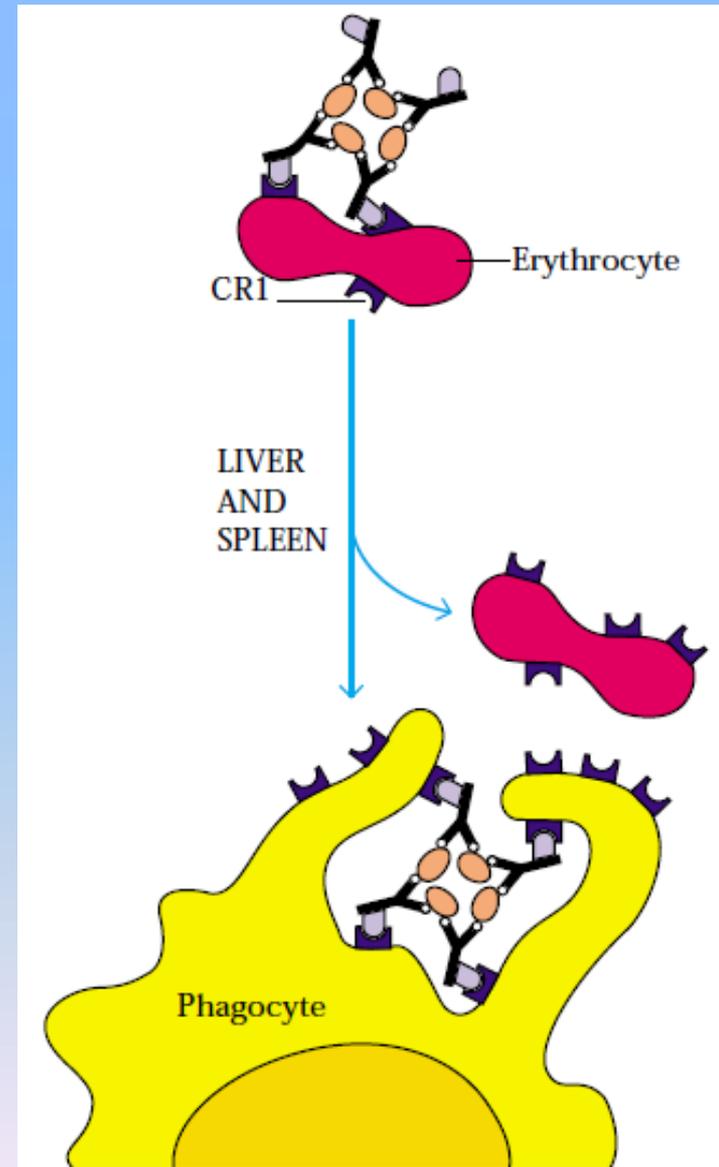
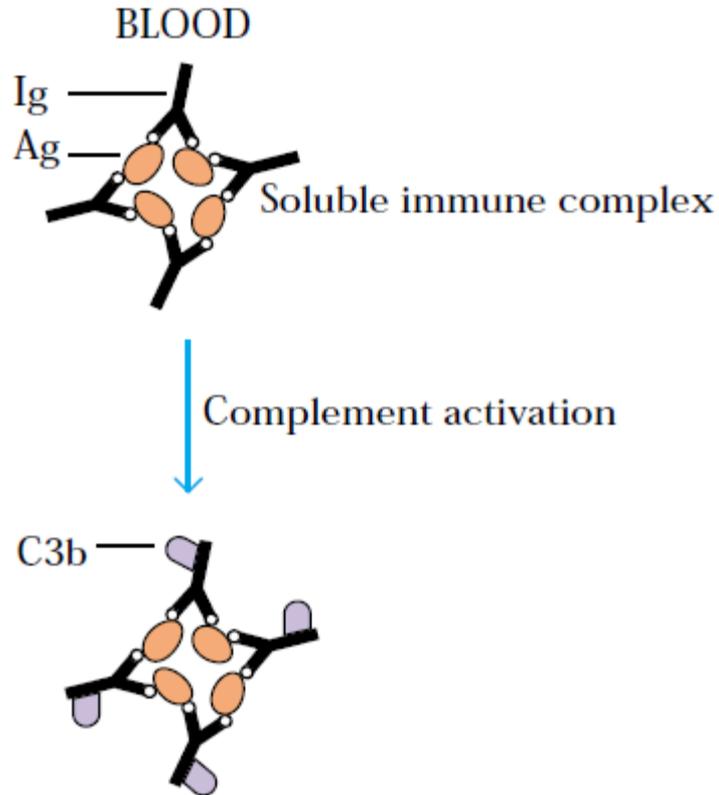


