

Imunología



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA

BIOLOGIA
licenciatura a distância

Imunologia

*Célia Regina Monte Barardi
Sonia Gonçalves Carobrez
Aguinaldo Roberto Pinto*



**UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL**

Ministério
da Educação



Florianópolis, 2010.

Governo Federal

Presidente da República Luiz Inácio Lula da Silva
Ministro de Educação Fernando Haddad
Secretário de Ensino a Distância Carlos Eduardo Bielschowky
Coordenador Nacional da Universidade Aberta do Brasil Celso Costa

Universidade Federal de Santa Catarina

Reitor Alvaro Toubes Prata
Vice-Reitor Carlos Alberto Justo da Silva
 Secretário de Educação à Distância Cícero Barbosa
Pró-Reitora de Ensino de Graduação Yara Maria Rauh Muller
Pró-Reitora de Pesquisa e Extensão Débora Peres Menezes
Pró-Reitora de Pós-Graduação Maria Lúcia Camargo
Pró-Reitor de Desenvolvimento Humano e Social Luiz Henrique Vieira da Silva
Pró-Reitor de Infra-Estrutura João Batista Furtuoso
Pró-Reitor de Assuntos Estudantis Cláudio José Amante
Centro de Ciências da Educação Wilson Schmidt

Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Modalidade a Distância

Diretora Unidade de Ensino Sonia Gonçalves Carobrez
Coordenadora de Curso Maria Márcia Imenes Ishida
Coordenadora de Tutoria Zenilda Laurita Bouzon
Coordenação Pedagógica LANTEC/CED
Coordenação de Ambiente Virtual Alice Cybis Pereira

Comissão Editorial Viviane Mara Woehl, Alexandre Verzani Nogueira, Milton Muniz

Projeto Gráfico Material impresso e on-line

Coordenação Prof. Haenz Gutierrez Quintana
Equipe Henrique Eduardo Carneiro da Cunha, Juliana Chuan Lu, Laís Barbosa, Ricardo Goulart Tredezini Straioto

Equipe de Desenvolvimento de Materiais

Laboratório de Novas Tecnologias - LANTEC/CED
Coordenação Geral Andrea Lapa
Coordenação Pedagógica Roseli Zen Cerny

Material Impresso e Hipermídia

Coordenação Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira
Adaptação do Projeto Gráfico Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira
Diagramação Grasiele Pilatti, Gregório Bacelar Lameira, Laura Martins Rodrigues
Ilustrações Amanda Cristina Woehl, Alexandre dos Santos Oliveira, Cristiane Amaral, Liane Lanzarin, Jean Menezes, João Antônio Amante Machado, Talita Ávila Nunes
Revisão gramatical Isabel Maria Barreiros Lucktenberg

Design Instrucional

Coordenação Isabella Benfica Barbosa
Design Instrucional Marisa Campos Santana, Cristiane Felisbino Silva, João Vicente Alfaya

Copyright © 2010 Universidade Federal de Santa Catarina. Biologia/EaD/UFSC
Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada sem a prévia autorização, por escrito, da Universidade Federal de Santa Catarina.

S007d

SOBRENOME, Nome.
Título do livro/Nome e Sobrenome do autor. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2009. 007p. ilust.
incluso bibliografia.
ISBN:07.007.007-7
1.Temática 2.Temática - subtema 3.Temática I.Tema II.Tema

CDU 007.07

Catalogação na fonte elaborada na DECTI da Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina.

Sumário

| | |
|--|-----------|
| Apresentação..... | 9 |
| 1. Células, órgãos e tecidos envolvidos na resposta imune | 13 |
| 1.1 Células da resposta imune..... | 15 |
| 1.2 Órgãos linfoideos primários | 21 |
| 1.2.1 <i>Timo</i> | 21 |
| 1.2.2 <i>Medula óssea</i> | 23 |
| 1.3 Órgãos linfoideos secundários | 24 |
| 1.3.1 <i>Linfonodos</i> | 24 |
| 1.3.2 <i>Baço</i> | 26 |
| 1.3.3 <i>Tecidos linfoideos associados a mucosas</i> | 27 |
| Resumo..... | 29 |
| Referências | 30 |
| 2. Resposta imune inata e inflamação | 33 |
| 2.1 Introdução | 35 |
| 2.2 Componentes físico-químicos | 36 |
| 2.3 Componentes humorais | 37 |
| 2.4 Componentes celulares | 39 |
| 2.5 Inflamação | 39 |
| Resumo..... | 42 |
| Referências | 44 |

3. Linfócitos B, anticorpos e complemento 47

| | |
|--|----|
| 3.1 Introdução | 49 |
| 3.2 Linfócitos B..... | 50 |
| 3.2 Estrutura e função dos anticorpos | 53 |
| 3.2.1 <i>Estrutura da molécula de imunoglobulina</i> | 54 |
| 3.2.2 <i>Importância da região variável da Ig</i> | 56 |
| 3.3 Diversidade genética..... | 58 |
| 3.4 Troca de classe de imunoglobulina..... | 58 |
| 3.4.1 <i>Imunoglobulina M (IgM)</i> | 60 |
| 3.4.2 <i>Imunoglobulina D (IgD)</i> | 61 |
| 3.4.3 <i>Imunoglobulina G (IgG)</i> | 61 |
| 3.4.4 <i>Imunoglobulina A (IgA)</i> | 62 |
| 3.4.5 <i>Imunoglobulina E (IgE)</i> | 62 |
| 3.5 Ativação das proteínas do Sistema Complemento | 63 |
| 3.5.1 <i>Via clássica</i> | 66 |
| 3.5.2 <i>Via das lectinas</i> | 68 |
| 3.5.3 <i>Via alternativa</i> | 69 |
| 3.5.4 <i>Deficiências do complemento</i> | 69 |
| 3.5.5 <i>Regulação da cascata de ativação do complemento</i> | 71 |
| Resumo..... | 71 |
| Referências | 72 |

4. Linfócitos T, citocinas e MHC..... 75

| | |
|--|----|
| 4.1 Introdução | 77 |
| 4.2 Linfócitos T auxiliadores: CD4 ⁺ | 82 |
| 4.2.1 <i>Linfócitos T_H1</i> | 82 |
| 4.2.2 <i>Linfócitos T_H2</i> | 84 |
| 4.3 Linfócitos T citotóxicos: CD8 ⁺ | 85 |
| 4.4 Complexo principal de histocompatibilidade e processamento antigênico | 86 |
| 4.4.1 <i>Estruturação do complexo principal de histocompatibilidade</i> | 87 |
| 4.4.2 <i>Estrutura das glicoproteínas de classe I do MHC</i> | 88 |
| 4.4.3 <i>Estrutura das glicoproteínas de classe II do MHC</i> | 88 |
| 4.4.4 <i>Como se dá a distribuição tecidual dessas glicoproteínas nas células?</i> | 89 |
| 4.4.5 <i>Funções biológicas do MHC</i> | 90 |
| Resumo..... | 93 |
| Referências | 94 |

5. Soros e vacinas 97

| | |
|----------------------------------|-----|
| 5.1 Introdução | 99 |
| 5.2 Imunização passiva | 100 |
| 5.3 Imunização ativa | 102 |
| 5.4 Tipos de vacinas..... | 103 |
| 5.5 Adjuvantes | 105 |
| 5.6 Vacinas humanas em uso | 106 |
| 5.7 Impacto das vacinas | 108 |
| Resumo..... | 110 |
| Referências | 110 |

6. Hipersensibilidades e doenças autoimunes 113

| | |
|---|-----|
| 6.1 Introdução | 115 |
| 6.2 Hipersensibilidade do tipo I..... | 115 |
| 6.3 Hipersensibilidade do tipo II..... | 121 |
| 6.4 Reações de hipersensibilidade do tipo III | 124 |
| 6.5 Reações de hipersensibilidade do tipo IV ou tardia..... | 127 |
| 6.6 Doenças autoimunes..... | 129 |
| Resumo | 133 |
| Referências | 134 |

7. HIV/AIDS..... 137

| | |
|--|-----|
| 7.1 Como surgiu o HIV? | 139 |
| 7.2 Histórico da descoberta do vírus HIV..... | 140 |
| 7.3 Isolamento do vírus da imunodeficiência adquirida ou HIV | 141 |
| 7.4 Características do vírus HIV | 141 |
| 7.5 HIV e sistema imune | 143 |
| 7.6 Transmissão do HIV | 145 |
| 7.7 Janela imunológica e o perigo da transmissão | 146 |
| 7.8 Diagnóstico | 147 |
| 7.9 Indivíduo portador do vírus HIV e indivíduo portador da AIDS | 148 |
| 7.10 Monitoramento dos pacientes HIV+ | 151 |
| 7.11 Terapia antirretroviral..... | 151 |
| Resumo..... | 153 |
| Referências | 154 |

8. Interações antígeno-anticorpo.....157

| | |
|--|-----|
| 8.1 Reações de hemaglutinação: grupos sanguíneos ABO e Rh..... | 159 |
| 8.1.1 Sistema ABO..... | 159 |
| 8.1.2 Sistema Rh..... | 163 |
| 8.1.3 Transfusão..... | 165 |
| 8.1.4 Reação de hemaglutinação | 165 |
| 8.1.5 Doença hemolítica do recém-nascido | 166 |
| 8.2 Imunofluorescência | 168 |
| 8.2.1 Método direto ou em uma única etapa..... | 169 |
| 8.2.2 Método Indireto ou em duas etapas..... | 169 |
| 8.3 Passemos a entender os ensaios imunoenzimáticos (ELISA)..... | 171 |
| 8.3.1 Método indireto | 171 |
| 8.3.2 Método sanduíche..... | 171 |
| 8.3.3 Método competitivo..... | 172 |
| 8.4 Western-Blotting..... | 172 |
| 8.5 Citometria de fluxo | 176 |
| Resumo | 178 |
| Referências | 179 |

Apresentação

A disciplina de Imunologia tem como objetivo central estudar as bases fundamentais do sistema imune, com enfoque nas principais células, órgãos e tecidos envolvidos em nossa defesa. Estudaremos o papel de proteínas muito importantes em nossa defesa, como os anticorpos, as citocinas, o complemento e os receptores presentes na superfície das células de defesa. Estudaremos as patologias associadas ao sistema imunológico e o importante papel das vacinas, enfatizando ainda mais a importância de um sistema imune saudável para ter uma vida saudável. Os mecanismos envolvidos nas reações imunológicas (interações antígeno–anticorpo) in vivo e in vitro também serão vistos, sendo destacadas as interações in vitro que auxiliam no diagnóstico.

Motivação:

- *Por que o estudo da Imunologia é importante para o professor de Biologia?*

Todos nós já sabemos que respostas imunes defeituosas tornam o organismo suscetível a sérias infecções que podem levar à morte. Constantemente nos deparamos com uma série de questionamentos como estes:

- *Por que anticorpos, que deveriam ser nossa principal forma de defesa, nem sempre nos protegem contra as doenças?*
- *Por que não conseguimos produzir vacinas contra muitas doenças importantes, como AIDS, malária, herpes, dengue, esquistossomose etc.?*
- *Por que montamos resposta imune contra materiais inócuos ou montamos respostas imunes inapropriadas (alergias a alimentos, medicamentos, pó, tecidos do corpo e outros)?*
- *Por que rejeitamos transplantes de órgãos?*

- Por que nosso estado emocional, nossa atividade física e nossa alimentação exercem tanta influência sobre nossa resposta imune?

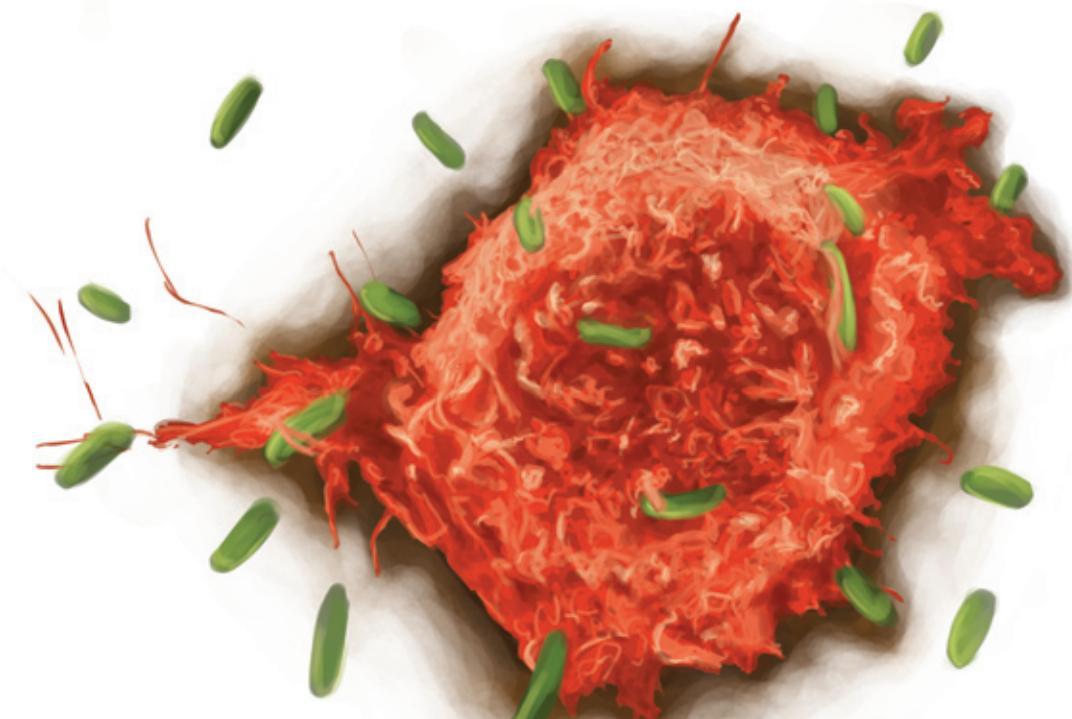
Pois bem, para algumas, mas não para todas essas perguntas, encontraremos respostas ao estudarmos como funcionam as células e os tecidos envolvidos na nossa defesa, e, por essa razão, é tão importante que o professor de Biologia tenha respostas aos questionamentos dos seus alunos ou saiba explicar por que, para algumas dessas questões, não poderemos dar uma resposta definitiva. Sendo assim, esperamos que os conteúdos do presente livro lhes sejam muito úteis e forneçam subsídios para buscar outras respostas a outros questionamentos que certamente irão surgir. Desejamos a todos uma boa viagem ao nosso sistema de defesa.

Célia Regina Monte Barardi

Sonia Gonçalves Carobrez

Aguinaldo Roberto Pinto

CAPÍTULO 1



Células, órgãos e tecidos envolvidos na resposta imune

Aqui começa a nossa viagem através do complexo sistema de defesa de nosso organismo, constituído por células, organizado em vários tecidos e órgãos do corpo, além de distribuído na circulação sanguínea e linfática. Esse é o trecho inicial de nossa viagem, e o seu aprendizado será fundamental para que compreendamos os demais capítulos que virão a seguir. Tudo irá se imbricar em cada capítulo, e muitas vezes voltaremos a falar das células, dos tecidos e dos órgãos aqui apresentados. Neste capítulo conheceremos as células envolvidas em nossa defesa, como se formam e se diferenciam e qual o seu papel na nossa defesa. Aprenderemos também como é importante o armazenamento dessas células nos distintos órgãos e tecidos linfoides do corpo, enquanto elas não estão circulando através do sangue e da linfa. Desejamos que vocês fiquem fascinados por esse mundo da Imunologia e que compreendam que o bom funcionamento desse sistema é fundamental para a manutenção de uma vida saudável, para a aquisição de defesas contra infecções e para a recuperação do organismo em caso de infecções das mais variadas origens.

1.1 Células da resposta imune

Neste primeiro capítulo vamos iniciar o estudo sobre as células envolvidas em nossa defesa, vamos aprender que todas elas se originam de única célula que tem múltiplas potencialidades. Essas células pluripotentes são chamadas “progenitoras” ou “células-tronco hematopoiéticas” e são produzidas constantemente e em grandes quantidades na medula óssea. Essas células são realmente muito versáteis e conhecidas como “células-tronco pluripotenciais”. Elas serão responsáveis pela futura formação de todas as células sanguíneas envolvidas direta ou indiretamente em nossa defesa. Isso inclui até as hemácias (células vermelhas do sangue ou eritrócitos) e as plaquetas (importantes na coagulação sanguínea e responsáveis pela formação dos trombos venosos). A primeira diferenciação dessas células-tronco será na formação de células progenitoras denominadas **mieloides** e de células progenitoras denominadas **linfoides**. Neste capítulo estaremos interessados em estudar as células que derivam do progenitor mieloide e do progenitor linfoide, e não entraremos em detalhes no estudo dos megacariócitos e dos eritrócitos. Os diferentes tipos de células sanguíneas e suas linhagens estão resumidos na Figura 1.1.

Granulócitos

Entende-se por granulócitos todas as células sanguíneas que possuem grânulos no seu citoplasma e que possuem seu núcleo em formato polimórfico, sobre as quais falaremos logo a seguir.

Comecemos pelo precursor mieloide. Os **leucócitos polimorfonucleares** (PMN) consistem em uma população de células também denominadas de **granulócitos**. O precursor mieloide é o responsável pela formação desses **granulócitos** e também pela formação dos **monócitos**, dos **macrófagos**, das **células dendríticas** e dos

mastócitos, todos eles superimportantes em nossa primeira linha de defesa contra muitos agentes patogênicos. Falando um pouquinho de cada uma dessas células e começando pelos macrófagos, vamos aprender que essas células constituem uma das principais (mas não únicas) **células fagocíticas** do sistema imunológico, um fenômeno sobre o qual já aprendemos em outras disciplinas e a que

Células fagocíticas

Células fagocíticas são aquelas que têm a capacidade de englobar agentes estranhos e degradá-los totalmente ou em porções mais simples que serão subsequentemente reconhecidas pelo sistema imune.

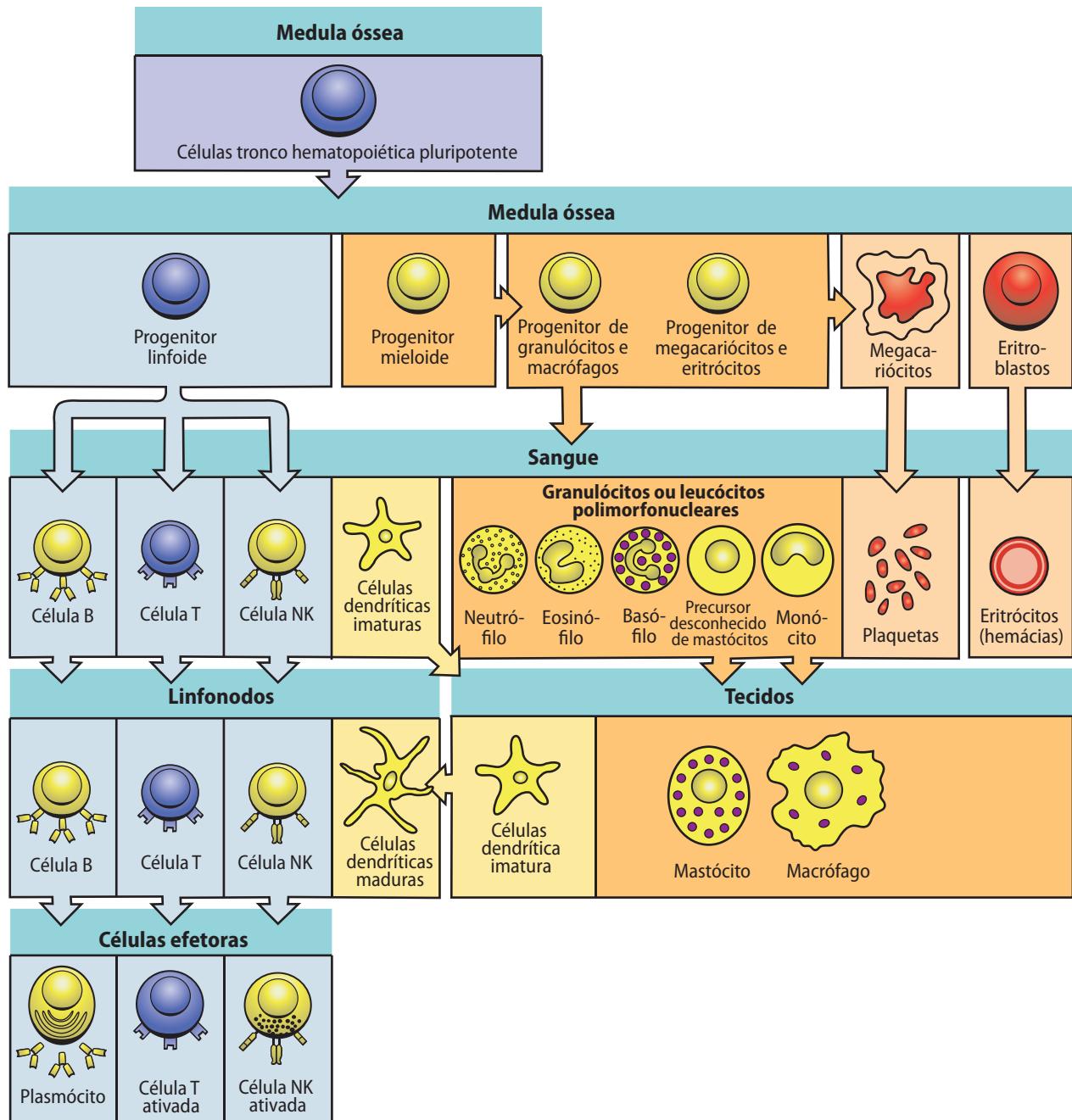


Figura 1.1 – Células da resposta imune. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 4).

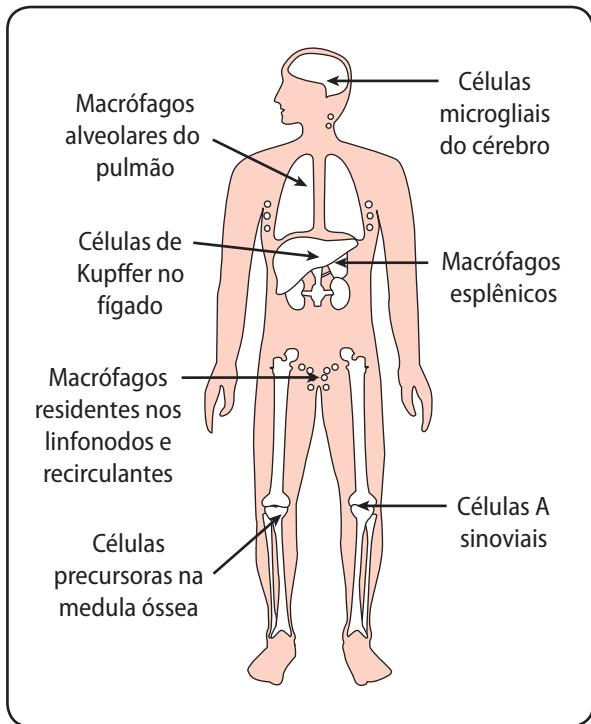


Figura 1.2 – Sistema fagocitário mononuclear.
(Adaptado de MALE et al., 2006, p. 5).

