**Imunidade Inata**

* É a primeira linha de defesa contra infecções.
* A imunidade adaptativa melhora alguns dos mecanismos antimicrobianos da imunidade inata, tornando-os mais poderosos.
* A imunidade inata é a primeira resposta aos micro-organismos que previne, contra ou elimina a infecção do hospedeiro por muitos patógenos. As barreias epiteliais dificultam a entrada de micro-organismos no hospedeiro. Fagócitos residentes e recrutados para os tecidos subepiteliais e para outros locais conferem proteção caso os micro-organismos atinjam a corrente sanguínea.
* O sistema imune inato também responde a várias substâncias que não são microbianas, mas que não deveriam estar em tecidos saudáveis.
* Além de desempenhar a função defensiva, a imunidade inata tem a função de dar um “alerta” da presença de infecção, onde haverá uma resposta do sistema imune adaptativo.
* Há duas principais respostas do sistema imune inato: inflamação e defesa antiviral.

1. Inflamação: processo pelo qual leucócitos e proteínas plasmáticas circulares são enviados aos sítios de infecção e ativados para destruir e eliminar os agentes ofensores. Ademais, é muito importante para reação às células danificadas ou mortas e a acúmulos de substâncias anormais em células e tecidos.
2. Defesa antiviral: composta por alterações nas células que impedem a replicação viral e aumentam a suscetibilidade à morte por linfócitos.
3. Barreiras epiteliais estão trabalhando a todo momento mesmo sem infecção, fagócitos e sistema complemento são inativos, mas respondem rapidamente às células danificas e à presença de micro-organismos.

* O sistema imune inato reconhece estruturas moleculares que são características de patógenos, mas não reconhece de células de mamífero. Essas substâncias são chamas de PAMP’s, elas estimulam a imunidade inata; pertencem a diferentes classes de micro-organismos, que expressam diferentes PAMP’s. Essas estruturas são:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| PAMP’s |  | Tipo de micro-organismos |
| Ácidos nucleicos | ssRNA  dsRNA  CpG | Vírus  Vírus  Vírus, bactéria |
| Proteínas | Pilina  flagelina | Bactéria  Bactéria |
| Lipídeos de parede celular | LPS  Ácido lipoteicoico | Bactérias gram-negativas  Bactérias gram-positivas |
| Carboidratos | Manana  Glucanas dectina | Fungos, bactérias  Fungos |

* O sistema imune inato reconhece somente um número limitado de moléculas, cuja maioria é unicamente encontrada em micro-organismos, enquanto o sistema imune adaptativo é capaz de reconhecer uma gama de substâncias estranhas muito mais ampla, sejam ou não produtos microbianos.
* O sistema imune inato também reconhece os DAMP’s, moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas por células danificadas ou mortas. Os DAMP’s podem ser produzidos como resultado de danos celulares provocados por infecções, mas também podem indicar a ocorrência de lesões celulares assépticas causadas por diversos mecanismos, como toxinas químicas, queimaduras, traumas ou redução do suprimento sanguíneo. Eles, geralmente, não são liberados por células mortas por apoptose.
* Os receptores do sistema imune inato são os PRR’s (receptores de reconhecimento padrão). São expressos por fagócitos (macrófagos e neutrófilos), células dendríticas, células epiteliais e outros tipos celulares. Podem ser expressos na membrana plasmática ou na membrana endossômica e também em seu citoplasma; isso garante que o sistema imune inato possa responder aos micro-organismos de todas as formas, tanto fora quanto dentro da célula hospedeira.
* TLR da superfície celular: podem se ligar a padrões moleculares extracelulares associados aos patógenos.

TLR de membranas endossômicas: reconhece ácidos nucleicos de micro-organismos que foram fagocitados por células.

Sensores citoplasmáticos de infecção microbiana: reconhece peptídeos glicanos bacterianos, receptores RIG-símile e receptores lectina-símile da membrana plasmática.

* Moléculas de reconhecimento de padrões do sistema imune inato:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| PRR’s | Local | Exemplos | Ligantes PAMP/DAMP |
| TLR | Extracelular  Extracelular  Endossômico  Extracelular  Extracelular  Extracelular  Endossômico  Endossômico  Endossômico | TLR 1  TLR 2  TLR 3  TLR 4  TLR 5  TLR 6  TLR 7  TLR 8  TLR 9 | Lipopeptídeos bacterianos  Peptideoglicano bacteriano (TRL 2)  DsRNA  LPS  Flagelina bacteriana  Lipopeptídeos bacterianos    ssRNA  ssRNA  DNA CpG |
| NOD | Citoplasma de fagócitos, células epiteliais e outras células | NOD 1  NOD 2  Família NALP (inflamassomos) | Peptidoglicanos da parede celular bacteriana  Flagelina, dipeptídeo muramil, LPS; |
| RIG | Citoplasma de fagócitos e outras células | RIG-1, MDA-5 | RNA viral |
| Receptores similares à lectina de tipo C | Membranas plasmáticas de fagócitos | Receptor de manose  Dectina | Carboidratos de superfície microbiana com manose e frutose terminais  Glucanas presentes em paredes celulares fungícas |