Sistema Complemento: Funções

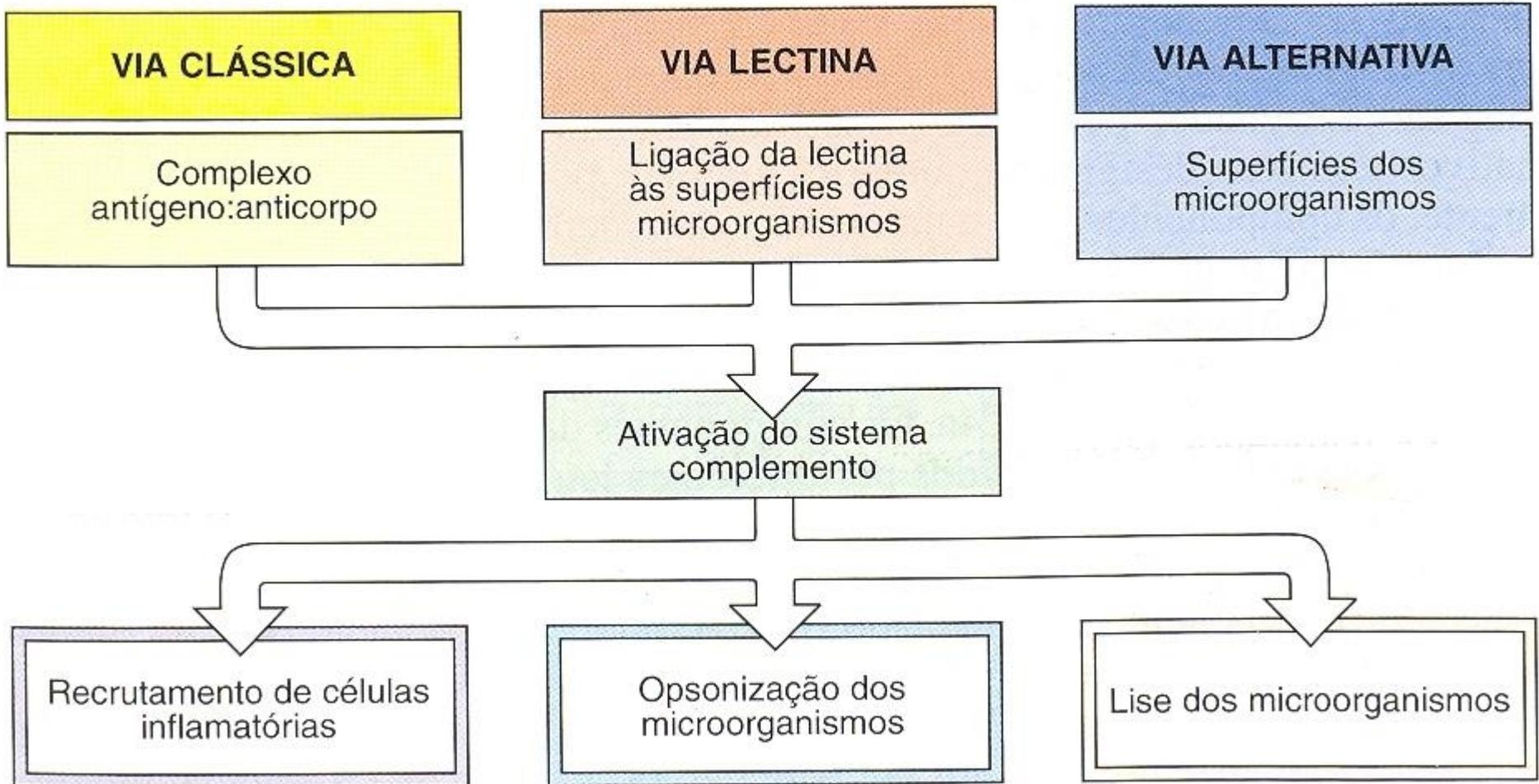
C3a, C5a :Anafilotoxinas
C3a:Quimiotaxia de neutrófilos