Os monócitos sanguíneos desenvolvem-se na medula óssea, atingem a corrente sanguínea, circulam por poucos dias e, finalmente, deslocam-se para os tecidos onde se diferenciam em outro tipo celular denominado macrófagos, ou seja, os macrófagos são a forma madura dos monócitos (ou outros nomes).

chamamos de fagocitose, uma palavra que será muito constante no curso da Imunologia. Em geral, células da série dos macrófagos apresentam duas funções principais. Uma função, como seu próprio nome indica (**“macro = grandes e fagos = comedoras”**), ou seja, de engolhar e, com o auxílio de todas as enzimas degradadoras em seus grânulos **lisossomais**, fragmentar os materiais englobados a aminoácidos simples, açúcares e outras substâncias para posterior excreção ou reutilização. Como veremos em capítulos seguintes, a segunda maior função dos macrófagos é englobar agentes estranhos, processá-los por desnaturação ou digestão parcial e apresentá-los em sua superfície para células envolvidas na resposta imune específica, que são os linfócitos T específicos, sobre os quais falaremos mais adiante. Assim, dizemos na Imunologia que os macrófagos também funcionam como **“células apresentadoras de抗原”**. Os macrófagos distribuem-se amplamente em muitos tecidos do nosso corpo e até recebem nomes diferentes de acordo com o tecido em que se encontram (Figura 1.2).

Os macrófagos são, na verdade, a forma madura dos **monócitos sanguíneos**, ou seja, os monócitos são as células que circulam no sangue e, quando essas células migram para os tecidos, sofrerão novas diferenciações, compondo uma variedade de formas histológicas que participam da fagocitose. Conforme explicado anteriormente, dependendo do tecido em que os macrófagos se encontram, eles terão um nome e um formato. Exemplos: células de Kupffer no fígado (células grandes com várias projeções citoplasmáticas); macrófagos alveolares no pulmão; macrófagos esplênicos no baço; macrófagos peritoneais presentes no líquido peritoneal; micrólia no tecido nervoso central; osteoclastos nos ossos etc. Para resumir e ficar bem claro, os monócitos sanguíneos, que constituem 5% a 10% das células brancas circulantes e que têm uma vida bem curta (passam aproximadamente 24h no sangue), logo vão se diferenciar

nos macrófagos teciduais e, com isso, ter uma vida mais longa e ser mais eficientes na eliminação dos agentes estranhos.

As **células dendríticas** estão sendo muito estudadas na Imunologia. Elas também são células fagocíticas, mas o seu papel mais importante não é o de degradar os agentes estranhos fagocitados, como fazem os macrófagos, mas sim processar esses agentes em formas mais simples e depois apresentar cada uma dessas porções para os linfócitos T. Assim, podemos dizer que **as células dendríticas são as principais células apresentadoras de抗ígenos do nosso organismo** e, por isso, elas estão sendo tão estudadas. As células dendríticas podem ser encontradas na circulação e também residindo em alguns tecidos do corpo. A morfologia dessas células (nos tecidos, elas se parecem com estrelas-do-mar, e esses prolongamentos são denominados de dendritos e dão o nome a essas células) está relacionada com sua excelente capacidade de capturar agentes estranhos e depois reapresentá-los, pois isso aumenta muito a sua superfície de contacto com esses agentes.

Os **mastócitos**, cujo precursor sanguíneo não está bem definido, também são células diferenciadas e residentes nos tecidos. Essas células se localizam principalmente próximo a pequenos vasos sanguíneos e, quando são ativadas pela presença de um agente estranho, têm a capacidade de liberar substâncias que vão afetar a permeabilidade desses vasos. Essas substâncias ficam armazenadas em grânulos no interior dessas células e são muito conhecidas por desenvolver respostas alérgicas, ou até mesmo o choque anafilático em alguns indivíduos, dependendo da quantidade liberada na circulação. Sobre isso falaremos mais tarde, quando tratarmos das reações imunes conhecidas como hipersensibilidades.

Voltemos a falar dos **granulócitos ou leucócitos polimorfonucleares (PMN)**, aquelas células que recebem esse nome por possuírem grânulos densamente coráveis em seu citoplasma e que possuem núcleos multilobados ou polimórficos. Esses núcleos constituem cerca de 65% das células brancas em nosso sangue. Há três tipos de granulócitos em nosso sangue, todos eles com uma vida relativamente curta e produzidos em grande quantidade durante as respostas imunes. Nessas horas, eles abandonam a circulação e conseguem chegar até o local da infecção ou da inflamação.

Eles são assim denominados porque os seus grânulos se mantêm relativamente sem coloração (neutros) ao microscópio.

Quando essas células fazem fagocitose e morrem, são responsáveis pela formação do **pus** nos locais infectados. Sobre esse fenômeno também vamos estudar mais adiante. A aparência dos grânulos dessas células ao microscópio óptico, após coloração convencional, dá origem a uma posterior subdivisão. O primeiro e mais abundante tipo de granulócito são os **neutrófilos**, que representam a terceira célula fagocitária do sistema imunológico e possuem uma vida média de aproximadamente 12h em circulação. Os neutrófilos são os elementos mais numerosos (90% a 95% dos granulócitos são neutrófilos) e mais importantes de nossa primeira barreira de defesa, que vamos denominar imunidade inata. Isso é fácil de entender quando nos deparamos com deficiências genéticas na função dos neutrófilos que levam a sérias infecções bacterianas, que podem ser fatais se não forem corretamente tratadas. Para termos uma ideia da importância dessas células, o seu número na circulação varia de 4.000 a 10.000 células/mm³ de sangue. Durante as infecções esse número chega a valores superiores a 20.000 células / mm³ de sangue, ou seja, esse número no mínimo dobra.

Grânulos corados em vermelho estão presentes nos **eosinófilos**, que representam 3% a 5% dos granulócitos circulantes. Os eosinófilos são importantes na defesa contra infecções parasitárias, pois o conteúdo dos seus grânulos é tóxico para os parasitos. O número dessas células aumenta na circulação quando a pessoa está com verminose, por exemplo. Grânulos com intensa coloração azul são encontrados nos **basófilos**, que representam 0,5 a 1% dos granulócitos. A função dos basófilos provavelmente é similar e complementar à dos eosinófilos e mastócitos. A função dessas células será mais bem explicada na seção em que falaremos do seu papel nas alergias.

Finalizamos a discussão sobre as células originadas a partir de progenitoras mieloides. Vamos agora passar a estudar as células originadas a partir de **progenitoras linfoide**s, ou seja, os linfócitos.

Como ponto de partida, vamos conhecer as principais características morfológicas dessas células. Os linfócitos são células mononucleares que apresentam uma fina borda de citoplasma quando se encontram no seu estado de repouso. Uma célula em estado de repouso é assim considerada quando ainda não foi estimulada por um antígeno e, portanto, encontra-se na fase G₀ do ciclo celular.

Como dito anteriormente, essas células, quando não estimuladas por抗ígenos, são pequenas e apresentam cerca de 6-10 μm de diâmetro, núcleo de cromatina condensada e um citoplasma muito escasso. No momento em que essas células são expostas e interagem com抗ígenos, elas são consideradas ativadas e progridem para as demais fases do ciclo celular. Na sequência, observa-se a produção de novas proteínas por essas células. Essas células aumentam de tamanho porque o citoplasma se torna mais abundante e rico em organelas. Os linfócitos tornam-se, então, linfócitos grandes, conhecidos como **linfoblastos**, e chegam a atingir cerca de 10-12 μm de diâmetro.

Linfoblasto

Linfoblasto é uma célula imatura encontrada na medula óssea em pequenas proporções, precursora de linfócitos maduros.

Quando há um grande número de células em processo de divisão celular, podemos dizer que ocorreu uma amplificação clonal. Esse processo é observado quando é produzido um grande número de células com capacidade de reagir contra os抗ígenos, que inicialmente foram as substâncias responsáveis pela ativação celular.

Duas são as principais populações de linfócitos, os **linfócitos T ou células T (timócitos)** e os **linfócitos B ou células B**. Os linfócitos constituem 25 a 35% do total das células brancas (os leucócitos) presentes no sangue. A presença dos linfócitos T e B no sangue obedece, respectivamente, à relação de 5:1.

Os linfócitos T ou células T se desenvolvem a partir de precursores no **timo**. Os linfócitos B ou células B se diferenciam no fígado fetal e na **medula óssea**. Nas aves, essa diferenciação ocorre em um órgão denominado de **Bursa de Fabricius**, situado próximo à cloaca das aves.

Os linfócitos T e B são células que desempenham funções distintas, são indistinguíveis ao microscópio óptico, contudo apresentam diferenças que podem ser evidenciadas ao microscópio eletrônico e/ou outras técnicas.

Estudemos o processo de desenvolvimento dessas células. Vamos iniciar o aprendizado falando sobre os **linfócitos T**.

Dissemos anteriormente que essas células se desenvolvem no timo. Cabe lembrar as aulas de Histologia em que foi discutido que esse órgão possui um microambiente próprio para a maturação e a produção dos linfócitos T.

Pela importância desse órgão no sistema imune, cabe recordá-lo e inserir novos conhecimentos importantes e fundamentais para o entendimento do sistema imune.

1.2 Órgãos linfoideos primários

1.2.1 Timo

Os órgãos linfoideos primários representam o local onde ocorrem a maturação e a diferenciação dos linfócitos.

O timo é um **órgão linfoide primário**, bilobado (formado por dois lobos) e localizado no mediastino superior. Quando a cavidade torácica de um camundongo é aberta, os lobos do timo apresentam uma estrutura semelhante a duas pétalas de rosas brancas que são observadas sobre o coração. Cada um desses lobos contém vários lóbulos. Esses lóbulos apresentam três regiões, denominadas de zona subcapsular, córtex e medular (Figura 1.3). O processo de diferenciação das células no timo é bastante complexo e envolve várias etapas. As células precursoras dos linfócitos T, oriundas da medula óssea, migram para o timo e iniciam o seu processo de maturação. Na zona capsular, as células derivadas da medula óssea são ditas triplonegativas, uma vez que não apresentam moléculas na superfície celular. Isso significa dizer que essas células não possuem ainda **moléculas na superfície celular e receptores para antígeno**. Na região cortical do timo, observam-se células que passam por rearranjos gênicos que resultam na aquisição de **receptores para antígenos** nas superfícies celulares. Esses receptores são denominados de TCRs (do inglês, *T Cell Receptor*, que significa receptor da célula T). As células T ou timócitos migram da região cortical para a região medular. Durante essa migração, essas células tornam-se cada vez mais maduras, podendo ser caracterizadas não somente pela aquisição do receptor para antígeno na célula T (TCR), mas também pelo aparecimento ordenado e pela perda de muitas outras moléculas expressas na superfície da célula T (**os marcadores de superfície**). Como exemplos de marcadores de superfície dos linfócitos T, citamos o **CD3, o CD4 e o CD8**.

CD (do inglês, Cluster of Differentiation) são grupos de diferenciação, nomenclatura adotada para caracterizar moléculas que se encontram na superfície das células e servem como seus marcadores.

Os linfócitos e outros leucócitos expressam distintas moléculas CD na sua superfície celular, conferindo funções diferenciadas a essas células.

Passemos a entender agora como se dá o desenvolvimento dos **linfócitos B ou das células B**.

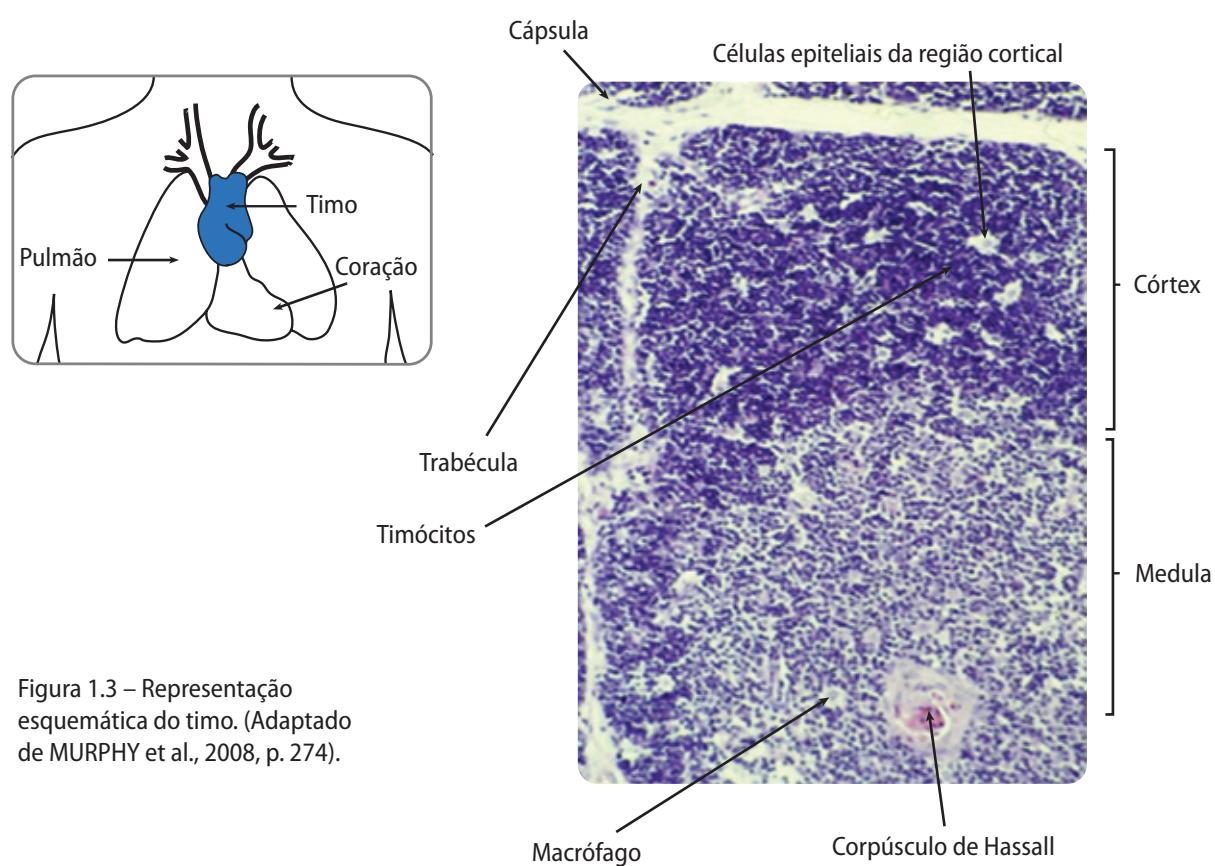
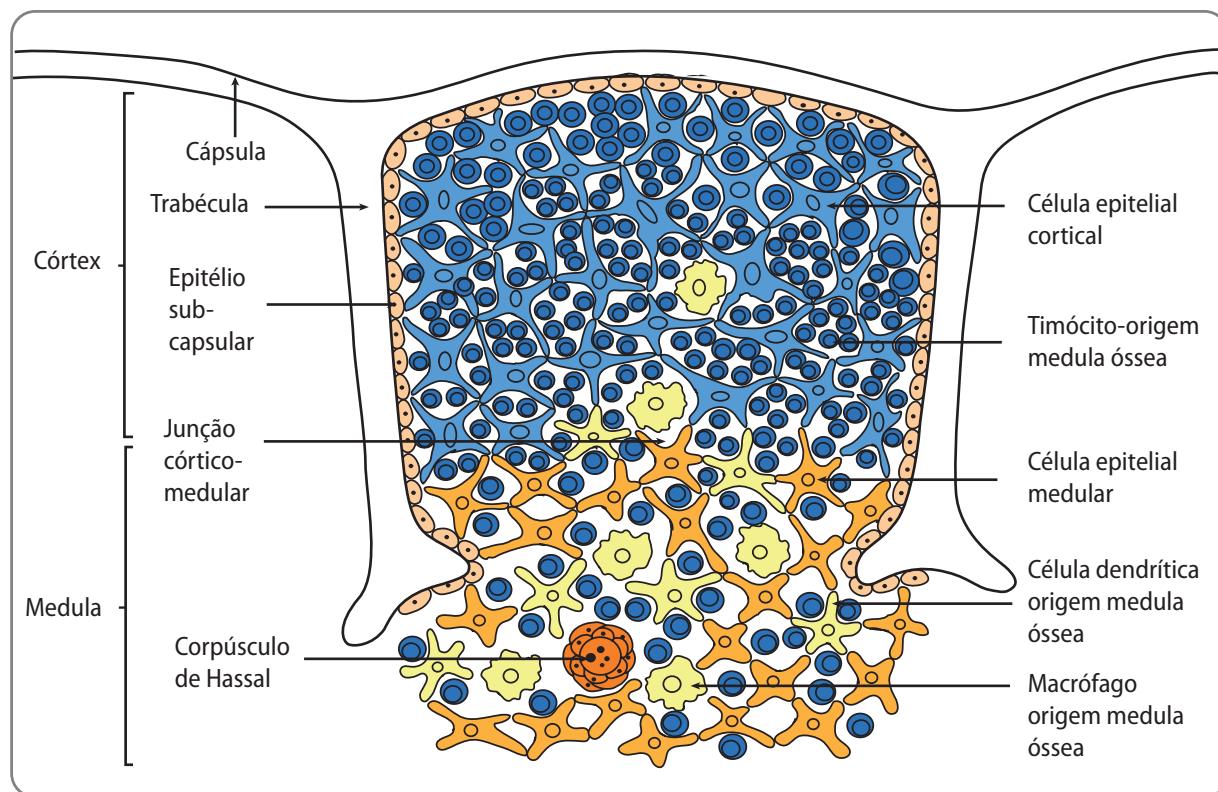


Figura 1.3 – Representação esquemática do timo. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 274).

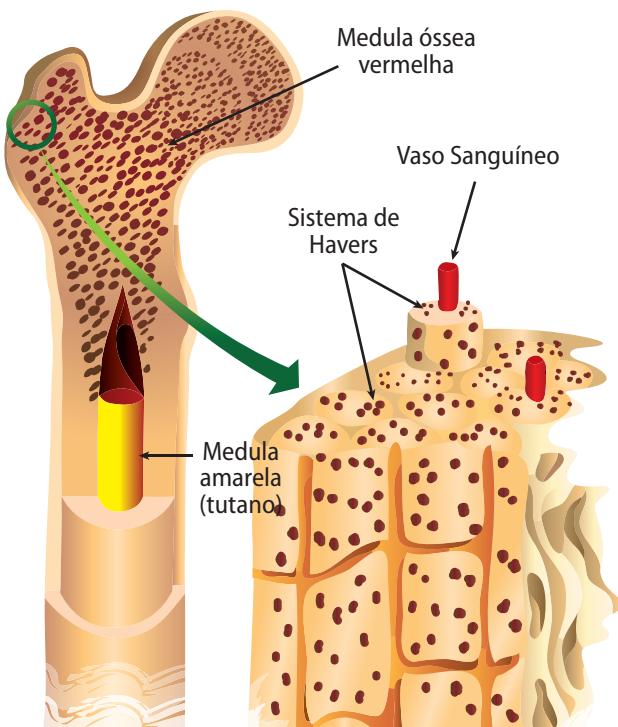


Figura 1.4 – Medula óssea.
(Adaptado de "A MEDULA ÓSSEA", 2005).

As células exterminadoras naturais ou células NK (do inglês, Natural Killer Cell) são um tipo de linfócito pertencente ao sistema imune inato. Têm um papel importante no combate a infecções virais e células tumorais. Identificadas pela primeira vez em 1975, foram rotuladas de exterminadoras naturais (Natural Killer) pela sua atividade citotóxica contra células tumorais de diferentes linhagens, sem a necessidade de reconhecimento prévio de um antígeno específico.

1.2.2 Medula óssea

Nos mamíferos, os linfócitos B diferenciam-se na medula óssea. Durante a vida fetal, o fígado é também um importante local de desenvolvimento do linfócito B. Assim como o timo, a **medula óssea** também é considerada como um **órgão linfoide primário** (Figura 1.4). As células que se diferenciam na medula óssea passam por diversos estágios de desenvolvimento que podem ser explicados pelos rearranjos gênicos das moléculas de imunoglobulinas produzidas endogenamente (denominadas anticorpos de superfície) e pela expressão de moléculas de superfície, como, por exemplo, o CD 19. As moléculas de imunoglobulinas ou anticorpos expressos na superfície dos linfócitos B agem como receptores de抗ígenos.

Uma vez maduras, essas células deixam a medula óssea, entram na circulação e migram para os órgãos linfoides secundários.

Os linfócitos B representam aproximadamente 5 a 15% dos linfócitos circulantes. Nesses locais, os linfócitos B podem se diferenciar em células plasmáticas (plasmócitos), que são células capazes de secretar anticorpos (imunoglobulinas). Mais adiante discutiremos a propriedade dessas células.

Aprendemos como os linfócitos T e B se desenvolvem e se maturam.

Resta-nos agora conhecer as características das **células Natural Killer (NK)**. As células NK são originárias de precursores na medula óssea. No seu estado de repouso, essas células são pequenas em tamanho. Quando são ativadas, aumentam de tamanho e passam a ser reconhecidas como células ou linfócitos granulares grandes, uma vez que o citoplasma é maior e rico em grânulos. Essas células são consideradas como uma população distinta dos linfócitos T ou B. Não migram para o timo e atuam na imunidade inata (como discutiremos adiante). Os seus receptores de superfície, diferentemente dos linfócitos T e B, podem interagir com por-

ções proteicas, glicosiladas ou lipídicas de glicoproteínas ou ainda com glicolipídeos presentes nas superfícies de outras células. As células NK compreendem 10 a 15% das células no sangue e são responsáveis pela citotoxicidade contra determinadas células-alvo, e como consequência observa-se a lise delas. As células NK atuam preferencialmente na lise de células infectadas por vírus e de células tumorais ou de células recobertas por IgG.

Concluindo o nosso aprendizado sobre os linfócitos T e B

Uma vez maduros, os linfócitos T e B deixam o timo e a medula óssea, respectivamente, e migram para os **órgãos linfoides secundários**.

Locais em que a resposta imune poderá se estabelecer.

Quais são, então, esses órgãos linfoides secundários?

1.3 Órgãos linfoides secundários

1.3.1 Linfonodos

Os linfonodos são estruturas encapsuladas que possuem cerca de 25 mm de diâmetro e estão localizados junto aos tratos linfáticos principais. Os linfonodos são conhecidos como gânglios linfáticos ou ainda como nódulos linfáticos. Apresentam uma estrutura semelhante a um pequenino feijão. Como exemplo, podemos citar os linfonodos axilares, encontrados nas axilas; os linfonodos inguinais, presentes na região inguinal; e os linfonodos mesentéricos, presentes no mesentério.