* Os principais fatores de transcrição que são ativados pelas vias de sinalização dos TLR são o fator de resposta NF-kB, a proteína ativadora 1 (AP-1), o fator de resposta interferon 3 (IRF3) e ao IRF7, eles estimulam a expressão de genes eu codificam muitas das moléculas necessárias às respostas inflamatórias, incluindo citocinas inflamatórias (IL-1), quimiocinas (CXXL8) e moléculas de adesão endotelial. O IRF3 e o IRF7 promovem a produção de interferons de tipo I, importante para respostas antivirais.
* Os TLR’s de superfície extracelular que engajam ao adaptador MyD88, por exemplo, levam a ativação de NF-kB. A sinalização por TLR que usa o adaptador chamado TRIF leva a ativação de IRF3.
* Todos os TLR, com exceção de TLR3, sinalizam MyD88 e são, portanto, capazes de ativar NF-kB e induzir respostas inflamatórias. A sinalização de TLR3 ocorre através de TRIF e, portanto, ativa IRF3, induzindo interferon do tipo I.
* O TLR4 sinaliza através de MyD88 e TRIF e é capaz de induzir ambos os tipos de respostas.
* O TLR 7 e 9 endossômico, se dão através de MyD88 e independente de TRIF, que ativa NF-kB e IRF4, que induzem respostas inflamatórias e antivirais.

TLR1, TLR2, TLR5, TLR6 TLR4

MyD88 TRIF

**NF-kB** **IRFs**

- INFLAMAÇÃO AGUDA

- ESTIMULAÇÃO DA IMUNIDADE ADAPTATIVA

ESTADO ANTIVIRAL

Secreção de IFN do tipo I

Expressão de genes de interferon do tipo I (IFNα/β)

Citocinas (TNF, IL-1, IL-6).

Quimiocinas

Moléculas de adesão endotelial

Moléculas coestimuladoras

* Receptores citoplasmáticos: NOD e RIG, eles promovem, também, a inflamação ou a produção de interferon do tipo I. A importância desses receptores é pelo simples fato de que ciclos normais de vida de alguns micro-organismos, como transdução gênica viral e montagem de partículas virais, ocorrem neste compartimento celular.
* NOD2: estimula a produção de defensinas. Reconhece dipeptídeo muramil, presente em organismos gram-positivos e gram-negativos.

NOD1: reconhece substâncias derivadas de bactérias gram-negativas

* NOD 1/2 NF-kB (citocina inflamatória)
* Pró-enzimas e pró-proteínas não estão maduras, precisam de uma sinalização para funcionar. A caspase passa a ser ativa após recrutamento do complexo inflamassomo.

NLPR3+ASC CASPASE-1 Pro IL-1α e Pro IL-18 IL-1 α/β

* NLPR: responde à PAMP e DAMP citoplasmáticos através da formação de complexos de sinalização chamada inflamassomos, que geram formas ativas da citocina inflamatória IL-1.
* Os inflamassomos contém três receptores: NLRC4, NLRP3 e NLRP1. Quando estes NLRP são ativados pela presenta de produtps microbianos ou por alterações na quantidade de moléculas endógenas ou íons no citoplasma, eles se ligam a outras proteínas através de interações homotípicas entre domínios estruturais compartilhados, formando, portanto, o inflamassomo.
* A caspase 1 ativa citocinas pró-inflamatórias.
* O que ativa os NLRP-inflamassomos? Flagelina, depeptídeo muramil, LPS e toxinas formadoras de poros, assim como RNA bacteriano e viral. Reconhece NOS e ROS e, também, ATP por receptor P2X7.
* NLRP1: reconhece antrax.
* NLRC-4: flagelina
* RIG: são sensores citosólicos de RNA viral que respondem a ácidos nucleicos de vírus através da indução da produção de interferons antivirais do tipo I. Tanto RIG-1 quanto MDA 5 reconhecem RNA viral.
* O RLR inicia eventos de sinalização que levam à ativação de IRF3 e IRF7, e estes fatores de transcrição induzem a produção de interferon do tipo I. Além disso, a sinalização de RIG-1 e MDA5 depende de sua ligação a proteínas adaptadoras e da ativação de cascatas de sinalização que provocam a ativação de IRF3/7 ou NF-kB.
* Dectinas: tanto a dectina 1 e a dectina 2 são receptores de células dendríticas que reconhecem padrões de dois estágios do ciclo de vida dos fungos.