Sistema Complemento: Funções



Resumo do Sistema Complemento

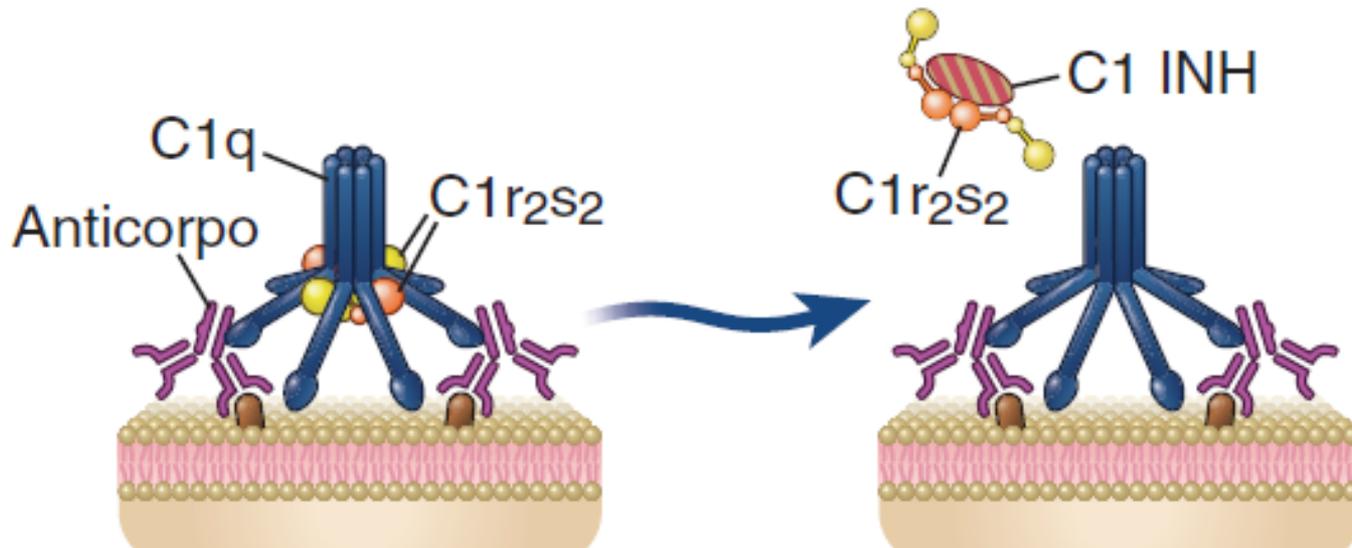


Reguladores do Sistema Complemento

Inibidor de C1 (C1 INH)