Estruturalmente, as três principais áreas encontradas em um linfonodo são córtex, paracortical e medula (Figura 1.5). Predominantemente encontramos nessas regiões linfócitos B, linfócitos T CD4⁺, linfócitos T, linfócitos B e macrófagos, respectivamente. Em um linfonodo não estimulado, os linfócitos B organizam-se em folículos primários no córtex. Após o estímulo antigênico, esses folículos crescem e formam os folículos secundários, que contêm áreas de grande proliferação celular chamadas de centros germinativos. Nos processos infecciosos, os linfonodos aumentam significativamente de tamanho.

Os capilares linfáticos formam verdadeiros plexos que se entrelaçam com os capilares sanguíneos. Através dos vasos coletores aferentes, a lâmina é coletada para os linfonodos e, através dos vasos linfáticos eferentes, deixa os linfonodos.

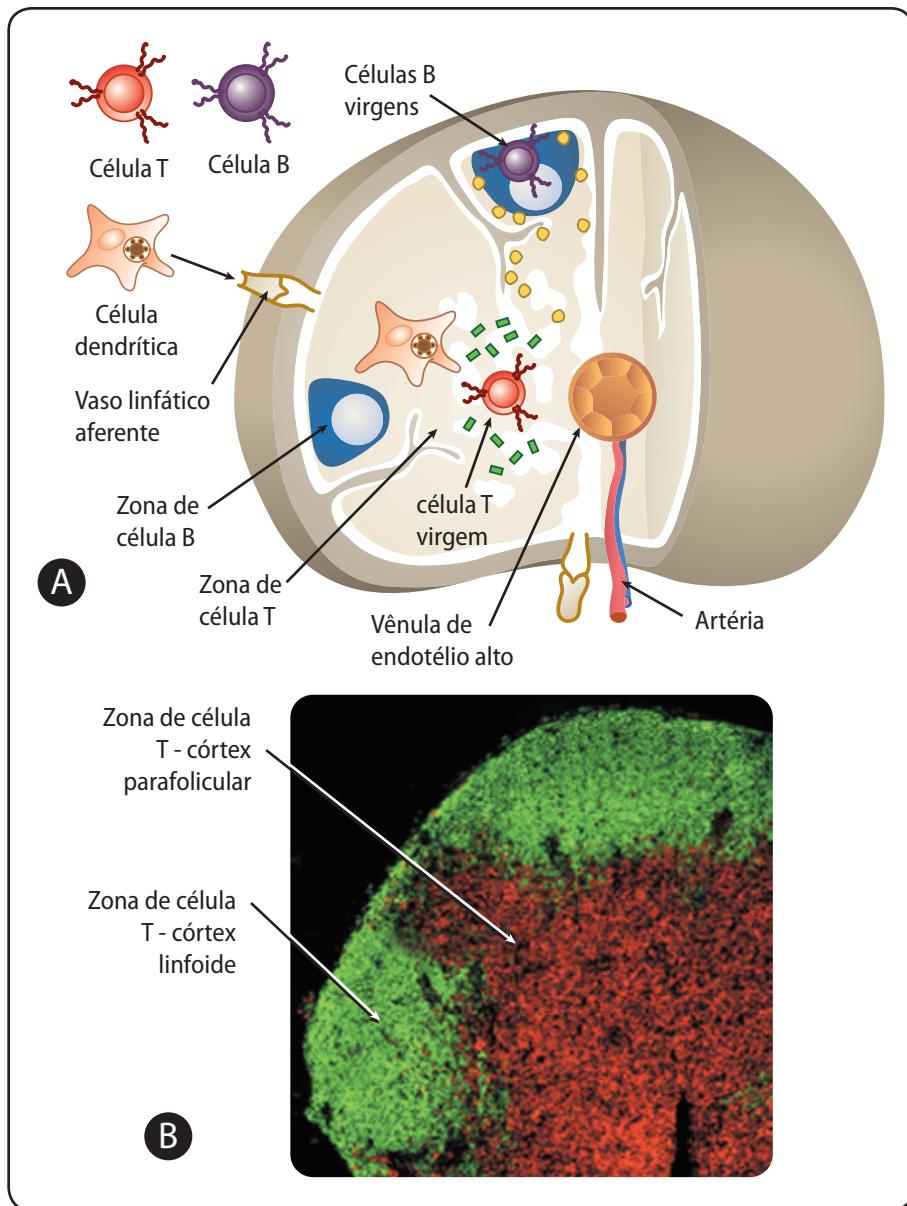


Figura 1.5 – Estrutura morfológica de um linfonodo. (Adaptado de ABBAS et al., 2007, p. 61).

Canais linfáticos eferentes
Local de drenagem dos fluidos dos tecidos que transporta os抗ígenos dos locais de infecção para os linfonodos.

Muitos de vocês certamente ouviram o comentário popular “estou com uma língua”. Essa “língua” que é sentida ao ser palpada é o linfonodo inguinal que “inchou” ou aumentou o seu tamanho. Esse aumento se deve à ativação dos linfócitos T e B, que se dividem e proliferam em processos infecciosos.

Falemos sobre a mobilidade dessas células. Como os linfócitos que estão na circulação penetram nos linfonodos?

Os linfócitos circulantes entram nos linfonodos através das vénulas de endotélio alto (HEV) no paracôrte, migram até a medula nodular e retornam à circulação via **canais linfáticos eferentes**.

1.3.2 Baço

É um órgão linfoide secundário localizado na região abdominal esquerda (hipocôndrio esquerdo) e possui muitas outras funções consideradas não imunes, que incluem a filtração do sangue e a conversão da hemoglobina em bilirrubina.

Ao observar um corte de baço ao microscópio óptico, vemos uma **polpa branca** que compreende um tecido linfoide denso, nodular, envolvendo arteríolas e que contém uma grande quantidade de linfócitos agregados. Observamos, ainda, uma **polpa vermelha** com seios e tecidos reticulares banhados pelo sangue, contendo hemácias (glóbulos vermelhos ou eritrócitos) em processo de distribuição (Figura 1.6).

Compreendendo a organização da polpas:

Polpa branca

Os nódulos desta região, os folículos linfoides, são áreas onde se encontram, predominantemente, os linfócitos B. Devemos destacar que é possível observar no interior desses folículos a formação de centros germinativos contendo células B em processo de divisão celular. Esses centros germinativos podem ser formados durante a ativação de uma resposta imune. Foi dito anteriormente que a polpa branca compreende um tecido linfoide denso que envolve as arteríolas. A camada ou bainha linfoцитária que envolve essas arteríolas é denominada de bainha linfoide periarteriolar (BLPA). Nessa área encontramos predominantemente os linfócitos T.

Polpa vermelha

Observa-se uma rede de vasos (arteríolas, vênulas e uma rede de vasos de parede muita fina), os sinusoides. Nesses se observam monócitos e/ou macrófagos e células dendríticas em grande quantidade. Além dessas células, podemos encontrar neutrófilos, eritrócitos, linfócitos e plasmócitos. Nessa região do baço, considerada como um importante filtro para o sangue, percebe-se a hemocaterese, que consiste na eliminação das hemácias e plaquetas lesadas ou senescentes pela ação dos macrófagos.

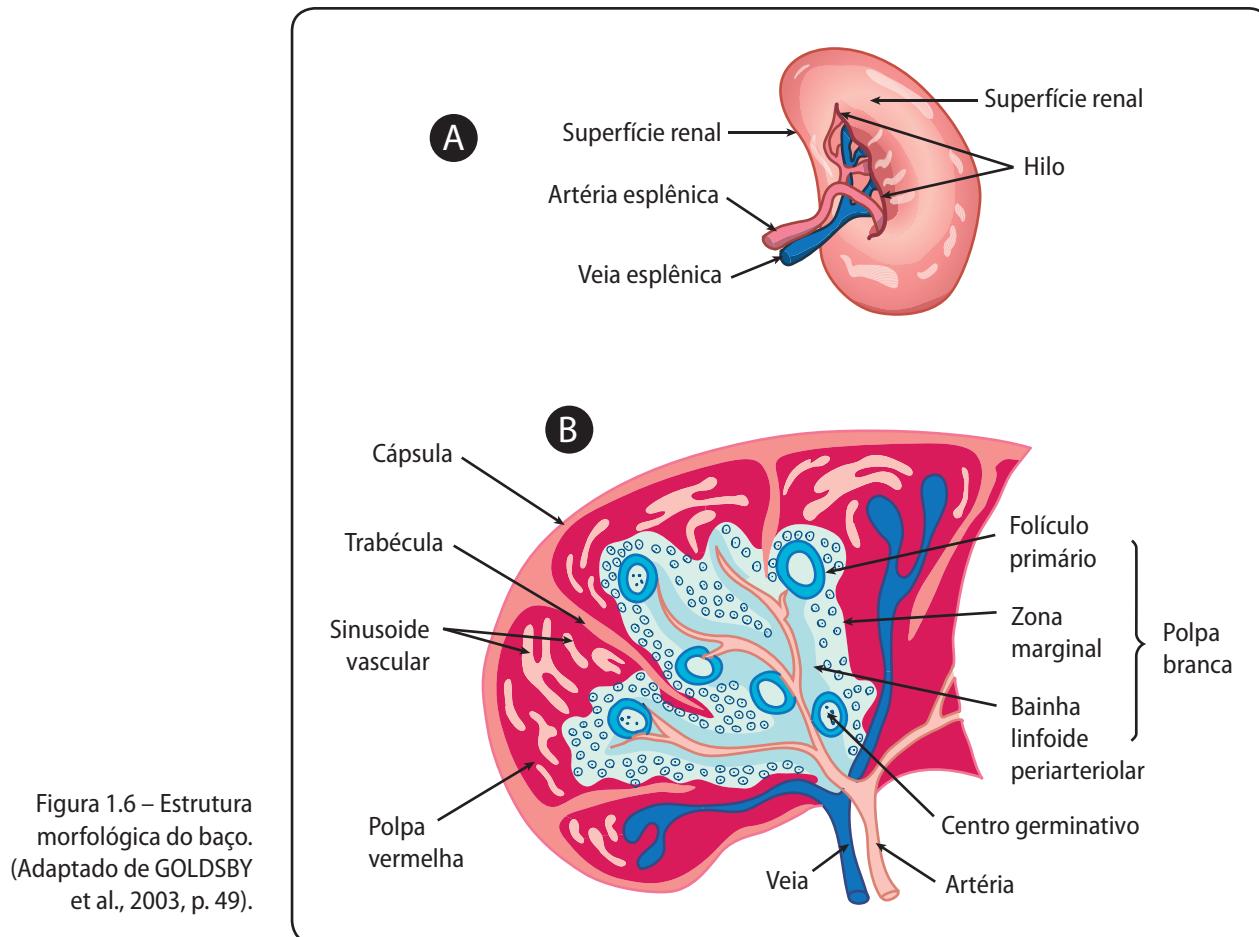


Figura 1.6 – Estrutura morfológica do baço.
(Adaptado de GOLDSBY et al., 2003, p. 49).

No baço, diferentemente dos linfonodos, os抗ígenos e os linfócitos atingem o órgão pelos vasos sanguíneos (filtro do sangue). Uma das características das células no baço é a lenta velocidade de circulação, o que permite um constante monitoramento do sangue, principalmente quanto à invasão por agentes infecciosos. O baço tem a sua importância reconhecida, uma vez que, entre outras funções, é um órgão importante para a remoção de抗ígenos disseminados pelo sangue.

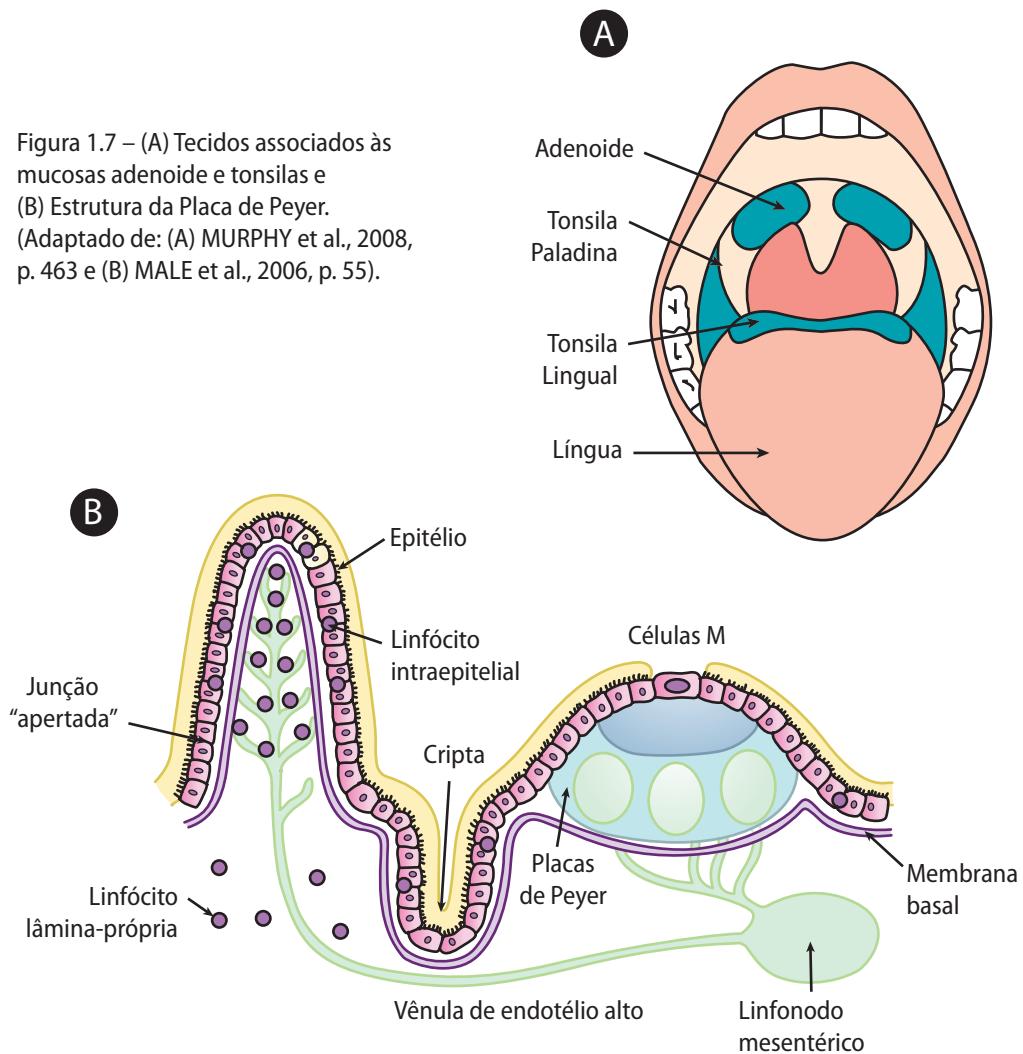
1.3.3 Tecidos linfoideos associados a mucosas

Os tecidos linfoideos não encapsulados na superfície das mucosas gastrointestinais, respiratória e do trato genitourinário são coletivamente chamados de tecidos associados às mucosas – MALT (do inglês, *Mucosal Associated Tissues*). De todos esses tecidos, os melhores caracterizados são os tecidos associados ao intestino –

GALT (do inglês, *Gut Associated Tissues*) –, que compreendem as Placas de Peyer no intestino delgado e os folículos linfoides isolados dentro da submucosa intestinal; os tecidos associados aos brônquios – **BALT** (do inglês, *Bronchio Associated Tissues*); e os tecidos associados à nasofaringe – **NALT** (do inglês, *Nasopharynx Associated Tissues*), que compreendem as amígdalas e as adenoides (Figura 1.7).

As células M são encontradas nesses tecidos, são células epiteliais especializadas. Os抗ígenos inalados ou ingeridos são captados por essas células M mediante um processo conhecido por **pinocitose** (captação de pequenos vacúolos contendo líquidos e/ou moléculas). Observam-se ainda nesses tecidos plasmócitos produtores de IgA, células T e macrófagos.

Figura 1.7 – (A) Tecidos associados às mucosas adenóide e tonsilas e (B) Estrutura da Placa de Peyer. (Adaptado de: (A) MURPHY et al., 2008, p. 463 e (B) MALE et al., 2006, p. 55).



Resumo

No presente capítulo, aprendemos que as células envolvidas na defesa imunológica são derivadas de um único progenitor comum, formado na medula óssea e que recebe a denominação de célula-tronco hematopoiética. Num primeiro estágio de diferenciação e ainda na medula óssea, essa célula-tronco se diferencia em progenitor mieloide e progenitor linfoide. O progenitor mieloide dará origem aos granulócitos ou células polimorfonucleares, que possuem grânulos em seu citoplasma e um núcleo polimórfico (células PMN).

Os PMN são os neutrófilos (os PMN mais abundantes, responsáveis pela fagocitose de抗ígenos e pela formação do pus em infecções), eosinófilos (grânulos corados em vermelho e envolvidos na defesa contra parasitas helmintos) e basófilos (grânulos corados em azul e atuantes em reações alérgicas). Também envolvidos em reações alérgicas estão os mastócitos teciduais, que possuem em seu interior grânulos contendo histamina e outros componentes importantes em reações inflamatórias e alérgicas. O progenitor mieloide também dará origem aos monócitos, que posteriormente migram para vários tecidos do corpo e se diferenciam em macrófagos.

Os monócitos e os macrófagos constituem o chamado sistema fagocítico mononuclear, sendo os macrófagos células muito importantes na fagocitose de抗ígenos, destruindo-os ou processando-os para que sejam reconhecidos pelos linfócitos. Do progenitor mieloide também derivarão as células dendríticas, que, juntamente com os macrófagos e com os linfócitos B, constituirão células apresentadoras de抗ígenos para os linfócitos T na imunidade específica.

Também na medula óssea estão os progenitores linfoides, que darão origem aos linfócitos B, aos linfócitos T e às células NK. A medula óssea, por fazer parte da formação de todas essas células, recebe a denominação de órgão linfoide primário. Aprendemos neste capítulo que, para que os linfócitos T migrem para a circulação e os tecidos linfoides, eles precisam passar pelo timo após sua pré-formação na medula óssea, sendo este também um órgão linfoide primário. Todos os outros órgãos e tecidos linfoides, e dentre

os quais destacamos o baço, os linfonodos e os tecidos linfoides associados a mucosas respiratória e intestinal, são denominados secundários. Esses são locais de armazenamento de linfócitos para onde são drenados os抗ígenos para que ocorra a maioria das interações dos抗ígenos com os linfócitos na imunidade específica.

Referências

ABBAS, Abul K.; LICHTMANN, Andrew H.; PILLAI, Shiv.

Cellular and molecular immunology. 6. ed. Philadelphia, PA:
Saunders Elsevier, 2007. p. 61.

A MEDULA ÓSSEA. 23 out. 2005. Disponível em: <<http://topazio1950.blogs.sapo.pt/51001.html>>. Acesso em: 19 dez. 2009.

BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. 4. ed.
Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 288.

COICO, R.; SUNSHINE, G. *Immunology: a short course*. 6. ed.
New Jersey, 2009. p. 391.

GOLDSBY, R. A.; KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A.; KUBY, J.
Immunology. 5. ed. New York: W. H. Freeman and Company,
2003. p. 49.

MALE, D.; BROSTOFF, J.; ROTH, D. B.; ROTH, I. *Immunology*.
7. ed. Philadelphia, PA: Mosby, Elsevier, 2006. p. 5 e 55.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Janeway's
Immunobiology*. 7. ed. New York: Garland Science, 2008.
p. 4; 274 e 463.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. *Imunologia básica e clínica*. Rio
de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 327.

CAPÍTULO 2



Resposta imune inata e inflamação

O que tem a ver nossa pele, pelos do nosso corpo, lágrimas, saliva, muco, batimento dos cílios, tosse, espirro, fluxo urinário, enfim, o que todos esses elementos tão fisiológicos têm a ver com a nossa imunidade? Pois bem, esses elementos têm tudo a ver com a nossa imunidade, pois são eles, juntamente com células e proteínas, que constituirão a nossa primeira linha de defesa: aquela que já nasce com a gente, aquela que nos protege no dia a dia e que impede que adoeçamos constantemente, mesmo estando rodeados de micro-organismos patogênicos no ar, na água, nos alimentos etc. E é sobre esses componentes da chamada imunidade inata que nós vamos discorrer neste capítulo. A esses elementos, muitas vezes, só damos a devida importância quando nos faltam ou estão funcionando mal: uma pele lesada por um corte ou uma queimadura é a porta de entrada aberta para uma infecção e inflamação nesse local; a secura dos olhos por entupimento do canal lacrimal é uma conjuntivite se instalando. Nessas horas veremos que a imunidade inata é mesmo o nosso escudo principal de defesa. E a inflamação, a febre que se instala quando a inflamação está ocorrendo, têm essas coisas relação com a nossa defesa? Sobre esse tema também estudaremos neste capítulo.

2.1 Introdução

A imunidade inata é conferida por aqueles elementos com os quais o indivíduo nasce e que estão sempre presentes e disponíveis no intuito de protegê-lo de invasores externos. Assim, a imunidade presente ao nascer é denominada INATA (uma exceção a ser discutida mais tarde é o conjunto de anticorpos protetores que os bebês adquirem de suas mães). Chamamos essa imunidade de primeira linha de defesa contra micro-organismos invasores. Os elementos da imunidade inata incluem componentes internos e externos, como a pele, as membranas mucosas, os cabelos e pelos do corpo e os reflexos da tosse, o espirro, o fluxo urinário etc., que constituem barreiras físicas efetivas aos agentes do meio ambiente. Influências químicas como pH e ácidos graxos secretados também constituem barreiras efetivas contra a invasão por vários micro-organismos. A falta de especificidade levou ao uso do termo **imunidade não específica** (Figura 2.1).

Para melhor organizar o estudo da imunidade inata, podemos dizer que dessa imunidade participam três componentes fundamentais: **físico-químicos, humoral e celular**.