1. Dectina 1: se liga à β-glucana.
2. Dectina 2: reconhece oligossacarídeos ricos em manoses.

* Em resposta a seus ligantes nas paredes celulares de fungos, estas duas dectinas induzem eventos de sinalização em células dendríticas que estimulam a produção de citocinas e outras proteínas que promovem a inflamação e estimulam as repostas imunológicas adaptativas.
* Barreiras epiteliais: as células epiteliais são muito próximas umas às outras, bloqueando a passagem a passagem de micro-organismos por entre elas. A camada externa de queratina, que se acumula com a morte dos queratócitos da superfície cutânea, bloqueia a penetração microbiana em camadas profundas da epiderme. O muco, contém mucinas, é produzido pelas células epiteliais respiratórias, gastrointestinais e urogenitais. O muco impede a invasão microbiana e facilita a remoção de micro-organismos pela ação ciliar da árvore brônquica e do peristaltismo intestinal. Existem outros mecanismos epiteliais de defesa que complementam essas barreiras: defensinas e catecilidinas.
* Moléculas solúveis de reconhecimento e moléculas efetoras da imunidade inata:são moléculas responsáveis pela primeira defesa contra patógenos presentes fora das células do hospedeiro em alguma parte de seu ciclo de vida. Essas moléculas efetoras solúveis atuam de duas formas principais:

1. Atuam como opsoninas e atuam a capacidade de fagocitose pelos macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Isso ocorre porque as células fagocíticas expressam receptores de membrana específicos para as opsoninas, e estes receptores podem mediar, de forma eficiente, a internalização do complexo formado pela opsonina e o agente invasor. Algumas opsoninas: C3b, MBL e anticorpos.
2. Depois da ligação aos micro-organismos, os mediadores solúveis da imunidade inata promovem respostas inflamatórias que induzem recrutamento adicional de mais fagócitos para os sítios de infecção, podemos mata-los diretamente.

* Sistema Complemento: é composto por várias proteínas plasmáticas que trabalham juntas na opsonização de micro-organismos, na promoção do recrutamento de fagócitos para o sítio de infecção e, em alguns casos, na morte direta do patógeno. A primeira etapa do sistema complemento é o reconhecimento das moléculas nas superfícies microbianas, mas não nas células dos hospedeiros. A ativação do complemento pode ocorrer através de três vias distintas:

1. Via clássica: usa proteína plasmática denominada C1q para detectar anticorpos ligados à superfície de um micro-organismo ou outra estrutura. Após a ligação de C1 com o anticorpo, eles vão se ligar ao patógeno. Após a ligação com patógeno, C1 vai se ligar a C4 e clivar C4 em C4a e C4b, depois vai clivar C2 em C2a e C2b. , que vai gerar C4b2a ou C3convertase. A C3convertase vai clivar C3 em C3a e C3b, C3b vai ser utilizado e C3a vai ser utilizados para a resposta inflamatória.
2. Via da lectina: A vida das lectinas pode ser deflagrada por uma MBL. A MBL é uma proteína que tem afinidade por manose, fazendo com que ela se ligue no patógeno. Ela cliva a C4. A MASP-2 que é uma molécula que compõe a MBL, vai clivar os componentes do complemento, o primeiro é o C4, gerando C4a e C4b. C4b (fragmento maior) liga à superfície do patógeno e a C4a (fragmento menor) é solúvel e auxilia na inflamação. A MASP-2 vai clivar outro fragmento, o C2, que vai gerar C2a e C2b. C4b e C2a vão se unir formando uma enzima chamada C4b2a, ou C3 convertase. A C3 convertase vai quebrar C3 em C3a e C3b, C3b vai se ligar na superfície do patógeno, enquanto C3a vai auxiliar na inflamação.
3. Vida da alternativa: Se inicia pela hidrólise espontânea pela C3. O C3 hidrolisado, vai deflagrar a ativação pela via alternativa do complemento. Depois de hidrolisado, vai permitir a ligação de um próximo mediador do complemento, que é o fator B. Depois de unir C3+B, o fator D cliva o fator B, que vai liberar Bb, onde se unirá à C3, formando C3Bb, que vai clivar C3 em C3b e C3a, C3b vai para a parede do patógeno, quanto C3a atua na inflamação. O C3b na parede do patógeno pode se unir a um fator Bb, formando C3bBb e clivar C3 em C3a e C3b já na superfície do patógeno.
4. Importante lembrar que não acaba por aí, o C3b pode ser percursor de outras moléculas, isso para que ele fure a superfície do patógeno. O fragmento C4b2a formado na via das lectinas ou na via clássica, pode se unir a um C3b. Esse C3b pode ser oriundo do C3bBb da via alternativa ou o C3b gerado na via das lectinas ou clássica. Essa união vai gerar: C4b2a3b e C3b2Bb, que serão convertases de C5. Ou seja, essas convertases vão clivar C5 (o último a ser fragmentado, os outros só serão acrescentados) em C5a e C5b. O C5b é quem vai se ligar à C6, C7, C8 e várias unidades de C9, no qual forma o MAC (complexo de ataque à membrana), que vai começar a perfurar a membrana. Essa perfuração vai permitir a morte do patógeno, pois sua superfície será perfurada em inúmeros lugares.
5. Os fragmentos que não foram utilizados na cascata do sistema complemento, vão agir nos vasos sanguíneos, fazendo com que aumente a resposta inflamatória. Como por exemplo, a permeabilidade vascular, formando Edema, líquidos saindo da corrente sanguínea para o meio extracelular, para tentar matar o patógeno, saem células e moléculas para combater a infecção. C3a é mais inflamatório, junto com C5a atuam no recrutamento e ativação de leucócitos, que vão destruir os micro-organismos.
6. É sensato se pensar que a via clássica está envolvida na imunidade humoral adaptativa, enquanto as outras vias estão envolvidas na resposta da imunidade inata.