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

C1 INH impede que C1r₂s₂ se torne proteoliticamente ativo



Reguladores do Sistema Complemento

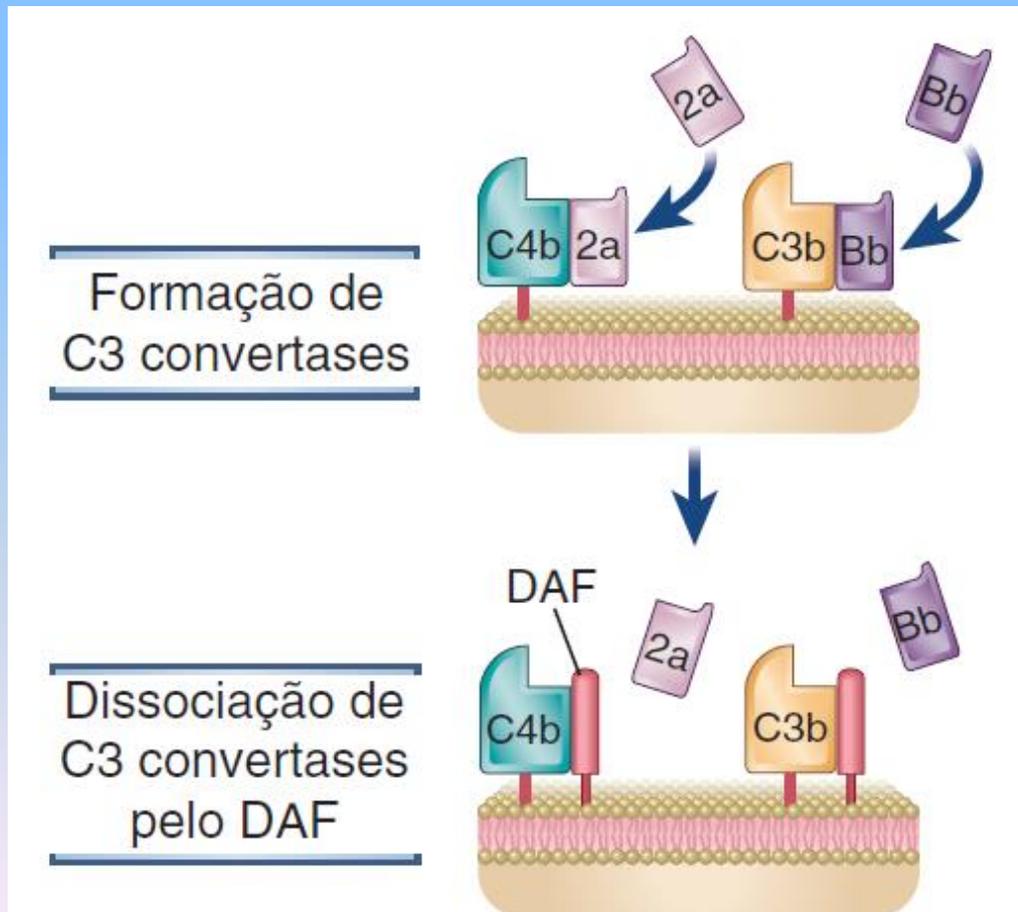
DAF: Fator de Aceleração do Decaimento

MCP: Proteína Co-fator de Membrana

CR1: Receptor do Complemento Tipo I (alta afinidade para C3b e C4b)

Fator H: inibe somente via alternativa

C4BP: inibe via clássica e das lectinas



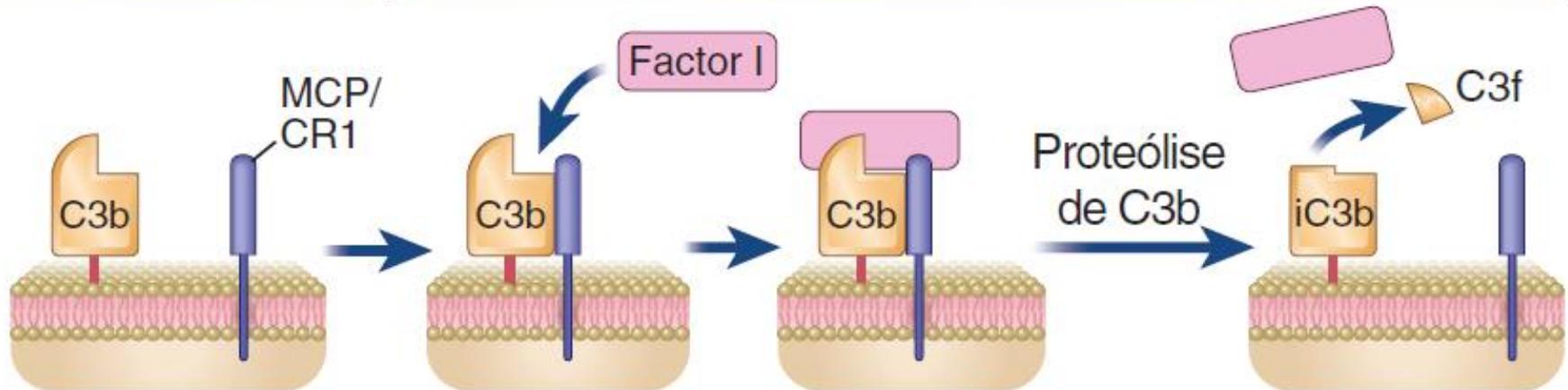
Reguladores do Sistema Complemento

Fator I:

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

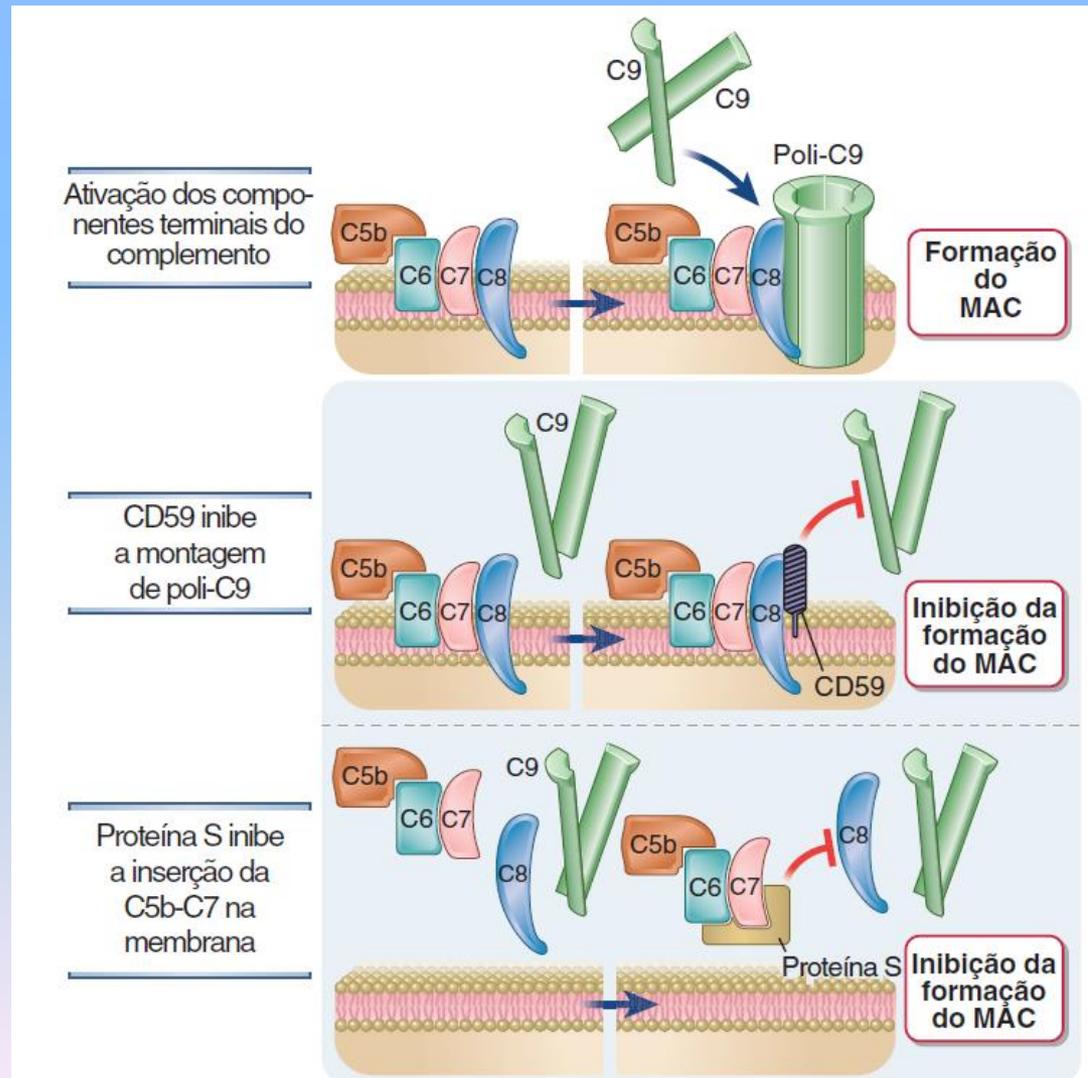
Adesão covalente
de C3b (ou C4b)
às células

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



Reguladores do Sistema Complemento

CD59 Proteína S



Reguladores do Sistema Complemento: resumo

TABELA 13.9 Reguladores da Ativação do Complemento

Receptor	Estrutura	Distribuição	Interação com	Função
Inibidor de C1 (C1 INH)	104 kDa	Proteína plasmática; conc. 200 µg/mL	C1r, C1s	Inibidor de serina protease; liga-se a C1r a C1s e os dissocia de C1q
Fator I	Dímero de 88 kDa com subunidades de 50 e 38 kDa	Proteína plasmática; conc. 35 µg/mL	C4b, C3b	Serina protease; cliva C3b e C4b usando o fator H, MCP, C4BP ou CR1 como cofatores
Fator H	150 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 480 µg/mL	C3b	Liga-se a C3b e desloca Bb Cofator para clivagem de C3b mediada pelo Fator I
Proteína ligante de C4 (C4BP)	570 kDa; múltiplos CCPRs	Proteína plasmática; conc. 300 µg/mL	C4b	Liga-se a C4b e desloca C2 Cofator para clivagem de C4b mediada pelo Fator I
Proteína cofatora de membrana (MCP, CD46)	45-70 kDa; quatro CCPRs	Leucócitos, células epiteliais, células endoteliais	C3b, C4b	Cofator para clivagem de C3b e de C4b mediada pelo Fator I
Fator de aceleração de decaimento (DAF)	70 kDa; ligada a GPI, quatro CCPRs	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C4b2a, C3bBb	Desloca C2a de C4b e Bb de C3b (dissociação de C3 convertases)
CD59	18 kDa; ligada a GPI	Células sanguíneas, células endoteliais, células epiteliais	C7, C8	Bloqueia a ligação de C9 e evita a formação de MAC

Doenças / Imunodeficiências

Edema angioneurótico hereditário:

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

Deficiência genética do fator I:

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

Hemoglobinúria paroxística noturna:

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