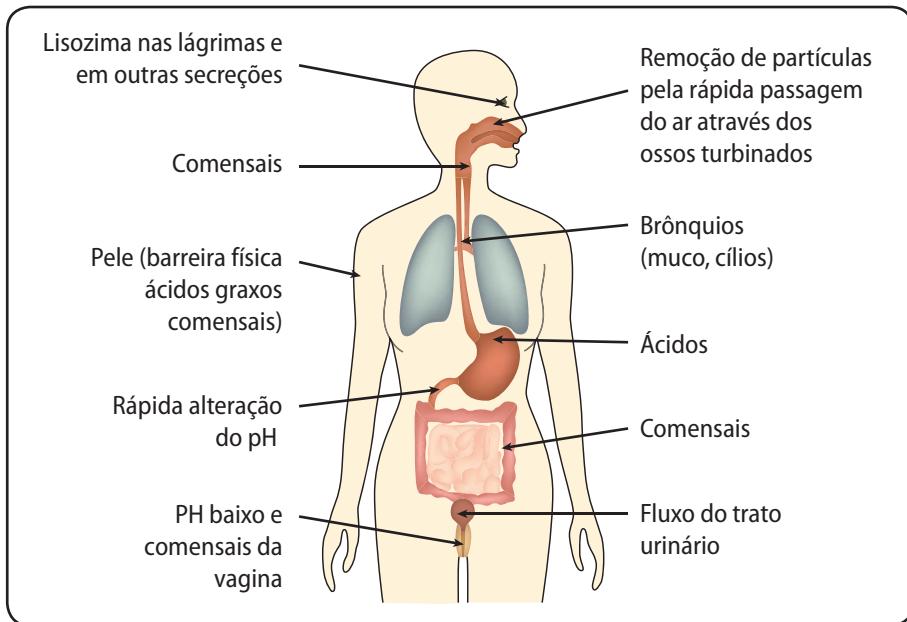


Figura 2.1 – Barreiras físicas e bioquímicas presentes na imunidade inata. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 8).

2.2 Componentes físico-químicos

São as barreiras físicas como a pele e as mucosas, as secreções que continuamente lavam e limpam as superfícies mucosas e os cílios que ajudam na remoção de resíduos e matéria estranha. Você já pensou na importância da pele na sua proteção? A pele é um envoltório semipermeável que reveste todas as superfícies externas do corpo e serve como um escudo protetor do nosso organismo. A maioria dos organismos e das substâncias estranhas não pode penetrar na pele intacta, mas pode entrar no corpo se a pele apresentar alguma lesão. Quando as pessoas sofrem acidentes (queimaduras extensas, por exemplo) e perdem parte desse escudo protetor, está aberta uma porta para a entrada de milhões de bactérias e fungos patogênicos que podem causar infecções graves e comprometer a vida do acidentado.

Alguns micro-organismos também podem entrar através das glândulas sebáceas e dos folículos pilosos. Da mesma maneira, pessoas em tratamento de tumores que perdem os cabelos e os pelos do corpo durante o tratamento (até mesmo os cílios caem) ficam muito susceptíveis a infecções oculares e respiratórias, já que todo o trato respiratório é revestido por cílios. O consumo de álcool, o fumo de cigarros e os narcóticos também podem suprimir

por completo esse sistema de defesa. Outro componente envolvido na proteção em diferentes áreas do corpo, dentre os quais os tratos respiratório e gastrointestinal, está relacionado com o simples fato de que as superfícies dessas áreas estão cobertas por muco. Nessas áreas, a barreira das membranas mucosas serve como armadilha para os micro-organismos, os quais são arrastados por células epiteliais ciliadas em direção às aberturas externas.

2.3 Componentes humorais

Fatores imunologicamente ativos, presentes nas secreções das mucosas, no sangue e no líquido cerebroespinal (os *humores*), são denominados humorais. Esses componentes serão estudados com mais detalhes ao longo do estudo da Imunologia, mas podemos iniciar aqui com alguns exemplos desses componentes, que são as **proteínas (citocinas)** produzidas por células que atuam na fagocitose, as **proteínas de complemento** que serão estudadas mais adiante, as **proteínas de fase aguda** (Figura 2.2) produzidas no fígado durante infecções, entre tantas outras.

Muitas dessas proteínas têm a função de **opsoninas**, e esse termo deve ser compreendido desde cedo no estudo da Imunologia. As enzimas proteolíticas (por exemplo, a lisozima presente nas lágrimas, na saliva e no suor que quebra as proteoglicanas da parede de bactérias em um ponto preciso, clivando ligações entre a N-acetilglicosamina e o ácido N-acetilmramílico) matam as bactérias e, por isso, também são importantes componentes humorais da imunidade inata.

Opsonização

Opsonização em Imunologia é o processo que facilita a ação do sistema imune por fixar opsoninas na superfície bacteriana, permitindo a fagocitose. Opson é uma palavra grega que significa condimento, tempero, molho, ou seja, algo que facilite a digestão. Se for feita uma analogia, esse processo seria como passar mel em um ladrão e colocá-lo num quarto fechado cheio de ursos. Nesse caso, os ursos seriam os macrófagos e granulócitos e o bandido seria o invasor do organismo.

Outro componente humorai extremamente importante na imunidade inata são os **interferons do tipo I**, mais precisamente o **interferon alfa (IFN α ou interferon leucocitário constituído por aproximadamente 20 proteínas relacionadas)** e o **interferon beta (IFN β ou interferon de fibroblastos e células epiteliais)**. Quando células do organismo são infectadas por vírus, elas são imediatamente estimuladas

a biosintetizar esses IFNs. Ambos possuem o papel de inibir a replicação viral, aumentar a expressão de MHC de Classe I e ativar células NK (Figura 2.3).

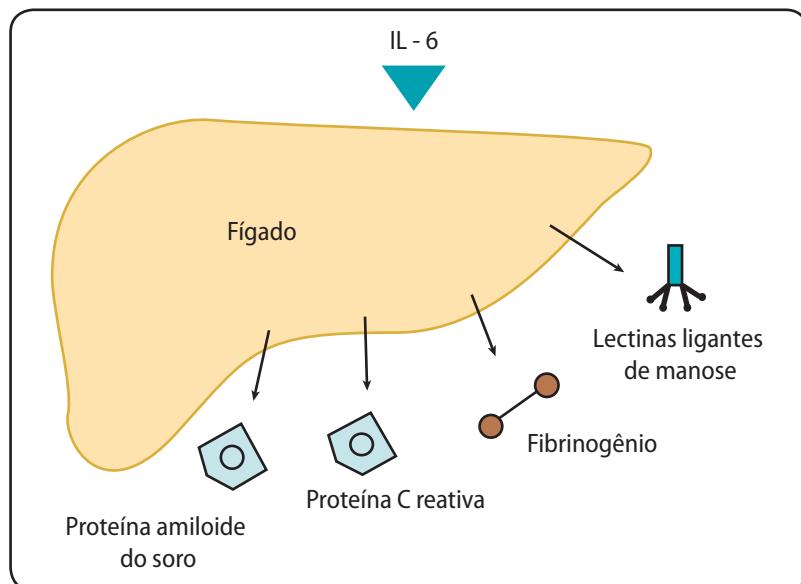


Figura 2.2 – Proteínas de fase aguda.
(Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 93).

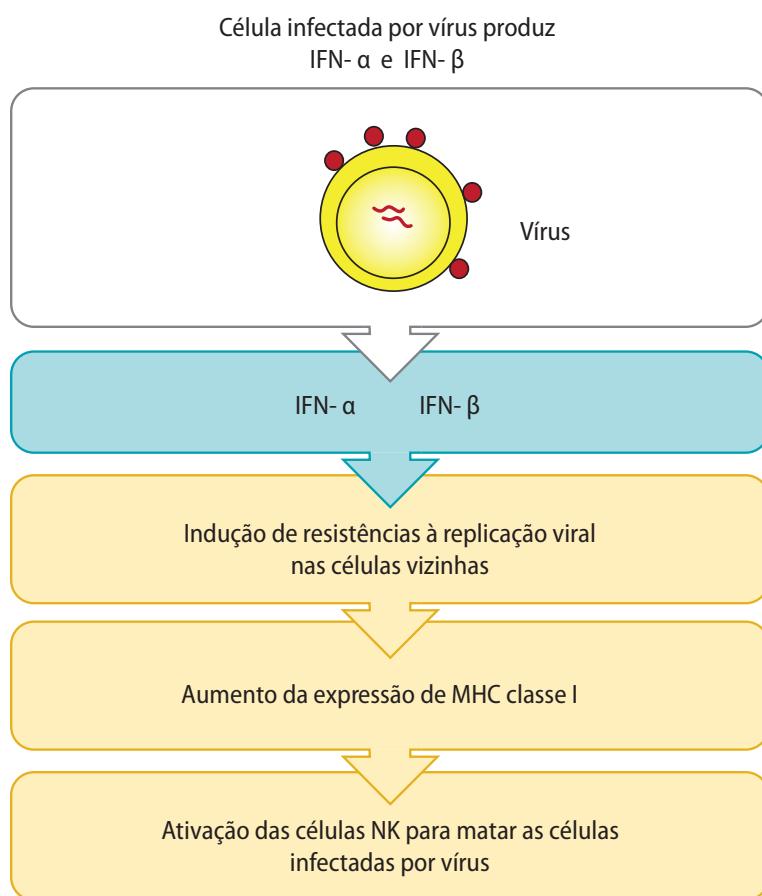


Figura 2.3 – Ação dos interferons do tipo I na imunidade inata.
(Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 95).

O ambiente do trato gastrointestinal também é hostil a vários micro-organismos, pois diversos fatores contribuem para a baixa sobrevivência das bactérias: enzimas hidrolíticas da saliva, enzimas hidrolíticas e bile no intestino delgado e baixo pH do estômago. Aliás, o baixo pH de outros locais do corpo, como vagina e pele, também contribuem para essa baixa sobrevivência.

2.4 Componentes celulares

Estima-se que a população total de linfócitos possa reconhecer mais de um bilhão de抗ígenos diferentes; todos os receptores da imunidade inata provavelmente reconhecem menos de mil padrões moleculares microbianos.

Uma vez que um micro-organismo tenha atravessado as várias barreiras fisiológicas e químicas, a próxima linha de defesa consiste em várias células especializadas cujo propósito é destruir o invasor. Esses componentes da imunidade inata são os **neutrófilos**, os **macrófagos**, os **eosinófilos**, os **mastócitos** e as **células NK**. No Capítulo 1, o papel dessas células já foi explicado, e em outros momentos voltaremos a falar nelas, pois participam ativamente da defesa de nosso organismo, seja na imunidade inata, seja na imunidade específica. Essas células também são extremamente importantes na inflamação, de que trataremos em seguida.

2.5 Inflamação

A inflamação é conhecida desde a Antiguidade. O primeiro a descrevê-la em seus constituintes fundamentais foi Aurélio Cornélio Celso, na Roma Antiga, cerca de 50 a.C. Já no século XIX, o patologista alemão Rudolf Virchow introduziu o conceito de perda funcional e estabeleceu as bases fisiopatológicas do processo inflamatório. A inflamação (do latim, *inflammatio*, que significa atear fogo) ou processo inflamatório é uma resposta do organismo a uma agressão sofrida e o principal componente dos mecanismos de defesa do organismo. Entende-se como agressão qualquer processo capaz de causar lesão celular ou tecidual. Essa resposta-padrão é comum a vários tipos de tecidos e é mediada por diversas substâncias produzidas pelas células danificadas e pelas células do sistema imune que se encontram eventualmente nas proximidades da lesão.

Dessa forma, uma importante função das células fagocíticas e da fagocitose é sua participação na inflamação. A maioria das células envolvidas na resposta inflamatória é constituída de células fagocíticas, consistindo principalmente, em sua maior parte, em leucócitos polimorfonucleares. Esses se acumulam dentro de 30 a 60 minutos, fagocitam o invasor ou o tecido prejudicado e liberam suas enzimas lisossomais na tentativa de destruir o invasor (Figura 2.4).

Se a causa da resposta inflamatória persistir além desse ponto, dentro de 56 horas a área será infiltrada por células mononucleares que incluem macrófagos e monócitos. Os macrófagos vão intensificar a atividade fagocítica dos polimorfonucleares, amplificando assim a defesa da área. Os sinais marcantes (conhecidos como sinais cardinais) da inflamação descritos há quase 2.000 anos são o **edema** (*tumor*), a **vermelhidão** (*rubor*), o **calor**, a **dor** e a **perda da função** da área inflamada. Dentro de minutos após o ferimento, o processo inflamatório inicia-se com a concentração e o aumento da concentração de substâncias farmacologicamente potentes (Figura 2.5).

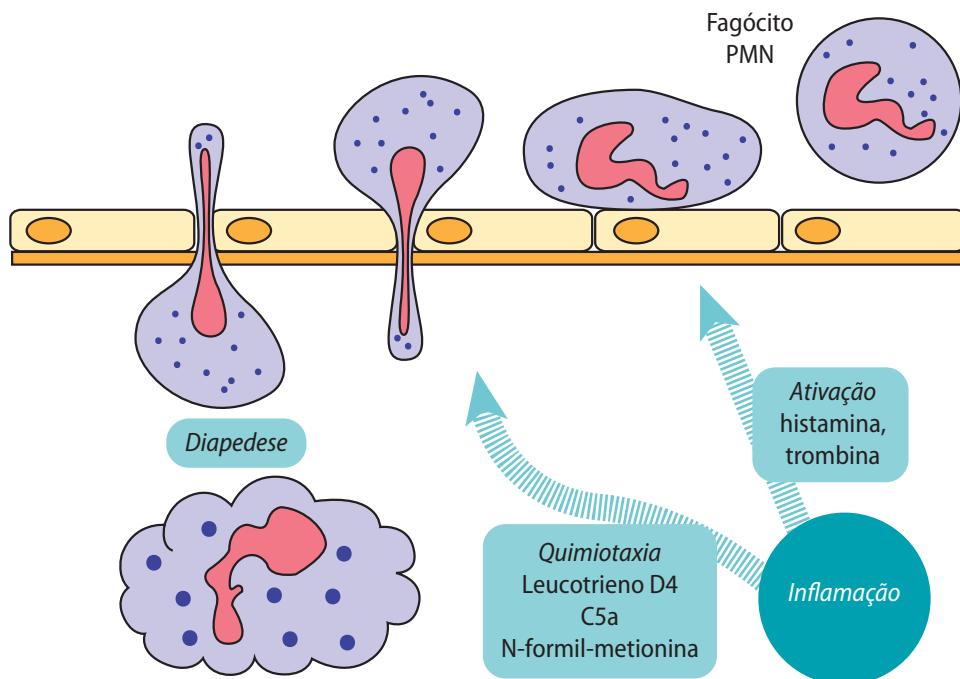


Figura 2.4 – Ativação, quimiotaxia e diapedese de neutrófilos para o sítio inflamatório.
(Adaptado de: MAYER, 2010).

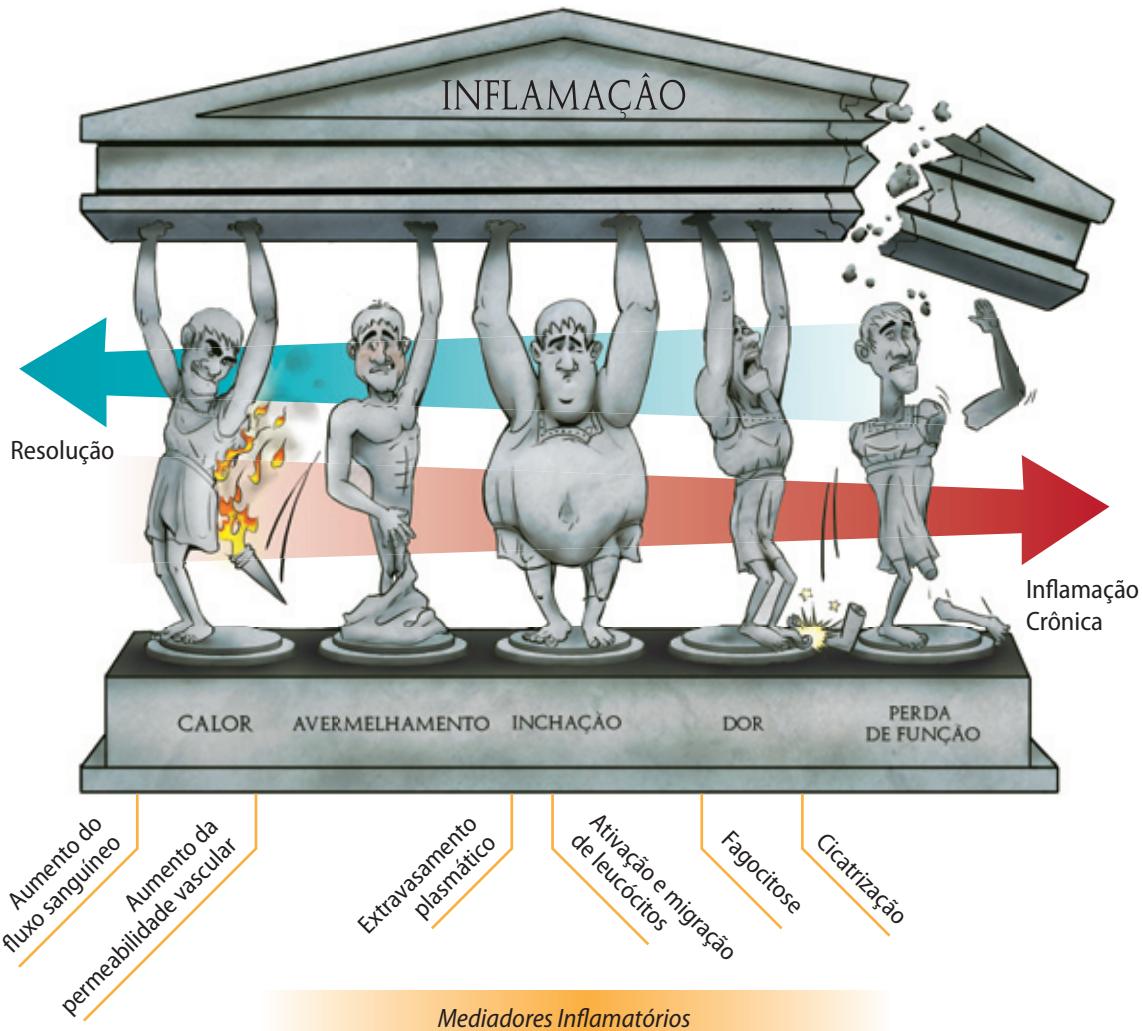


Figura 2.5 – Sinais cardinais da inflamação e suas consequências. (Adaptado de: <http://1.bp.blogspot.com/_8tS29hVtT-Q/STknUBSIgUI/AAAAAAAABJE/lk7rX5nkWto/s320/desenho+inflama%C3%A7%C3%A3o.jpg>)

Pode-se classificar a inflamação em dois tipos principais, conforme sua velocidade de instalação: a **aguda** e a **crônica**. Inflamação aguda é aquela que se instala rapidamente, como, por exemplo, após um acidente em que ocorre lesão tecidual de forma súbita. Algumas vezes, é difícil ou impossível remover as causas da inflamação. Assim, a inflamação crônica se instala de forma lenta e insidiosa, como, por exemplo, nas doenças reumatológicas, na tuberculose, na glomerulonefrite e em doenças autoimunes. Essa classificação não diz respeito à gravidade do processo, mas apenas, como já dito anteriormente, à **velocidade de instalação**. Desse forma, podem existir processos inflamatórios agudos de baixo

grau ou alto grau de gravidade, o mesmo ocorrendo com a inflamação crônica. Dependendo da duração da inflamação, essa resposta é suplementada e multiplicada por elementos da imunidade específica ou adquirida, que será tratada em capítulos subsequentes deste livro. Esses elementos incluem anticorpos e imunidade mediada por linfócitos T. Um ponto importante a ser destacado é que a cascata de ativação das **proteínas de complemento** também é ativada, e disso também trataremos em capítulos subsequentes. Essas proteínas ativadas aumentam a permeabilidade vascular, a dilatação capilar e as substâncias quimiotáticas que atraem e ativam células polimorfonucleares adicionais e linfócitos antígeno específicos.

Febre durante a inflamação: a febre funciona como um mecanismo adaptativo próprio dos seres vivos e é uma das manifestações mais comuns da infecção e da inflamação. As células fagocíticas, ao exercerem suas funções, liberam proteínas conhecidas como **pirógenos endógenos**. Dentre essas proteínas citamos as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6), o fator de necrose tumoral (TNF) e os interferons do tipo I. A sensação ruim que sente a pessoa febril faz com que ela poupe energia e descance. Além disso, o aumento da temperatura corpórea para além dos 37,5°C inibe a proliferação de bactérias.

Resumo

Neste capítulo aprendemos que a imunidade inata é a primeira linha de defesa conferida por aqueles elementos com os quais o indivíduo nasce e que estão sempre presentes e disponíveis no intuitivo de protegê-lo de invasores externos. Os elementos da imunidade inata incluem componentes internos e externos, como a pele, as membranas mucosas, os cabelos e pelos do corpo e os reflexos da tosse, o espirro, o fluxo urinário etc., que constituem barreiras físicas efetivas aos agentes do meio ambiente.

Inflamação aguda

Dura de 8 a 10 dias, não deixa sequelas e seus sintomas geralmente estão localizados onde predominam as células polimorfonucleares.

Inflamação crônica

Dura 2 semanas, pode gerar sequelas como cicatriz e perda de função, provém de uma inflamação aguda, dela participam macrófagos e linfócitos e deixa uma fibrose como cicatriz.

Influências químicas como pH e ácidos graxos secretados também constituem barreiras efetivas contra a invasão por vários micro-organismos. Além desses elementos, há ainda alguns fatores imunologicamente ativos, presentes nas secreções das mucosas, no sangue e no líquido cerebroespinal (*os humores*) e denominados fatores humorais. São importantes formas de defesa na imunidade inata. Dentre esses se destacam as *citocinas* produzidas por células que atuam na fagocitose e as *proteínas de complemento* e de *fase aguda* produzidas no fígado.

Vimos também o papel de enzimas proteolíticas (por exemplo, a lisozima presente nas lágrimas, na saliva e no suor que quebra paredes de bactérias) e dos *interferons do tipo I* (*IFN α* e *IFN β*) produzidos por células infectadas por vírus e que possuem o papel de inibir a replicação viral, aumentar a expressão de MHC de Classe I e ativar células NK. O termo “opsonização” foi introduzido neste capítulo e refere-se ao processo que facilita a fagocitose por fixar opsoninas (algumas proteínas produzidas durante as infecções) na superfície dos patógenos.

Novamente neste capítulo voltamos a falar de células como os **neutrófilos**, os **macrófagos**, os **eosinófilos**, os **mastócitos** e as **células NK**, de seu papel na defesa inata e também na inflamação. Vimos que a inflamação é uma resposta do organismo a uma agressão sofrida e o principal componente dos mecanismos de defesa do organismo. Ela é mediada por diversas substâncias produzidas pelas células danificadas e pelas células do sistema imune que se encontram eventualmente nas proximidades da lesão.

Aprendemos que os sinais marcantes (conhecidos como sinais cardinais) da inflamação descritos há quase 2.000 anos são o **edema** (*tumor*), o **vermelhidão** (*rubor*), o **calor**, a **dor** e a **perda da função** da área inflamada, podendo ser aguda ou crônica. Por fim, aprendemos que a febre durante a inflamação representa um mecanismo adaptativo dos seres vivos e ocorre porque as células fagocíticas, ao exercerem suas funções, liberam proteínas conhecidas como **pirógenos endógenos**. Dentre essas proteínas vimos o papel das interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6), do TNF e dos interferons do tipo I. Esse mecanismo de defesa faz com que o organismo poupe energia por exigir descanso, além de inibir a proliferação de bactérias.