* A principal forma pela qual o sistema inume inato lida com infecções e lesões teciduais é através da indução da inflamação aguda, que é o acúmulo de leucócitos, proteínas plasmáticas e fluídos derivados do sangue em um sítio de infecção ou lesão no tecido extravascular. Numa inflamação aguda, o principal leucócito a ser recrutado é o neutrófilo, mas monócitos circulantes, que se transformam em macrófagos nos tecidos se tornam cada vez mais proeminentes com o passar do tempo e pode ser a população mais dominante em algumas reações. A chegada desses leucócitos é mediada por citocinas ou quimiocinas. As principais citocinas pró-inflamatórias são: TNF, IL-1 e IL-6.

1. TNF: é o mediador das respostas inflamatórias agudas a bactérias e outros micro-organismos infecciosos. Produzido por macrófago e linfócitos T. Seu alvo é em células endoteliais ativa inflamação e coagulação. Ativação de neutrófilos.
2. Interleucina-1 (IL-1): age como o TNF, em macrófagos, células endoteliais e algumas células epiteliais. Atua na ativação de inflamação e coagulação e febra, entre outros.
3. Interleucina-6: está em macrófagos, células endoteliais e linfócitos T, age na síntese de proteínas na fase aguda, ativa os linfócitos B para proliferar células produtoras de anticorpos.

* Neutrófilos e macrófagos recrutados aos sítios de infecção ingerem micro-organismos em vesículas pelo processo de fagocitose. A fagocitose é um processo ativo, dependente de energia, de incorporação de partículas grandes em vesículas. Essas vesículas fagocíticas se fundem aos lisossomos formando fagolisossomos, onde as partículas ingeridas são destruídas e, desta forma, os mecanismos de morte, que podem danificar o fagócito, são isolados do restante da célula.
* Neutrófilos e macrófagos ativados matam os micro-organismos fagocitados por meio da ação de moléculas microbicidas nos fagolisossomos. A fusão dos vacúolos fagocíticos com os lisossomos resulta na formação dos fagolisossomos, onde está concentrada a maioria dos mecanismos microbicidas. Três tipos de mecanismos microbicidas são considerados importantes:

1. Espécies reativas de oxigênio (ROS): macrófagos e neutrófilos ativados convertem o oxigênio molecular em espécies reativas de oxigênio, que são agentes oxidativos altamente reativos que destroem micro-organismos. O sistema primário de geração de radicais livres é o sistema de oxidase fagocitária. A oxidase fagocitária é uma enzima induzida por IFN-ϒ e sinais de TLR. A função dessa enzima é reduzir o oxigênio molecular em ROS, como os radicais superóxidos.
2. Óxido nítrico: os macrófagos produzem espécies reativas de nitrogênio, principalmente óxido nítrico, por uma enzima chamada iNOS.
3. Enzimas proteolíticas: neutrófilos e macrófagos ativados produzem diversas enzimas proteolíticas nos fagolisossomos que destroem micro-organismos.