Referências

BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 288.

DESENHO INFLAMAÇÃO. Disponível em: <http://1.bp.blogspot.com/_8tS29hVtT-Q/STknUBSlgUI/AAAAAAAABJE/Ik7rX5nkWto/s320/desenho+inflama%C3%A7%C3%A3o.jpg>. Acesso em: 10 mar. 2010.

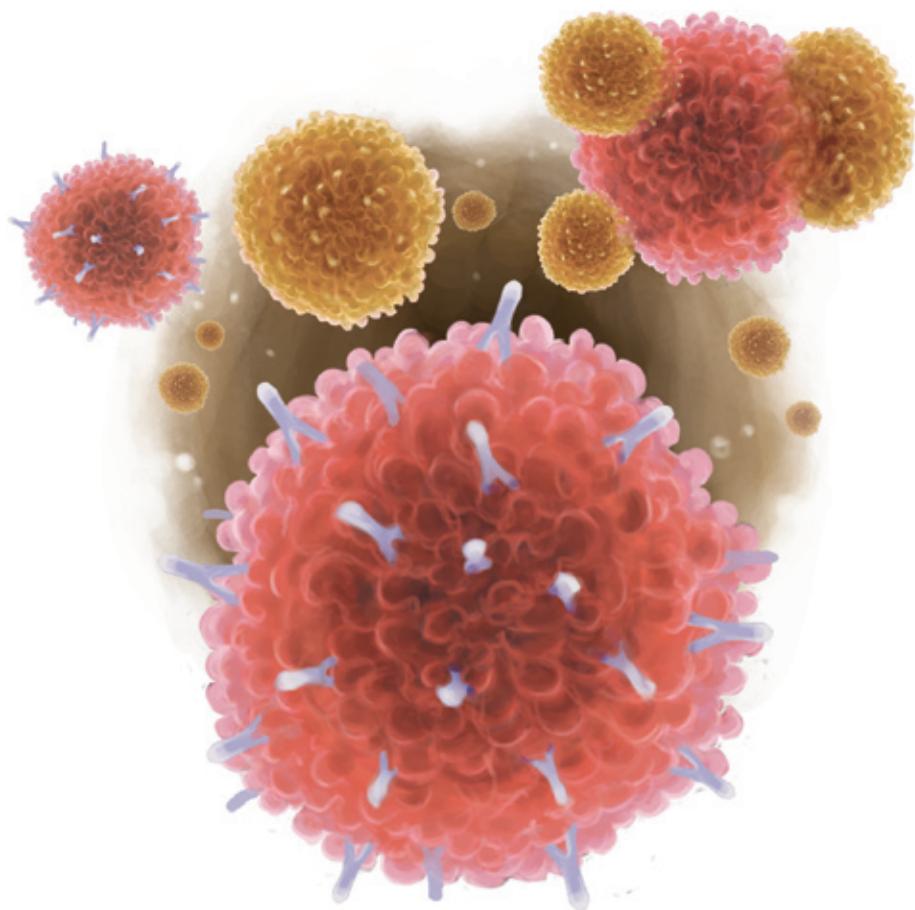
MALE, D.; BROSTOFF, J.; ROTH, D. B.; ROITT, I. *Immunology*. 7. ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier, 2006. p. 8.

MAYER, Gene. Imunidade inata. *University of South Carolina*. Disponível em: <<http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/immuno-port-chapter1.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2010.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Janeway's Immunobiology*. 7. ed. New York: Garland Science, 2008. p. 93 e 95.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. *Imunologia básica e clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 327.

CAPÍTULO 3



Linfócitos B, anticorpos e complemento

No presente capítulo compreenderemos que os termos “especificidade” (capacidade de distinguir cada um dos componentes de um agente estranho), “memória” (capacidade de “lembrar” um contacto prévio com um antígeno) e “discriminação entre o próprio e o não próprio” (capacidade de responder a抗ígenos “não próprios” e evitar respostas a抗ígenos que fazem parte do próprio organismo) farão parte da resposta imune mediada por linfócitos T e B. Neste capítulo aprenderemos que os linfócitos B são as únicas células capazes de produzir anticorpos. Conheceremos os passos dessas células até a sua diferenciação final. Saberemos que os anticorpos na superfície do linfócito B terão uma especificidade única para cada determinante抗ígenico antes do contacto com qualquer antígeno. Aprenderemos sobre a estrutura e a função de anticorpos. E, por fim, saberemos que os anticorpos sozinhos não vão proteger muito e que precisarão de outras proteínas presentes no nosso soro, as proteínas de complemento. Essas proteínas são tão importantes que, mesmo na imunidade inata (antes mesmo de termos anticorpos no soro para aquele agente invasor), já contaremos com essa defesa.

3.1 Introdução

Quando estudamos a imunidade inata, aprendemos que essa é a nossa primeira linha de defesa contra micro-organismos invasores e que também é conhecida como imunidade não específica. Nos Capítulos 3 e 4, abordaremos com mais detalhes o desenvolvimento dos linfócitos B e T, que são as células responsáveis pela resposta imune específica, e as proteínas associadas a essas respostas. As principais características dessa resposta imune que não está presente na imunidade inata são:

- a) **especificidade:** é a capacidade de distinguir cada um dos componentes de um agente estranho (que chamamos de antígenos) e de montar uma resposta específica para cada um deles (cada um dos componentes antigênicos de um antígeno é denominado “epítopo antigênico”);
- b) **memória:** é a capacidade de se “lembrar” de um contacto prévio com um determinado antígeno, de maneira que uma exposição subsequente leve a uma resposta imune mais potente e mais rápida; e
- c) **discriminação entre o próprio e o não próprio:** é a capacidade de responder àqueles antígenos que são “não próprios” (estranhos) e de evitar respostas (ficar tolerante) àqueles outros antígenos que fazem parte do “próprio”. Claro que esses mecanismos às vezes falham e por isso alguns indivíduos podem desenvolver doenças autoimunes por reconhecerem elementos

de seu próprio corpo como estranhos e montarem uma resposta imune contra eles.

Sendo assim, para reconhecer e lutar contra uma grande variedade de patógenos que um indivíduo possa encontrar, os linfócitos do sistema imune adaptativo desenvolveram-se para reconhecer uma imensa variedade de抗ígenos diferentes provenientes de bactérias, vírus, fungos, parasitas e outros agentes causadores de doenças. Algumas vezes esses linfócitos reconhecem até mesmo agentes inócuos como pó, pólen de flores, fezes de ácaros, entre outros agentes, e esses抗ígenos podem ser a causa de reações alérgicas importantes sobre os quais discutiremos mais tarde.

3.2 Linfócitos B

Os linfócitos B são um componente da resposta imune adquirida que possuem características de especificidade e memória. Os papéis mais importantes dos linfócitos B são:

1. assegurar a produção de anticorpos contra抗ígenos-alvo apropriados com a ajuda dos linfócitos T; e
2. apresentar抗ígenos aos linfócitos T e proporcionar sinais para a ativação dos linfócitos T.

Reforçando o aprendizado, as moléculas de reconhecimento de抗ígenos que ficam na superfície das células B são as *imunoglobulinas* ou Ig, ou popularmente conhecidas como *anticorpos*. Essas proteínas são também sintetizadas pelos linfócitos B com uma ampla variedade de especificidades antigenicas, sendo cada linfócito B responsável pela síntese de uma imunoglobulina de especificidade única para um único **epítopo** antigenico. Após reconhecerem o epítopo antigenico, essas células são ativadas e proliferam gerando muitos clones idênticos e produzindo Ig com a mesma especificidade para o mesmo epítopo antigenico inicial. Algumas dessas células se diferenciam num tipo celular denominado *plasmócito* que, em vez de conter a Ig em sua membrana, excreta essa proteína, conferindo o que chamamos de imunidade humoral, ou seja, uma imunidade que pode ser medida no soro dos indivíduos pelo anticorpo ali presente.

Epítopo

Entende-se por epítopo a menor parte de um抗ígeno capaz de estimular resposta imunológica ligando-se ao anticorpo. São áreas nas moléculas dos抗ígenos que se ligam aos receptores celulares e aos anticorpos. Um抗ígeno possui vários epítopos.

Processo de maturação e diferenciação

O processo de maturação e diferenciação dos linfócitos B é regido pela expressão da imunoglobulina de sua superfície. As células mais precoces da linhagem B são conhecidas como *células pró-B* por serem as *células progenitoras* com capacidade de autorrenovação limitada. Essas células são derivadas de um precursor pluripotente denominado célula-tronco hematopoietica, conforme já estudamos na seção 1.

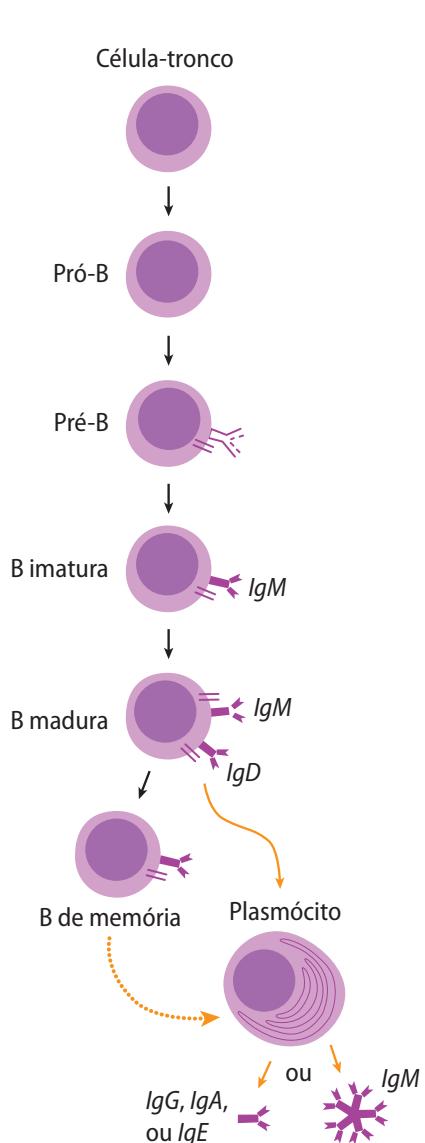


Figura 3.1 – Diferenciação dos linfócitos B dependente da expressão da molécula de imunoglobulina. (Adaptado de BENJAMINI et al., 2002, p. 80).

O primeiro passo da diferenciação dessas células ocorre por expressão de uma das cadeias da molécula de anticorpo denominada *cadeia pesada mi* (μ). Quando a célula B passa a expressar essa cadeia da imunoglobulina, é chamada de *célula pré-B*. A expressão dessa proteína pela célula pré-B sinaliza para que essa célula pare os rearranjos gênicos de cadeia pesada de Ig e passe a expressar cadeias leves. Quando uma proteína de cadeia pesada se unir a uma proteína de cadeia leve, forma-se uma molécula completa de imunoglobulina denominada *IgM* (o *M* vem da designação μ da cadeia pesada), cujas propriedades serão estudadas mais tarde. Quando uma molécula de IgM aparece na superfície da célula B, esta passa a ser denominada de *célula B imatura*.

Todo esse estágio de maturação ocorre no interior da medula óssea e é independente de estimulação por qualquer antígeno. Nesse estágio, as células imaturas estão sujeitas à seleção para a tolerância aos抗ígenos do próprio corpo e para a sua capacidade de sobreviver no sangue periférico. Somente células B com essa capacidade podem deixar a medula óssea e chegar ao sangue periférico.

Células que interagem com抗ígenos próprios (autorreativas) sofrem um processo denominado *deleção clonal* e entram em apoptose. Células que não interagem com autoantígenos passam a coexpressar também em sua superfície uma molécula de IgD (com cadeia pesada delta δ) juntamente com a molécula de IgM, passando a chamar-se *células B maduras*, também conhecidas como *células B virgens*. Assim, essas células podem permanecer em circulação ou alojadas em órgãos linfoides até que sejam estimuladas pela ligação a um抗ígeno (Figura 3.1).

A produção diária de $10\text{-}20 \times 10^6$ novas células B corresponde somente a 5-10% das células B que vão para o sangue periférico e os órgãos linfoides, ou seja, 90 a 95% dessas células morrem diariamente. Cinquenta por cento das células maduras que chegam ao sangue periférico sobrevivem aproximadamente três dias. O restante sobrevive um pouco mais de tempo, sem ser estimulado por抗ígenos, principalmente se adentrar nos folículos linfoides dos órgãos linfoides. Mas essas células só terão vida longa caso sejam estimuladas por抗ígenos. Os resultados importantes da ativação do linfócito B são a *expansão clonal*, com a geração de linfócitos B de memória e células plasmáticas (ou plasmócitos). Quando um linfócito B é ativado por um抗ígeno, a primeira resposta é a produção de IgM, começando a aparecer no sangue periférico do indivíduo após cinco a dez dias da estimulação (Figura 3.2).

Portanto, percebam que, após uma infecção, demoramos um tempo para detectar anticorpos no soro do indivíduo, a isso denominamos “janela imunológica”, ou seja, o indivíduo está com uma infecção, mas ainda não pode ser diagnosticado pelo teste sorológico (detecção de anticorpos no soro). Nessa fase o indivíduo pode estar infectando outros sem que saiba de sua doença. Em alguns casos, como, por exemplo, na infecção pelo vírus HIV, isso é muito sério e disso falaremos mais tarde no capítulo sobre o HIV. A duração da janela imunológica é variável e depende do抗ígeno em

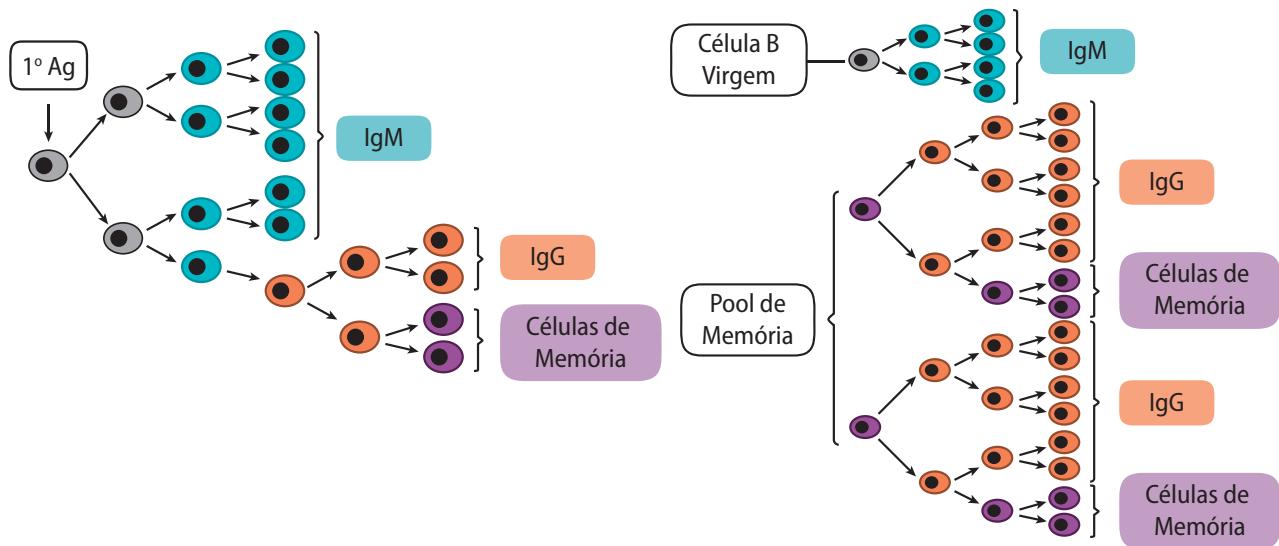


Figura 3.2 – Seleção e expansão clonal de linfócitos B após o contato com o抗ígeno, com geração de LB de memória. (Adaptado de MAYER, 2010).

questão. A primeira imunoglobulina detectada no soro de classe IgM é chamada de imunoglobulina de resposta imune primária, e, após alguns dias de seu aparecimento, a classe da imunoglobulina será alterada. Isso será discutido no capítulo em que discorreremos sobre as classes das imunoglobulinas e seu papel fisiológico.

O papel dos linfócitos B na proteção do hospedeiro pode ser exemplificado através de uma doença geneticamente rara conhecida como *agamaglobulinemia* ligada ao cromossomo X. Crianças portadoras dessa síndrome não possuem linfócitos B circulantes. Nenhum linfócito B significa nenhum anticorpo, e os pacientes sofrem de infecções recorrentes das vias aéreas superiores e inferiores, além de enterites e má absorção de nutrientes. A mortalidade se relaciona principalmente a doenças pulmonares crônicas e infecções virais do sistema nervoso central.

3.2 Estrutura e função dos anticorpos

Quando a fração do sangue constituída pelo soro (sangue coletado sem a presença de anticoagulante) ou pelo plasma (sangue coletado em presença de anticoagulante) é submetida a uma eletroforese simples e não desnaturante (separação de proteínas num campo elétrico), as proteínas ali presentes podem ser separadas de acordo com a carga positiva ou negativa dos aminoácidos que as constituem (Figura 3.3). Dentre as proteínas solúveis presentes no sangue destacam-se a albumina (a mais abundante) e as globulinas (divididas em frações Alfa, Beta e Gama globulinas). Dentre essas, a fração *gamaglobulina* do soro apresenta majoritariamente propriedades que contribuem especificamente para a imunidade e a proteção contra uma substância estranha. Podemos assim dizer que essas são glicoproteínas solúveis que apresentam capacidade de ligar抗ígenos. Por terem essa função, essas glicoproteínas são chamadas de *anticorpos* ou *imunoglobulinas* (*Ig*).

A partir de agora vamos usar os dois termos como sinônimos neste capítulo. Conforme já estudamos, as únicas células capazes de conter imunoglobulinas ligadas em sua membrana são os linfócitos B. Nessa fase a imunoglobulina presente na membrana da cé-

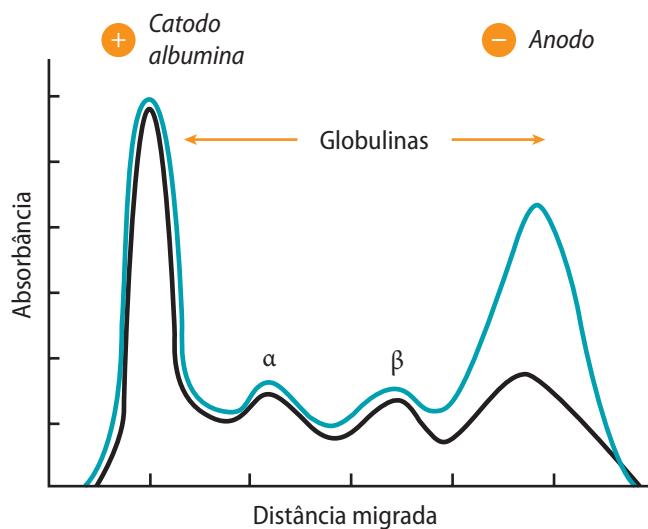


Figura 3.3 – Migração eletroforética das proteínas do soro.
(Adaptado de MAYER, 2010).

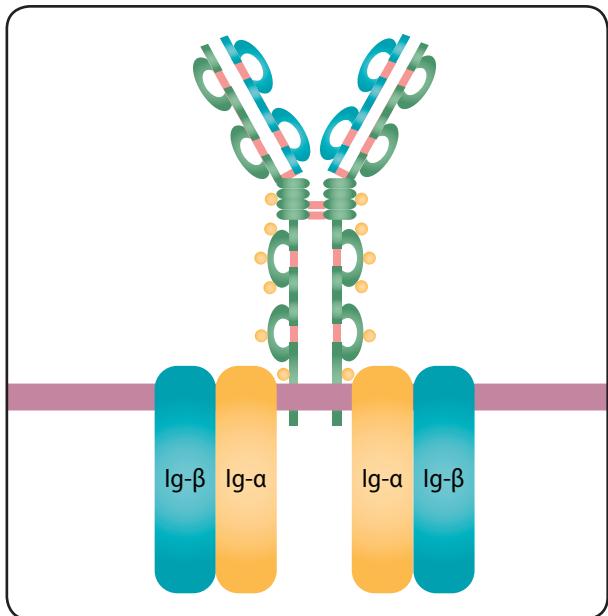


Figura 3.4 – Estrutura do BCR. (Adaptado de MAYER, 2010).

Célula B está associada com duas outras proteínas diméricas chamadas de Ig α /Ig β . Esse conjunto todo é que irá permitir ao antígeno a sua ligação específica na Ig e também a estimulação dessa célula B, anteriormente chamada de LB virgem. Esse conjunto é denominado *receptor de célula B* ou, conforme o termo em inglês, BCR (*B Cell Receptor*) (Figura 3.4). Já os anticorpos secretados no sangue são produzidos pelos plasmócitos, que na verdade são os linfócitos B em seu estágio final de diferenciação e que servem como verdadeiras fábricas de anticorpos.

3.2.1 Estrutura da molécula de imunoglobulina

Em 1959, tiveram início os estudos para determinar a estrutura-chave da molécula de imunoglobulina. Um dos experimentos envolveu a clivagem da molécula com enzimas proteolíticas. A enzima *papaína* cliva a molécula de imunoglobulina em três fragmentos aproximadamente iguais. Ao serem isolados, descobriu-se que dois desses fragmentos retinham a capacidade de se ligar ao antígeno de forma altamente específica. Eles foram então nomeados de *Fab* (*fragment antigen binding* ou fragmentos ligantes de抗ígenos). O terceiro fragmento era homogêneo e sua purificação

permitiu que fosse cristalizado em uma solução. Isso o levou a ser batizado como *Fc* (fragmento cristalizável). Embora esse fragmento não ligue antígenos, ele é o responsável pelas funções biológicas da imunoglobulina, como ligar em diversos tipos celulares. Outro experimento-chave para desvendar a estrutura da Ig foi feito por exaustivos tratamentos químicos com β -mercaptopoetanol, um agente capaz de reduzir pontes dissulfídicas das proteínas. Esse tratamento levou ao isolamento de todas as cadeias de imunoglobulinas, e concluiu-se que ela é composta de *duas cadeias idênticas de peso molecular de aproximadamente 53.000 dáltons cada uma* e outras *duas cadeias idênticas de 22.000 dáltons*. As cadeias maiores foram batizadas de “pesadas” (o termo é *Heavy* em inglês e a sigla, portanto, é *H*) e as cadeias menores, de “leves” (o termo é *Light* em inglês e a sigla, portanto, é *L*) (Figura 3.5). Dois pesquisadores, Porter, por descobrir as porções *Fab* e *Fc*, e Edelman, por descobrir as cadeias *H* e as cadeias *L*, dividiram o Prêmio Nobel por elucidarem a estrutura da molécula de Ig.

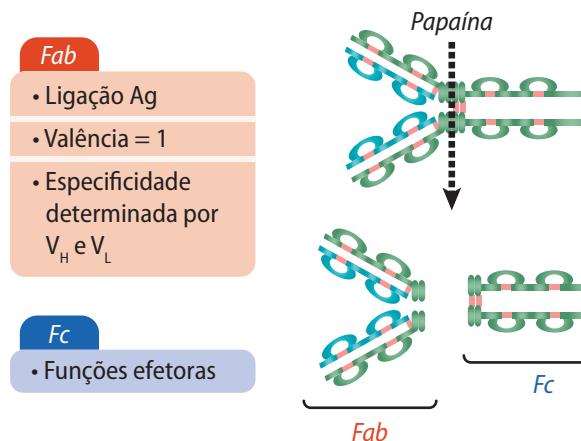


Figura 3.5 – Fragmentos da imunoglobulina: relação estrutura–função. (Adaptado de MAYER, 2010).

De acordo com o modelo proposto, todas as moléculas de Ig são constituídas por uma unidade básica (monômero) de quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias H idênticas e duas cadeias L idênticas, conectadas entre si por ligações bissulfídicas e contendo mais ou menos resíduos de carboidratos associados a elas. É importante ainda ressaltar que o monômero de Ig possui regiões denominadas de constantes (C) onde se concentram as propriedades biológicas da classe de Ig e são idênticas para todos os anticorpos

de uma mesma classe e de uma região variável (V), que será o sítio de ligação da Ig ao epítopo antigênico (Figura 3.6).

Através do uso combinado de técnicas bioquímicas e sorológicas foi demonstrado que, em quase todas as espécies de animais estudadas, são encontrados dois tipos de cadeias leves, conhecidos como *kappa* (κ) e *lambda* (λ). Cada indivíduo de uma espécie produz as duas classes de cadeias L, κ e λ , sendo encontrada num monômero de Ig a cadeia L κ (aproximadamente em dois terços dos casos) ou a cadeia λ (o terço restante), e nunca os dois tipos juntos. Com relação às cadeias H, foi demonstrado que em todas as espécies são encontradas cinco classes de imunoglobulinas diferentes. Essas cadeias H diferem umas das outras quanto à sua quantidade de carboidratos associados, ao peso molecular, ao número de ligações bissulfídicas e, principalmente, à função biológica da Ig. Essas cadeias são conhecidas pelas letras gregas *mi* (μ), *delta* (δ), *gama* (γ), *alfa* (α) e *epsilon* (ϵ). Elas são denominadas isotipos de imunoglobulinas, sendo, respectivamente, conhecidas como *IgM*, *IgD*, *IgG*, *IgA* e *IgE* (Figura 3.7). A natureza de cada um desses isotipos de Ig definida pela cadeia H vai conferir propriedades como meia-vida em circulação, habilidade para ativar outras proteínas e capacidade de se ligar em receptores em outras células após ligar-se com o antígeno. Com relação à IgG e à IgA, foram ainda definidas subclasses distintas com modificações estruturais e biológicas sutis entre elas. IgG é assim subdividida em IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, e as IgA, em IgA1 (93%) e IgA2 (7%).

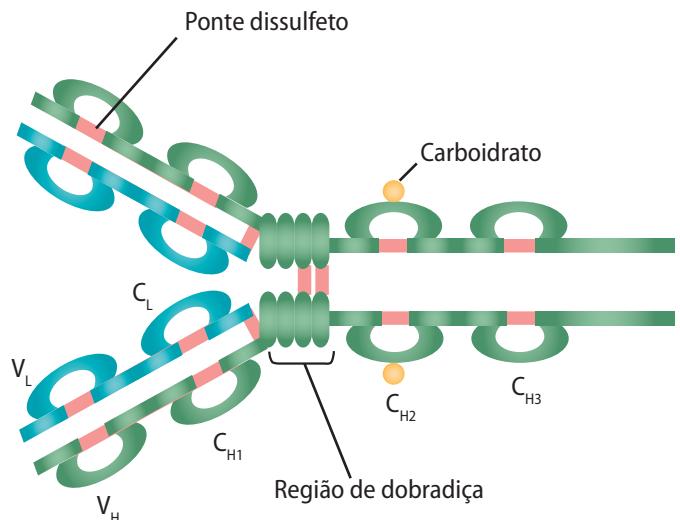


Figura 3.6 – Estrutura básica do monômero de imunoglobulina. (Adaptado de MAYER, 2010).

3.2.2 Importância da região variável da Ig

O grande desafio dos imunologistas era desvendar a pergunta de como a região variável podia gerar tantas especificidades individuais capazes de ligar uma variedade muito grande de epítopos antigênicos distintos. Seriam mais de 10^7 possibilidades distintas de regiões variáveis capazes de interagir virtualmente com qualquer antígeno com que o indivíduo viesse a entrar em contacto em sua vida.

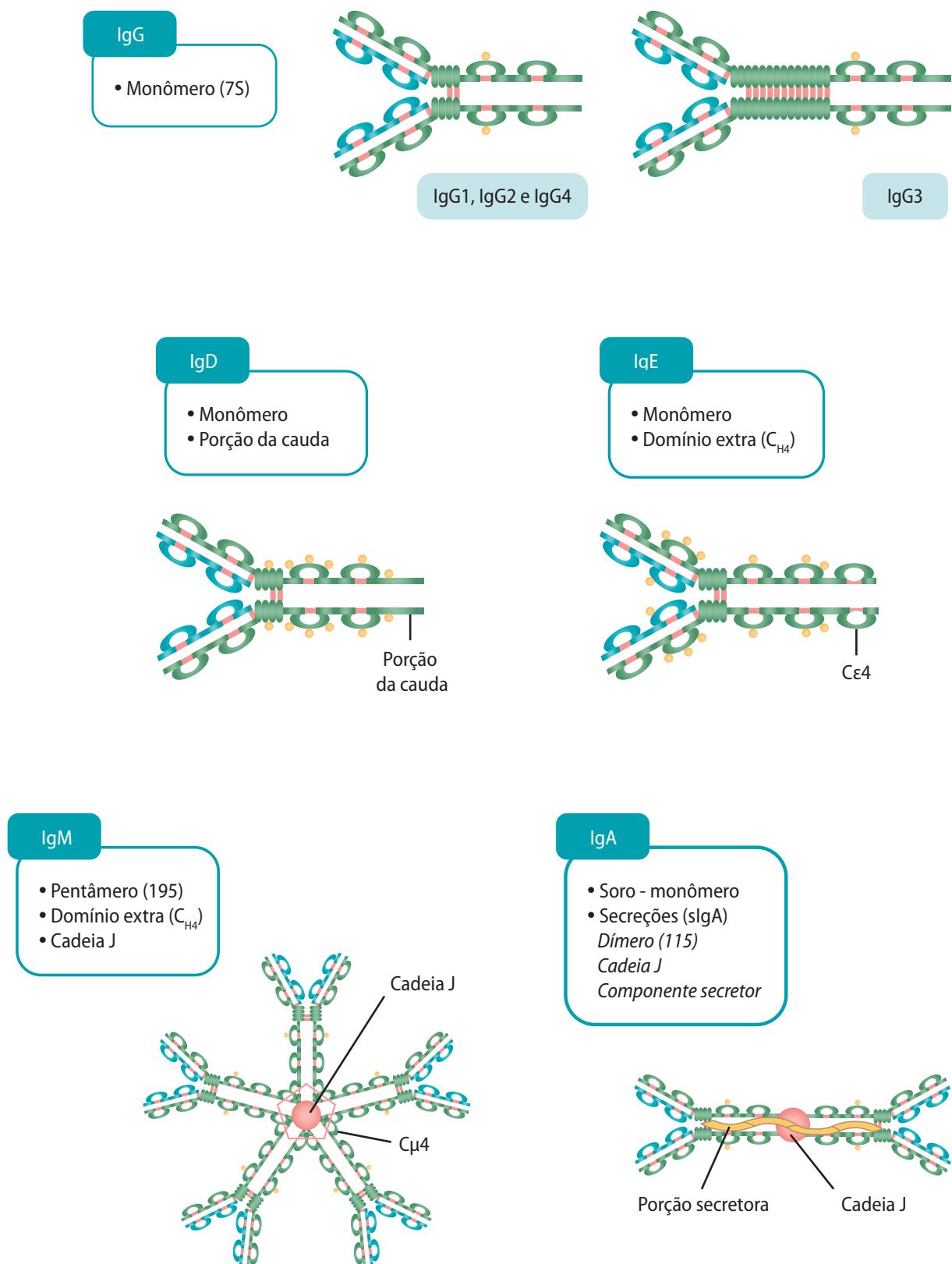


Figura 3.7 – Estrutura de todas as classes de imunoglobulinas. (Adaptado de MAYER, 2010).

3.3 Diversidade genética

De uma forma bem simplificada, a expressão dos genes que codificam a molécula de Ig é que é a responsável por essa enorme diversidade que permite a ligação dos mais distintos抗ígenos. Os genes que codificam para as porções constantes e variáveis das Ig's são constituídos por um complexo gênico dividido em porções (chamadas de segmentos ou fragmentos gênicos), que, quando corretamente agrupadas, originarão o gene final responsável pela transcrição do RNA mensageiro codificador da proteína final. Temos o grupo de segmentos gênicos que codificam para a região variável da molécula (chamados de V); genes que codificam a região constante (C); genes responsáveis pela parte da molécula que faz a junção dessas duas regiões (chamados de J); e ainda genes que fazem uma contribuição adicional à diversidade da molécula (chamados de D). Esses genes de cadeias leves κ e λ e genes de cadeias pesadas encontram-se ainda em cromossomos distintos dentro da espécie humana, sendo o cromossomo 2 para a cadeia κ, o cromossomo 22 para a cadeia λ e o cromossomo 14 para a cadeia pesada. Imaginem que, somente para a cadeia pesada, existem cerca de 250 a 1.000 segmentos gênicos V, aproximadamente 12 segmentos gênicos D e 4 segmentos J. Cada encontro de um segmento V, D, J e C forma uma cadeia pesada distinta. Assim, podemos fazer a conta aproximada de $1.000 \times 12 \times 4 = 48.000$, que, quando combinados com genes de cadeias leves κ e λ, chegam a 55 milhões de RNA transcritos que gerarão essa quantidade de moléculas de Ig distintas para cada抗ígeno (Figura 3.8).

3.4 Troca de classe de imunoglobulina

Conforme já estudamos, a IgM será a primeira Ig a aparecer na superfície do LB e a expressão dessa molécula, associada finalmente à coexpressão de IgD, fará parte do processo de maturação dessas células na medula óssea. Assim, todo e qualquer epítopo抗ígeno irá interagir inicialmente com uma IgM na superfície do LB maduro e virgem, por isso chamamos essa Ig de resposta imune primária. Quando essa interação acontece, dizemos que essa

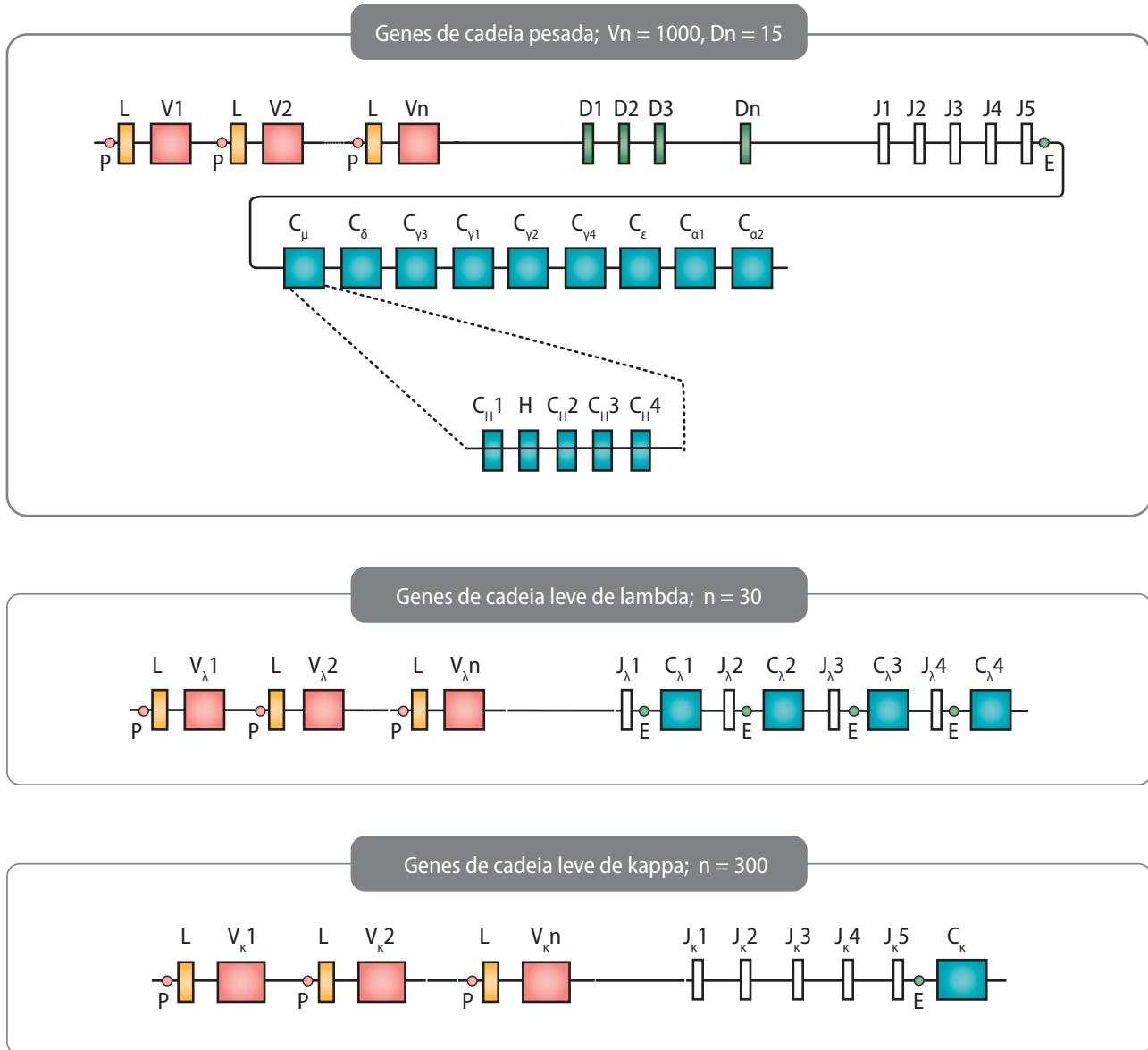


Figura 3.8 – Segmentos gênicos de cadeia pesada e cadeia leve das imunoglobulinas responsáveis pela diversidade genética dessas moléculas. As linhas que separam as caixas coloridas representam os íntrons que não são traduzidos em proteínas. (Adaptado de MAYER, 2010).

célula B deixa de ser virgem e passa a ser uma célula ativada. Uma das consequências dessa ativação é a mudança da classe de cadeia pesada expressa pelo linfócito B ativado. Isso vai fazer com que a célula B passe a expressar, alternativamente à IgM, as moléculas de IgG, IgA ou IgE durante a resposta imune secundária, sem que isso altere a especificidade da interação com o epítopo antigênico

que antes se ligava à IgM. Uma coisa interessante que ocorre é que os anticorpos da classe IgM produzidos após a interação primária com o antígeno tendem a ter uma baixa afinidade com o antígeno. Entretanto, a afinidade da IgG ou de outra classe de Ig de resposta imune secundária será muito maior, e a isso denominamos *maturação de afinidade*. A seguir vamos estudar as funções biológicas e um pouco mais das características estruturais de cada uma das classes de Ig.

3.4.1 Imunoglobulina M (IgM)

Conforme já explicado exaustivamente, a IgM é a primeira Ig a ser sintetizada pelo LB no seu processo de maturação. Quando presente na superfície dessa célula, é denominada sIgM ou IgM de superfície celular. Assim que começa a ser excretada pelo plasmócito, essa Ig passa a ser produzida como um pentâmero, composto de cinco monômeros idênticos de Ig. Isso significa que essa Ig possui dez sítios funcionais para ligar ao antígeno e é um potente ativador das proteínas de complemento, das quais falaremos mais tarde. Isso é uma vantagem fundamental da resposta imune primária. Níveis elevados de IgM no soro normalmente indicam uma infecção recente ou uma exposição recente ao antígeno. A IgM não consegue atravessar a placenta, mas é a única classe de imunoglobulina sintetizada pelo feto a partir do quinto mês de gestação. Níveis elevados de IgM no feto podem indicar a presença de uma infecção congênita no bebê em formação. Em consequência dessa estrutura pentamérica, que compensa a menor afinidade ao antígeno, as IgM são anticorpos com função aglutinadora muito eficiente, ou seja, formam pontes entre epítopos antigênicos, fazendo com que os抗ígenos se aglutinem e sejam mais facilmente fagocitados pelas células fagocíticas. Conforme estudado no capítulo de grupos sanguíneos, os anticorpos IgM incluem as chamadas isoemaglutininas naturais contra os抗ígenos das hemácias dos grupos sanguíneos ABO. Assim, reações de transfusão resultantes de incompatibilidade ABO podem ter consequências desastrosas quando os anticorpos presentes no receptor reagem com as hemácias recebidas do doador.

3.4.2 Imunoglobulina D (IgD)

Conforme já estudado, a IgD é coexpressa com a IgM na superfície dos linfócitos B maduros e sua presença serve como um marcador da diferenciação de células B maduras. Essa é a menos caracterizada das imunoglobulinas do ponto de vista funcional. Está presente no soro em concentrações muito baixas como consequência de não ser excretada pelos plasmócitos e de ser extremamente vulnerável à digestão por enzimas proteolíticas, sendo rapidamente degradada. Sua função parece estar mais relacionada com a eliminação de células B capazes de reagir com autoantígenos, ou seja, pode deixar as células B autorreativas anérgicas (sem reação), sendo essas posteriormente eliminadas.

3.4.3 Imunoglobulina G (IgG)

Esta é a imunoglobulina mais frequente e presente no sangue (constitui 15% das proteínas totais do plasma), na linfa e no líquido cerebroespinhal e peritoneal. As IgG₁, IgG₂ e IgG₄ apresentam a maior meia-vida no soro de todas as outras Igs (cerca de 23 dias). A IgG tem a propriedade de opsonizar patógenos de forma muito eficiente, tornando-os mais facilmente fagocitáveis. Muitas células fagocíticas (macrófagos e polimorfonucleares) possuem receptores para a porção Fc da IgG. Essas células aderem as bactérias revestidas de anticorpo IgG através de seus receptores Fc. Isso leva ao engolfamento e à morte do patógeno. As IgGs também ativam as proteínas do Sistema Complemento. Conforme será estudado, essas proteínas ativadas podem lisar ou opsonizar os patógenos, levando a uma alta eficiência de sua eliminação. As moléculas de IgG (com exceção do isotipo IgG₂) são a única classe de Ig capaz de atravessar a placenta, o que possibilita à mãe transferir sua imunidade ao feto, passando a ele uma resistência considerável a várias infecções. Somente três ou quatro meses após o nascimento, quando o nível de IgG materna começa a cair, o recém-nascido começa a produzir suas próprias moléculas de IgG. Conforme será abordado no capítulo 8 (Interação antígeno-anticorpo), a transferência de IgG materna de mães Rh negativo sensibilizadas com sangue Rh positivo para bebês Rh positivo pode levar a consequências desastrosas de anemia hemolítica ao bebê.

Outra característica importante das IgGs é a sua capacidade de neutralizar toxinas de bactérias (tétano, botulismo etc.), toxinas de venenos (cobras e escorpiões) e também vírus. Estando neutralizados, esses抗ígenos não podem entrar nas células-alvo e serem lesivos a elas, sendo assim inativados.

3.4.4 Imunoglobulina A (IgA)

Depois da IgG, a IgA é a segunda imunoglobulina mais abundante. É a principal imunoglobulina presente nas secreções externas como saliva, muco, urina, suor, suco gástrico, lágrimas, colostrum e leite materno. Sendo assim, a IgA é uma importante linha de defesa imunológica primária contra infecções locais em áreas como tratos respiratório e gastrointestinal, além de ser a principal fonte de proteção contra patógenos no intestino dos bebês. Em todos os tecidos secretórios, as IgAs apresentam forma dimérica, ou seja, duas unidades monoméricas de Ig unidas por uma cadeia J que faz a junção delas da mesma forma como faz para os pentâmeros de IgM. Essa constituição faz com que essa classe de Ig seja eficientemente transportada para a luz intestinal e bronquial e ainda confere a ela uma grande resistência à degradação por enzimas proteolíticas, muito frequentes nos ambientes de mucosa. Como a molécula de IgA não contém receptores para o complemento, ela não pertence às imunoglobulinas ativadoras de complemento. Entretanto, possui atividade bactericida contra micro-organismos Gram-negativos, além de inibir a penetração de vírus em células hospedeiras. Isso porque as IgAs impedem a adesão das bactérias ou toxinas às células epiteliais.

3.4.5 Imunoglobulina E (IgE)

A IgE é também conhecida como anticorpo reagínico e possui a meia-vida mais curta de todas as imunoglobulinas do soro (somente dois dias). Está presente no sangue e nos líquidos extracelulares em níveis extremamente baixos (na faixa de mg/ml), aumentando na resposta a infecções por parasitas e em indivíduos atópicos (com algum tipo de alergia). Esses níveis muito baixos nos líquidos corpóreos se devem a dois fatores: primeiro devido à

baixa taxa de síntese dessa classe de Ig e segundo porque a porção Fc da IgE tem afinidade de ligação extremamente alta em mastócitos e basófilos, podendo ficar retida por essas células por semanas ou meses, mesmo em ausência do antígeno. Quando o antígeno reaparece, sua ligação à porção Fab das IgEs já ligadas às células efetoras faz com que a ativação dessas células seja imediata. No caso dos mastócitos ativados pelo antígeno, irão liberar o conteúdo de seus grânulos citoplasmáticos constituídos de histamina, prostaglandina, heparina e leucotrienos. Isso desencadeia reações de hipersensibilidades agudas ou brandas ou mesmo choques anafiláticos, de que trataremos mais tarde. A IgE também pode se ligar com afinidade mais baixa em eosinófilos, e isso oferece proteção contra determinados parasitas (como vermes). Essa proteção se dá pela ativação de uma resposta inflamatória aguda. Níveis elevados de IgE podem ser observados no soro de indivíduos com infecções por Ascaris (lombrigas).

3.5 Ativação das proteínas do Sistema Complemento

Aprendemos neste capítulo que as IgG e as IgM são imunoglobulinas capazes de ativar as proteínas do Sistema Complemento e que essa ativação é muito importante na defesa do organismo. Mas, afinal, o que são essas proteínas presentes no nosso sangue, por que elas são chamadas de “complemento” e qual a sua real importância na nossa defesa?

Muito bem, isso foi desvendado no final do século XIX, quando os cientistas que estudavam a reação do corpo às infecções por bactérias observavam que, se as bactérias fossem injetadas na circulação de cobaias e o sangue dos animais fosse retirado posteriormente, essas bactérias desapareciam da circulação. O mesmo experimento foi feito in vitro quando descobriram que o soro de animais que tinham sido infectados com um micro-organismo podia, a seguir, aglutinar (ou seja, agregar) e, após, lisar as mesmas bactérias em um tubo de ensaio. Essa lise era inibida pelo aquecimento do soro a 56°C por 30 minutos, o que comprovava a sua

fragilidade. Isso não era devido ao decaimento ou à inativação dos anticorpos presentes nesse soro, já que eles eram estáveis ao aquecimento. Essa atividade era restabelecida quando se adicionava soro fresco de animais não imunizados, o que comprovava que elas não eram específicas para um determinado antígeno. Concluiu-se, então, que deveriam existir no soro componentes termossensíveis que “complementariam” a função lítica desse soro. Por essa razão, esses componentes foram designados *complemento*. Hoje já se sabe que o complemento não é uma única proteína, mas sim um sistema de proteínas funcionalmente ligadas que interagem umas com as outras de uma forma altamente regulada. Essas proteínas são enzimas proteolíticas inativas (zimógenos) que se tornam sequencialmente ativadas a partir do momento em que são clivadas. A ativação só ocorre em sítios localizados e é finamente regulada por várias proteínas associadas às membranas celulares, que inibem a sua ativação em múltiplos passos. Esse sistema está composto de aproximadamente 30 proteínas sintetizadas no fígado e de macrófagos e tem início de síntese no primeiro trimestre da vida fetal. Há três maneiras para ocorrer ativação (Figura 3.9):

- via clássica, depende de formação do complexo antígeno–anticorpo;
- via alternativa; e
- via das lectinas.

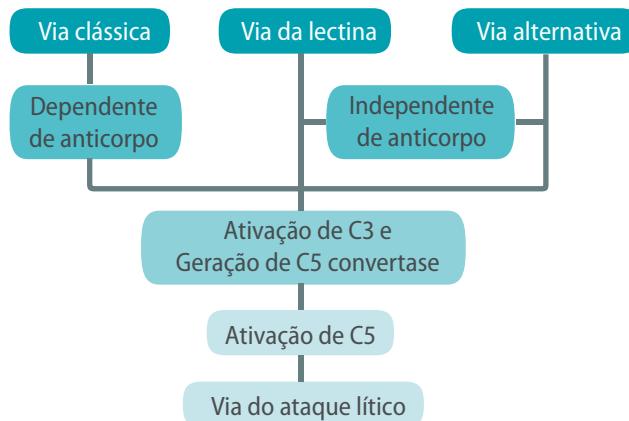


Figura 3.9 – Vias de ativação das proteínas de complemento.
(Adaptado de MAYER, 2010).

As funções gerais dessas proteínas são:

- a) **citólise:** através do Complexo de Ataque à Membrana (“MAC”) formam-se poros na membrana do antígeno-alvo, rompendo a integridade da bicamada lipídica da membrana plasmática;
- b) **opsonização:** através de C3b, opsonização de micro-organismos estranhos ou mesmo de partículas. Os leucócitos fagocíticos possuem receptores específicos para essas opsoninas;
- c) **ativação de mediadores de inflamação:** componentes C4a, C3a e C5a são mediadores de processos inflamatórios, ativam mastócitos e aumentam a permeabilidade vascular. Os receptores para C3a e C4a estão expressos na superfície dos mastócitos, dos basófilos, das células da musculatura lisa e dos linfócitos. Os receptores para C5a estão localizados na superfície dos mastócitos, dos neutrófilos, dos monócitos/macrófagos e das células endoteliais. Os principais efeitos provocados pela ligação das anafilatoxinas na superfície dos mastócitos e dos basófilos são a exocitose de grânulos tais como histamina, que aumenta a permeabilidade vascular e estimula a contração da musculatura lisa visceral e da musculatura lisa em geral. C5a é o mais potente mediador desses efeitos, C3a é 20 vezes menos potente e C4a é 2.500 vezes menos potente. C5a também age estimulando a liberação de TNF, atua diretamente no endotélio das células vasculares incentivando a contração, causa extravasamento e exocitose vascular e estimula neutrófilos promovendo a quimiotaxia, contribuindo para aumentar a resposta inflamatória provocada pela ativação do complemento; e
- d) **limpeza de imunocomplexos:** os imunocomplexos opsonizados encontram receptores na superfície dos eritrócitos que podem carreá-los ao baço e fígado para fagocitose. Quando presentes na circulação, os imunocomplexos podem se acumular em pequenos vasos e danificar os tecidos por mediarem a liberação de enzimas proteolíticas pelos macrófagos ativados por esses complexos.

3.5.1 Via clássica

Essa forma de ativação em cascata é ativada pela interação entre o antígeno e o anticorpo (que fique claro que tem que ser IgG ou IgM), formando o complexo antígeno–anticorpo. Esse complexo provoca uma mudança conformacional na molécula do anticorpo, que, por sua vez, permite a ligação do primeiro componente do complemento denominado C1 (composto de três subunidades C1q-C1r2-C1s2). Essa ligação requer pelo menos uma molécula de IgM ligada ao antígeno ou no mínimo duas moléculas de IgG. Entre as imunoglobulinas humanas, a ordem crescente de ligar-se e ativar C1 é IgM>IgG3>IgG1>IgG2, ou seja, IgG2, IgA, IgE e IgD não se ligam ou ativam C1. Uma vez ativada, a enzima C1s atua sobre dois componentes seguintes dessa cascata: C4 (clivado em C4a e C4b) e C2 (clivado em C2a e C2b). Quando os dois fragmentos de maior tamanho (C4b e C2b) se unem na superfície do antígeno, forma-se o complexo C4b2b, que é chamado de complexo C3-convertase da via clássica (Figura 3.10).

Sua atividade mais importante é clivar um grande número de moléculas de C3 em C3b e C3a. Essas moléculas de C3b recobrem (opsonizam) a superfície do patógeno (antígeno), ao mesmo tempo que os componentes C4a e C3a (principalmente) iniciam uma resposta inflamatória local. Nesse ponto, o patógeno revestido de C3b pode ser fagocitado pelas células fagocíticas que reconhecem C3b por terem receptores para ele em sua superfície (desses, o receptor CR1 é o mais bem caracterizado). Caso a fagocitose não seja completa ou totalmente eficiente, o próximo passo na cascata é a produção de C5-convertase formada pela junção de C3b, C4b e C2b (C3b4b2b) na superfície do patógeno. Isso provoca a clivagem do componente C5, marcando o início da montagem dos componentes terminais para formar o Complexo de Ataque à Membrana do patógeno. C5 é clivado nos componentes C5a (outro componente inflamatório importante) e C5b, este iniciando a montagem do último componente do complemento e sua inserção na membrana do patógeno (Figura 3.11).

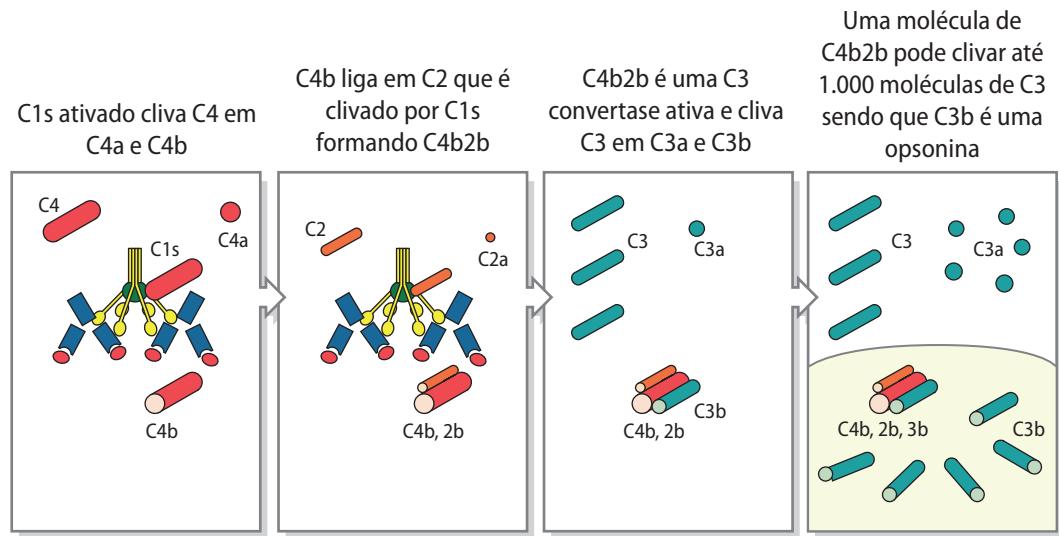


Figura 3.10 – Ativação das proteínas de complemento até a formação de C5-convertase e opsoninas de C3b. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 66).

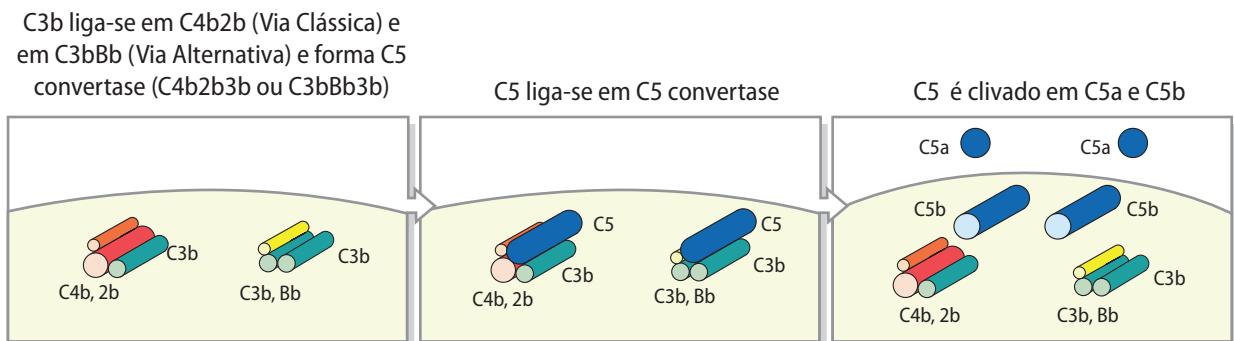


Figura 3.11 – Ativação do Sistema Complemento pelas vias clássica e alternativa até a formação de C5a e C5b. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 73).

Primeiro, uma molécula de C5b liga-se a uma de C6, formando C5C6. Essa ligação ativará o componente C7, que irá se inserir na bicamada lipídica do patógeno e, ao mesmo tempo, permitir a exposição de sítios hidrofóbicos de C8 e C9. C9 na verdade irá polimerizar-se através da união de 10 a 16 moléculas de C9, formando um poro na membrana e permitindo a passagem livre de solutos e água através da bicamada lipídica (Figura 3.12). Essa ruptura da bicamada leva à perda da homeostase celular, à penetração de enzimas hidrolíticas e à morte do patógeno.

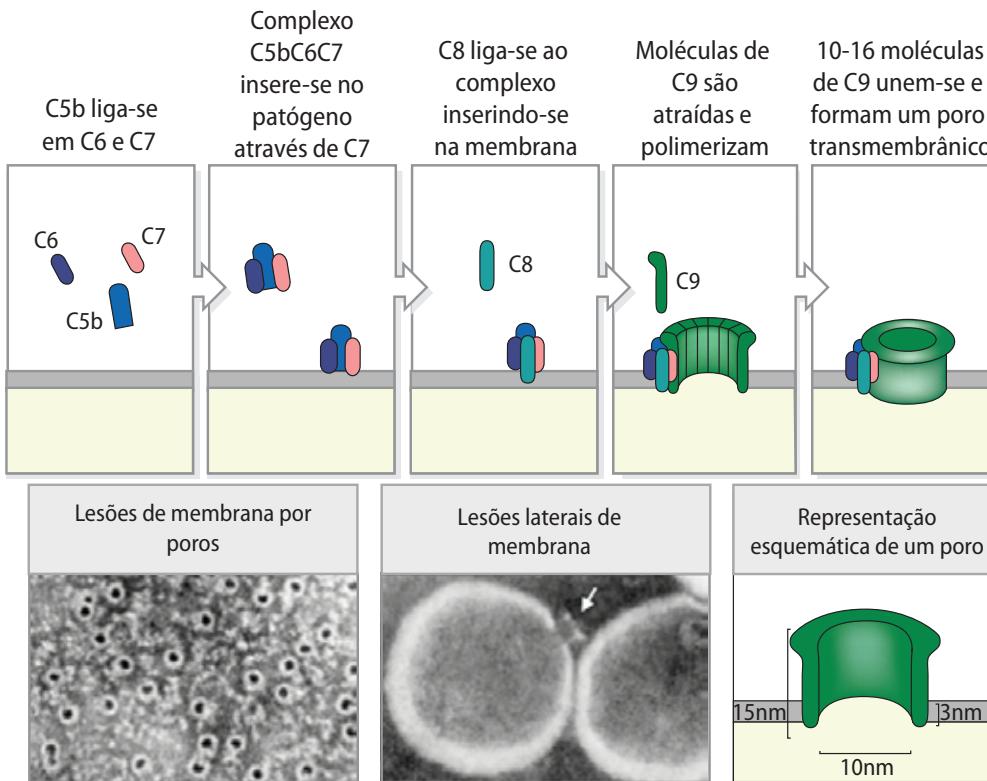


Figura 3.12 – Formação do Complexo de Ataque à Membrana (“MAC”).
 (Adaptado de: MURPHY et al., 2008, p. 77).

É importante dizer que, dos três componentes (C4a, C3a e C5a) que provocam reações inflamatórias, o componente C5a é o mais estável e o que possui a maior atividade biológica. Esses componentes induzem contração de musculatura lisa, aumentam a permeabilidade vascular e ativam mastócitos, por isso eles são chamados de anafilatoxinas do Sistema Complemento, já que sua injeção sistêmica pode conduzir ao choque anafilático.

3.5.2 Via das lectinas

Esta via de ativação é considerada similar à via clássica, mas não necessita da formação do complexo antígeno–anticorpo e nem dos componentes iniciais C1, C4 e C2. Dessa via participam as lectinas do soro, que são ligantes de resíduos de manose da superfície de alguns patógenos. Essas são chamadas de MBL (*Manose Binding Proteins*), que se ligam aos resíduos de carboidratos na superfície da bactéria ou outra substância e passam por uma mudança conformacional. Desses proteínas, as chamadas MASP1

e MASP2 (*Manose Binding Associated Proteins*) tornam-se ativas e clivam C4 e C2 (ou seja, mimetizam C1r e C1s) para formar C4b2b. A partir dessa formação do complexo C3-convertase, essa via se comporta de forma idêntica à via clássica.

3.5.3 Via alternativa

Conforme já comentado, o componente C3 é bastante abundante no soro e, durante algumas infecções, pode ocorrer uma hidrólise espontânea desse componente, gerando C3(H₂O). Essa conformação alterada de C3 permite sua ligação a um componente do soro denominado Fator B. A união do fator B ao C3(H₂O) permite que uma protease plasmática denominada fator D clive o fator B, gerando Ba e Bb. Forma-se um complexo C3(H₂O) Bb que é uma C3-convertase solúvel (não ligada à superfície do patógeno), mas que é capaz de gerar a clivagem de muitas moléculas de C3, levando à formação de muitas moléculas de C3b e C3a. Muitas moléculas de C3b geradas são rapidamente clivadas, mas outras permanecem ligadas ao patógeno, unem fator B e formam C3bBb, que é uma C3-convertase ativa que cliva C3, gera muitas moléculas de C3b e C3a e, portanto, um *feedback* positivo de formação dessas opsoninas (C3b) e anafilatoxinas (C3a). Quando se forma o complexo C3bBb3b na superfície do patógeno, ele é denominado C5-convertase da via alternativa. Isso vai levar à clivagem de C5 em C5a e C5b e à posterior formação de MAC, com lise do patógeno, como nas outras vias de ativação (Figura 3.13).

3.5.4 Deficiências do complemento

As deficiências das proteínas de complemento podem ser genéticas, mas mesmo indivíduos normais também podem ter alguma deficiência.

- As deficiências genéticas podem ser em nível de C1q, C1r, C4, C2, C3, properdina e Fator D. A deficiência de C3 pode ser muito grave e estar associada com infecções bacterianas pio-gênicas que podem ser fatais. As deficiências dos primeiros componentes do complemento podem estar associadas com doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico – SLE

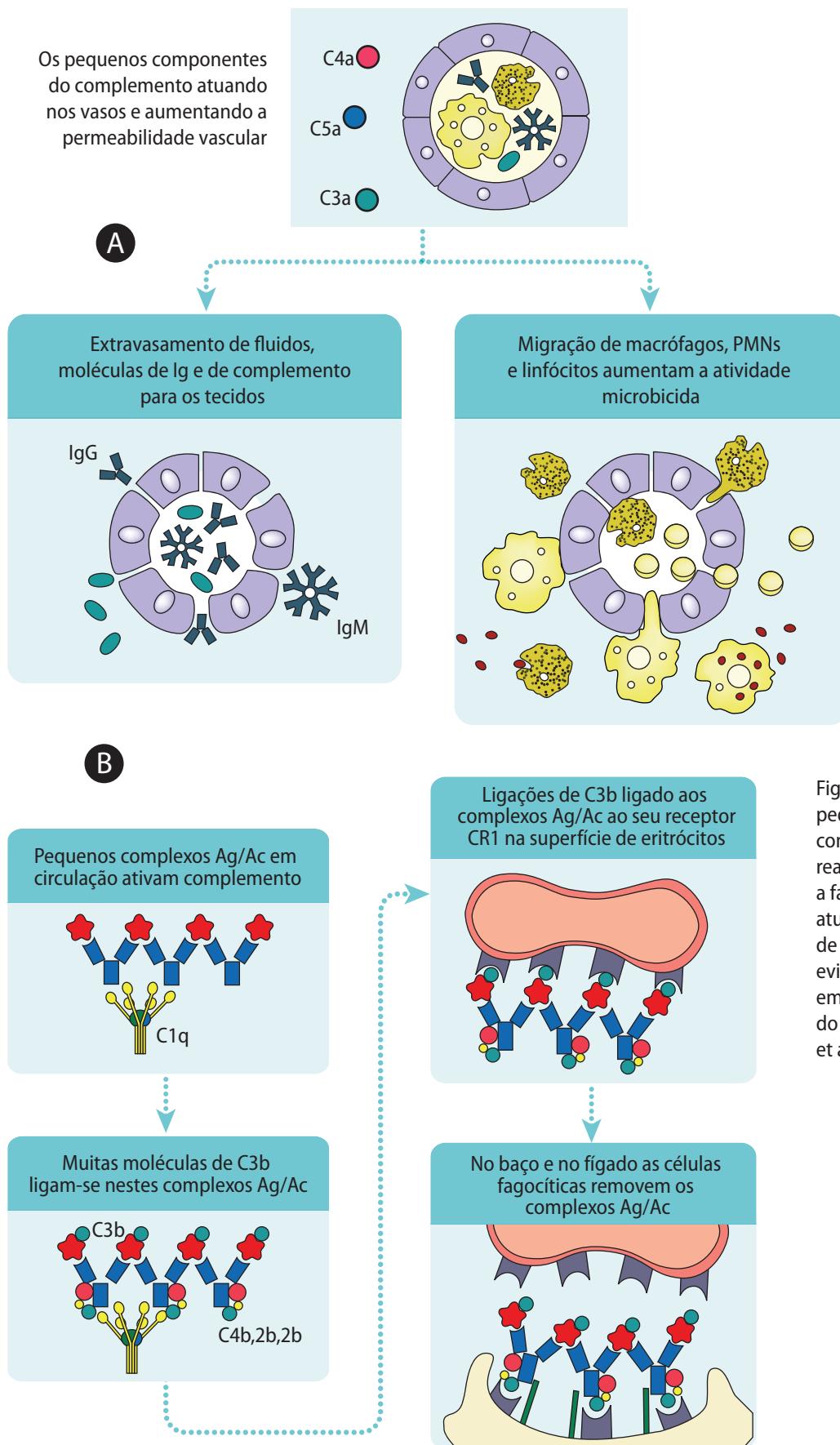


Figura 3.13 – (A) Função dos pequenos componentes do complemento em promover reações inflamatórias e aumentar a fagocitose. (B) Função de C3b atuando também na limpeza de pequenos imunocomplexos, evitando que eles se depositem em pequenos vasos e outros locais do corpo. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 76 e 409).

(mais de 50% dos pacientes com deficiência em C2 e C4 são portadores de SLE).

- As deficiências em nível de C5, C6, C7, C8 e C9 também foram descritas. Esses pacientes não podem formar MAC e, consequentemente, não lisam micro-organismos invasores.

3.5.5 Regulação da cascata de ativação do complemento

As células dos mamíferos, em condições normais, expressam proteínas reguladoras que inibem a ativação do complemento. Desses proteínas destacam-se o Fator H, que desloca o Bb impedindo a formação de muitos C3-convertases; o Fator I, que cliva C3b gerado; e o fator de aceleração do decaimento (DAF), que compete com o fator B pela união ao C3b, deslocando também o Bb de uma C3-convertase que acabou de se formar. Tudo isso ocorre para impedir uma lesão das células do hospedeiro mediada pelo complemento.

Resumo

Dentre os papéis dos LB aprendemos que o principal deles é o de produzir anticorpos contra antígenos-alvo apropriados. Mas essas células também podem apresentar antígenos aos linfócitos T e proporcionar sinais para a sua ativação. Sendo assim, as moléculas de reconhecimento de antígenos que ficam na superfície das células B são as *imunoglobulinas* ou *Ig*, popularmente conhecidas como *anticorpos*. Os estágios de diferenciação dessas células, que no início são células-tronco, depois passam a progenitores linfoïdes, depois a células pró-B, pré-B, imaturas e maduras, têm uma íntima relação com a imunoglobulina que será expressa em sua superfície. Células B não estimuladas por antígenos serão mortas rapidamente, e os resultados importantes da ativação do linfócito B são a *expansão clonal*, com a geração de linfócitos B de *memória* (células de vida longa), e as *células plasmáticas* (ou plasmócitos), secretoras de anticorpos. Com relação à estrutura das moléculas de imunoglobulinas, aprendemos que todas as moléculas de Ig são constituídas por uma unidade básica (monômero) de quatro ca-

deias polipeptídicas, *duas cadeias H idênticas e duas cadeias L idênticas*, conectadas entre si por ligações bissulfídicas e contendo mais ou menos resíduos de carboidratos associados a essas cadeias. Dois tipos de cadeias leves (*kappa-κ* e *lambda-λ*) são conhecidos, mas o que determina a presença de cinco classes diferentes de imunoglobulinas são as cadeias pesadas. Essas cadeias são conhecidas pelas letras gregas *mi* (μ), *delta* (δ), *gama* (γ), *alfa* (α) e *épsilon* (ε). Elas são denominadas isotipos de imunoglobulinas, sendo, respectivamente, conhecidas como *IgM*, *IgD*, *IgG*, *IgA* e *IgE*. A natureza de cada um desses isotipos de Ig definido pela cadeia H vai conferir propriedades como meia-vida em circulação, habilidade de ativar outras proteínas e capacidade de se ligar com receptores em outras células após se ligar com o antígeno. Dessa imunoglobulinas, as IgG e as IgM são aquelas capazes de ativar as proteínas do Sistema Complemento, e essa ativação é muito importante na defesa do organismo. As principais funções dessas proteínas são *citólise*, através do Complexo de Ataque à Membrana ('MAC') formam-se poros na membrana do antígeno-alvo, rompendo a integridade da bicamada lipídica da membrana plasmática; *opsonização*, através de C3b ocorre a opsonização de micro-organismos estranhos ou mesmo de partículas; *ativação de mediadores de inflamação*, componentes C4a, C3a e C5a são mediadores de processos inflamatórios, ativam mastócitos e aumentam a permeabilidade vascular; e *limpeza de imunocomplexos*: os imunocomplexos opsonizados encontram receptores na superfície dos eritrócitos que podem carreá-los ao baço e fígado para fagocitose.

Referências

BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. 4. ed.
Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 80.

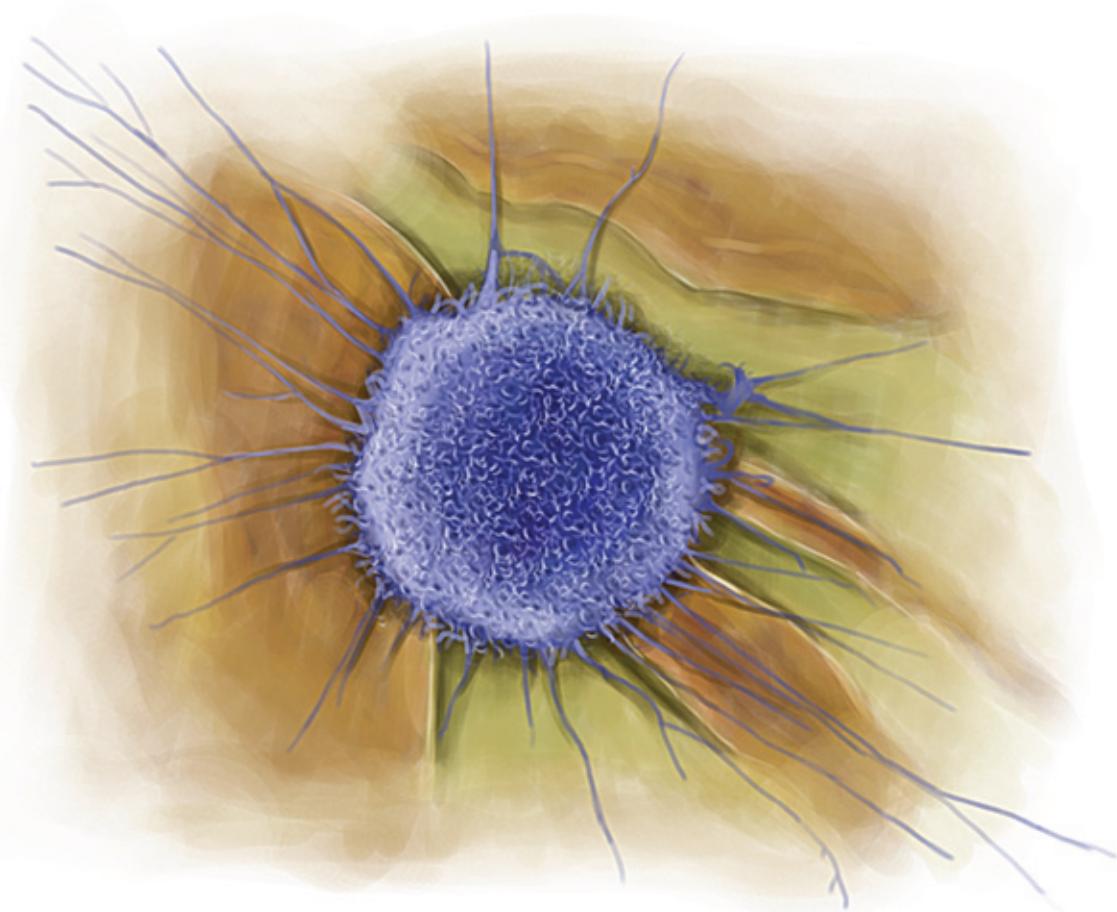
JANEWAY, C. et al. *Imunobiologia*: o sistema imune na saúde e na doença. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MAYER, Gene. Imunoglobulinas – estrutura e função. *University of South Carolina*. Disponível em: <<http://pathmicro.med.sc.edu/Portuguese/immuno-port-chapter4.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2010.

MURPHY, Kenneth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark.
Janeway's immunobiology. 7. ed. Garland Science, 2008. p. 66;
73; 76; 77 e 409.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. *Imunologia básica e clínica*.
Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

CAPÍTULO 4



Linfócitos T, citocinas e MHC

Neste capítulo conheceremos a biologia dos linfócitos T. Essas células são essenciais na eliminação de uma série de micro-organismos que invadem o nosso organismo, conferindo um tipo de imunidade que é conhecido como resposta imune mediada por células ou imunidade celular. Para que vocês possam compreender como os agentes infecciosos são eliminados pela ativação desse tipo de resposta, torna-se imprescindível o conhecimento sobre os principais estágios do desenvolvimento celular, as propriedades funcionais, assim como o preponderante envolvimento do Complexo Principal de Histocompatibilidade e das citocinas.

4.1 Introdução

Os linfócitos T são células que atuam na resposta imune específica e são responsáveis por uma imunidade denominada “celular ou mediada por células”, isso porque há um significativo envolvimento de diferentes subpopulações de linfócitos T, diferentemente, portanto, da imunidade humoral (ou mediada por anticorpos), em que na fase efetora se observa a participação de moléculas de anticorpos.

Os linfócitos T, devido às suas propriedades estruturais, funcionais e consequente capacidade de interação-regulação com as demais células do sistema imune, conferem aos organismos distintos mecanismos imunes que podem contribuir eficazmente com a eliminação de patógenos que se utilizam da maquinaria intracelular dos organismos hospedeiros.

Contudo, para que possamos entender como essas células atuam e interagem no sistema imune, é preciso conhecer, inicialmente, a biologia dessas células.

Vamos, então, compreender o processo de maturação dessas células.

No timo, os linfócitos T, ainda imaturos, passam por um processo complexo denominado de educação celular ou seleção tímica. Essa seleção tímica envolve diferentes etapas, conhecidas como seleção positiva e negativa.

- O que acontece com as células durante a seleção positiva e negativa no timo e qual a importância desse processo no desenvolvimento celular?

- Ao adentrar no timo, na zona subcapsular desse órgão, as células progenitoras apresentam um fenótipo triplo negativo. O que isso quer dizer?

Isso significa que essas células não expressam moléculas de superfície celular, ou seja, CD3/TCR, CD4 ou CD8. Essas estruturas, como vocês estudarão detalhadamente adiante, são elementos de superfície celular e fundamentais para o funcionamento delas.

Vamos prosseguir com esse entendimento:

- em contato com o estroma tímico (células epiteliais), observa-se nas células triplas negativas o rearranjo dos genes α/β ou γ/δ do **TCR** (TCR, do inglês, T Cell Receptor, que significa “receptor da célula T”), assim como também a sua diferenciação em células duplas positivas ($CD4^+CD8^+$).

Nessa etapa, cabe destacar a possibilidade da geração de duas populações de células T, uma que expressa o receptor para o antígeno γ/δ e outra que expressa o receptor para o antígeno α/β .

Na seleção positiva, os linfócitos duplo positivos, anteriormente citados, precisam reconhecer, ainda, as moléculas do **Complexo Principal de Histocompatibilidade** (MHC, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*, que significa Complexo Principal de Histocompatibilidade) presentes em células epiteliais do córtex do timo, com baixa avidez. Devido à sua importância, estudaremos a estrutura e a função desse complexo mais adiante.

A interação de um linfócito T duplo positivo ($CD4^+CD8^+$) com uma célula epitelial tímica que apresenta uma molécula de Classe I do MHC faz com que esse linfócito passe a expressar apenas a molécula $CD8^+$ (linfócito T $CD8^+$). Por outro lado, se a interação de um linfócito T duplo positivo ocorrer com uma célula epitelial tímica que apresenta uma molécula de Classe II do MHC, o linfócito passará a expressar somente a molécula $CD4^+$.

Na seleção negativa, os linfócitos T duplo positivos ($CD4^+CD8^+$) precisam estabelecer uma fraca interação com o complexo MHC-peptídeo da célula epitelial tímica. Caso a ligação entre o TCR dos linfócitos T e o complexo MHC-peptídeo da célula epitelial do timo seja de alta afinidade, espera-se que esses linfócitos sejam eliminados por apoptose (morte programada) (Figura 4.1).

TCR

TCR, ou receptores de células T (em inglês, T Cell Receptor), assim como as imunoglobulinas (Ig) ou anticorpos são receptores antígeno-específicos essenciais para a resposta imune. Estão presentes na superfície externa dos linfócitos T (células T), mas diferem das imunoglobulinas.

Complexo Principal de Histocompatibilidade

Grupo de genes com múltiplos loci codificam glicoproteínas que podem ser observadas na superfície das células e são denominados de抗ígenos leucocitários humanos (HLA). São eles抗ígenos leucocitários humanos de Classe I e de Classe II.

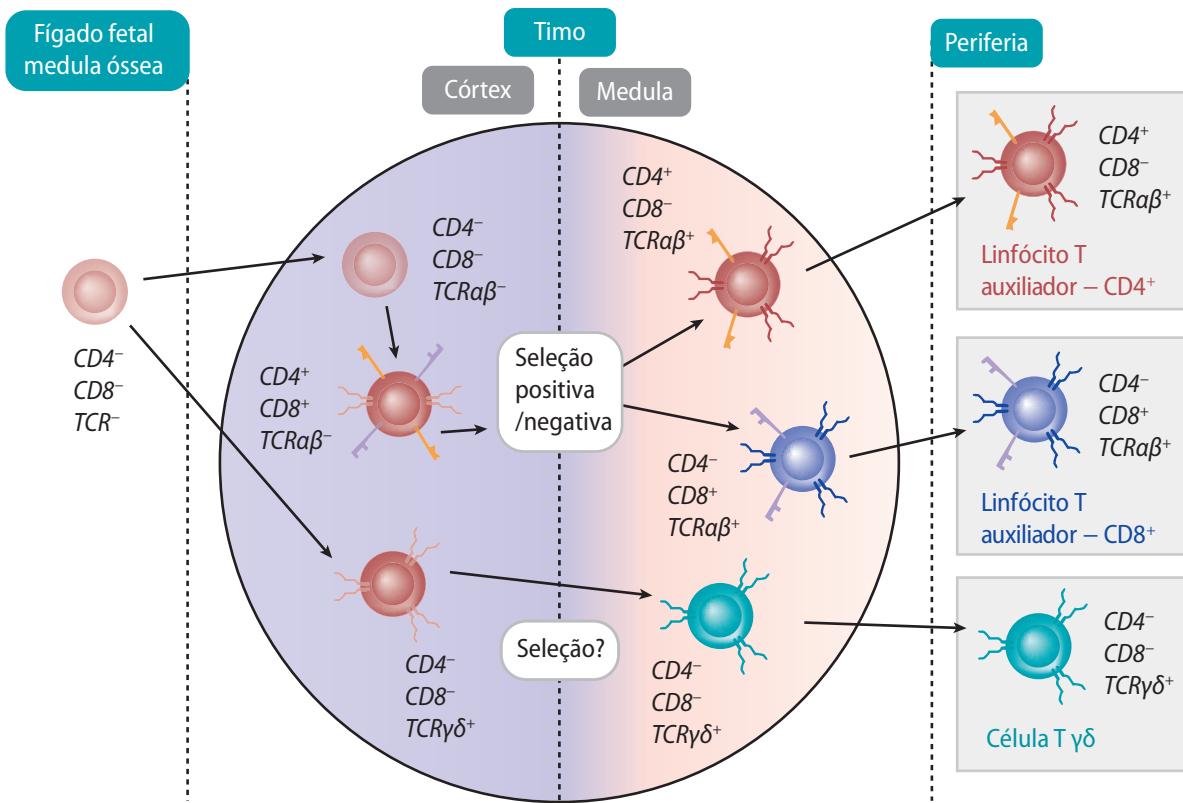


Figura 4.1 – Seleção positiva e negativa dos linfócitos T no timo. (Adaptado de ABBAS et al., 2007, p.178).

É importante salientar que aproximadamente 95% dos linfócitos T duplo positivos não amadurecem. Somente o restante, 5%, é liberado para a circulação.

Esse processo de seleção positiva e negativa é de extrema importância, uma vez que favorece apenas a liberação das células que estão aptas a reconhecer antígenos não próprios.

No texto anterior, foi explicado que durante esse processo de educação celular se observa o rearranjo gênico do TCR, ou seja, da estrutura que atuará como receptora para antígeno nas células T.

Para uma melhor compreensão, vamos entender a estrutura e o funcionamento dos TCRs.

Esses receptores fazem parte da superfamília das imunoglobulinas, tendo uma estrutura semelhante à das moléculas de imunoglobulinas. A maioria dos linfócitos apresenta o receptor do tipo α/β .

Como é a estrutura desses receptores?

Os receptores do tipo α/β são heterodímeros (dímeros), compostos de duas cadeias, uma denominada α e outra denominada β , ligadas por uma ponte SS. Cada cadeia apresenta duas regiões, uma denominada de região variável e outra denominada de região constante. Os receptores para antígeno do tipo α/β nos linfócitos T estão sempre expressos na membrana e associados à glicoproteínas adicionais, como, por exemplo, com o CD3 e o CD4 ou com o CD3 e o CD8 (Figura 4.2).

Receptor do tipo γ/δ apresenta características estruturais semelhantes às descritas anteriormente, exceto pela expressão das duas cadeias, γ e δ .

Cabe a observação de que os linfócitos T expressam o receptor para antígeno do tipo α/β ou γ/δ , mas nunca ambos. A maioria dos linfócitos T presentes no sangue periférico apresenta o receptor antígeno do tipo α/β e somente uma minoria, cerca de 1 a 3%,

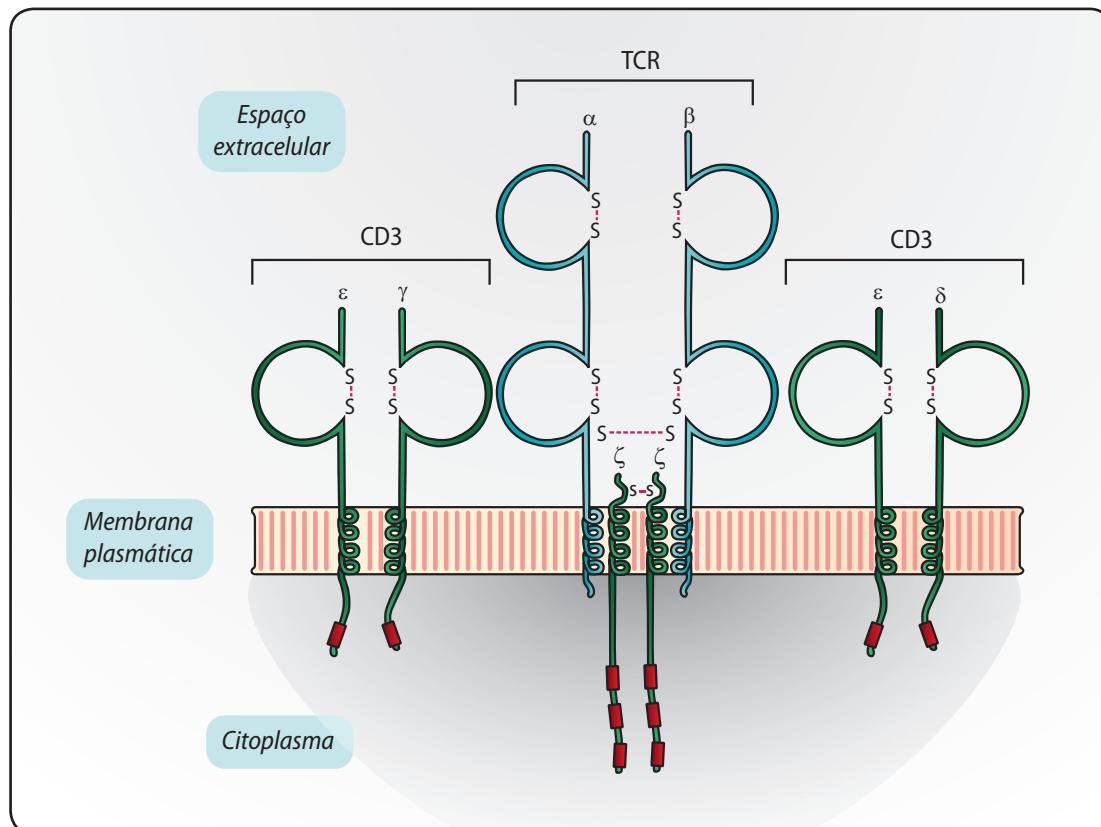


Figura 4.2 – Estrutura do TCR. (Adaptado de ABBAS et al., 2007, p. 142).

apresenta o receptor do tipo γ/δ . Os linfócitos T com receptores do tipo γ/δ são encontrados na pele e no tecido mucoso (intestino).

Vamos agora estudar o papel das moléculas (marcadores de superfície) **CD3**, **CD4** e **CD8**.

- **CD3** – esta molécula está associada com o TCR e é um elemento importante na transdução de sinais, uma vez que sinaliza a ligação do antígeno ao TCR para o interior da célula.
- **CD4 e CD8** – são marcadores de superfície celular, correceptores. Os linfócitos T que expressam a glicoproteína de membrana CD4 reconhecem o antígeno em associação a moléculas de MHC de Classe II. As células que expressam a glicoproteína de membrana CD8 reconhecem o antígeno no contexto de moléculas de Classe I do MHC.

A expressão de CD4 ou de CD8 também define duas **subpopulações funcionais principais de linfócitos**:

- os linfócitos T $CD4^+$ geralmente funcionam como células T auxiliares que atuam ajudando na função de diferentes células do sistema imune e são restritas ao MHC de Classe II; e
- os linfócitos T $CD8^+$ geralmente funcionam como células T citotóxicas responsáveis pela lise de células-alvo e são restritas ao MHC de Classe I (Figura 4.3).

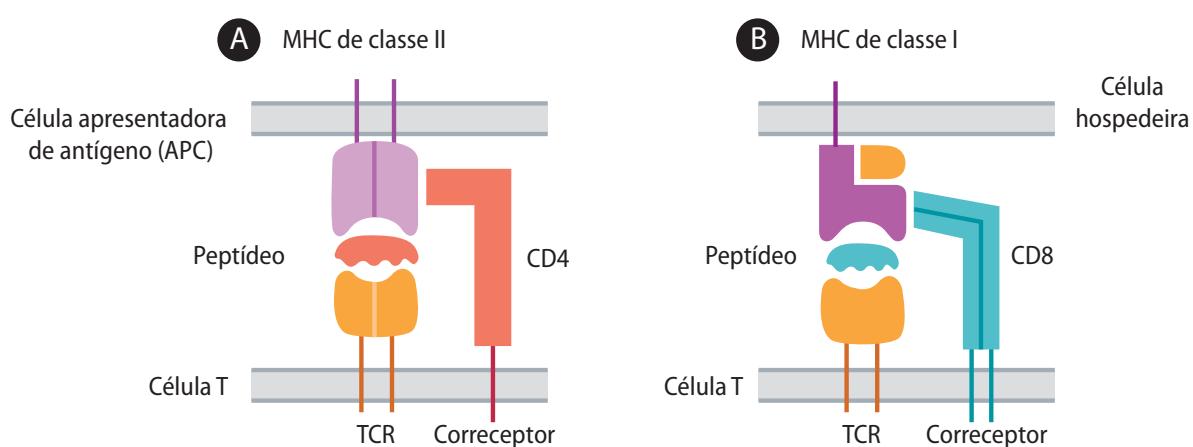


Figura 4.3 – TCR, correceptores e restrição com moléculas de MHC expressas nas células. (A) Associação dos linfócitos T $CD4^+$ com moléculas de MHC de Classe II expressas em células apresentadoras de antígeno (APC) e (B) Associação dos linfócitos T $CD8^+$ com moléculas de MHC Classe I expressas em todas as células nucleadas. (Adaptado de COICO; SUNSHINE, 2009, p. 128).

A proporção de linfócitos T auxiliares e de linfócitos T citotóxicos em uma amostra pode ser determinada através da análise do número de linfócitos T CD4⁺ e de CD8⁺. Essa proporção é de aproximadamente 2:1 no sangue periférico humano normal, mas pode ser显著mente alterada por determinados tipos de imunodeficiências, doenças autoimunes e outras doenças.

Pela sua importância, passemos a compreender o funcionamento das células consideradas como “maestros do sistema imune”, os linfócitos T auxiliadores: CD4⁺.

4.2 Linfócitos T auxiliadores: CD4⁺

Os linfócitos T CD4⁺ virgens, não estimulados pelo antígeno, são denominados linfócitos T_H0. No início da ativação das células T, os linfócitos T_H0 podem se diferenciar em dois subgrupos distintos de linfócitos T CD4⁺ auxiliadores: os linfócitos T_H1 e os linfócitos T_H2.

Como essas células podem ser distinguidas?

Esses linfócitos são distinguíveis pelo perfil de **citocinas** que secretam. Sabe-se que citocinas são produzidas por outras células (células NK, mastócitos, células apresentadoras de antígeno) como consequência da exposição ao antígeno.

Na presença de **IL-12 e IFN-γ**, os linfócitos T_H0 tendem a se desenvolver em células T_H1. O contato com helmintos parasitários leva à liberação de IL-4, que pode ser produzida por mastócitos. Na presença de IL-4, as células T_H0 podem se diferenciar para T_H2 (Figura 4.4).

4.2.1 Linfócitos T_H1

Estes linfócitos quando ativados pelo antígeno são capazes de secretar Interleucina-2 (IL-2), INF-γ (interferon-gama ou imune) e TNF-β (fator de necrose tumoral beta) em poucas horas após a estimulação antigênica.

Essas citocinas liberadas pelas células T_H1 atuam auxiliando a ação de outras células do sistema imune como, por exemplo, os

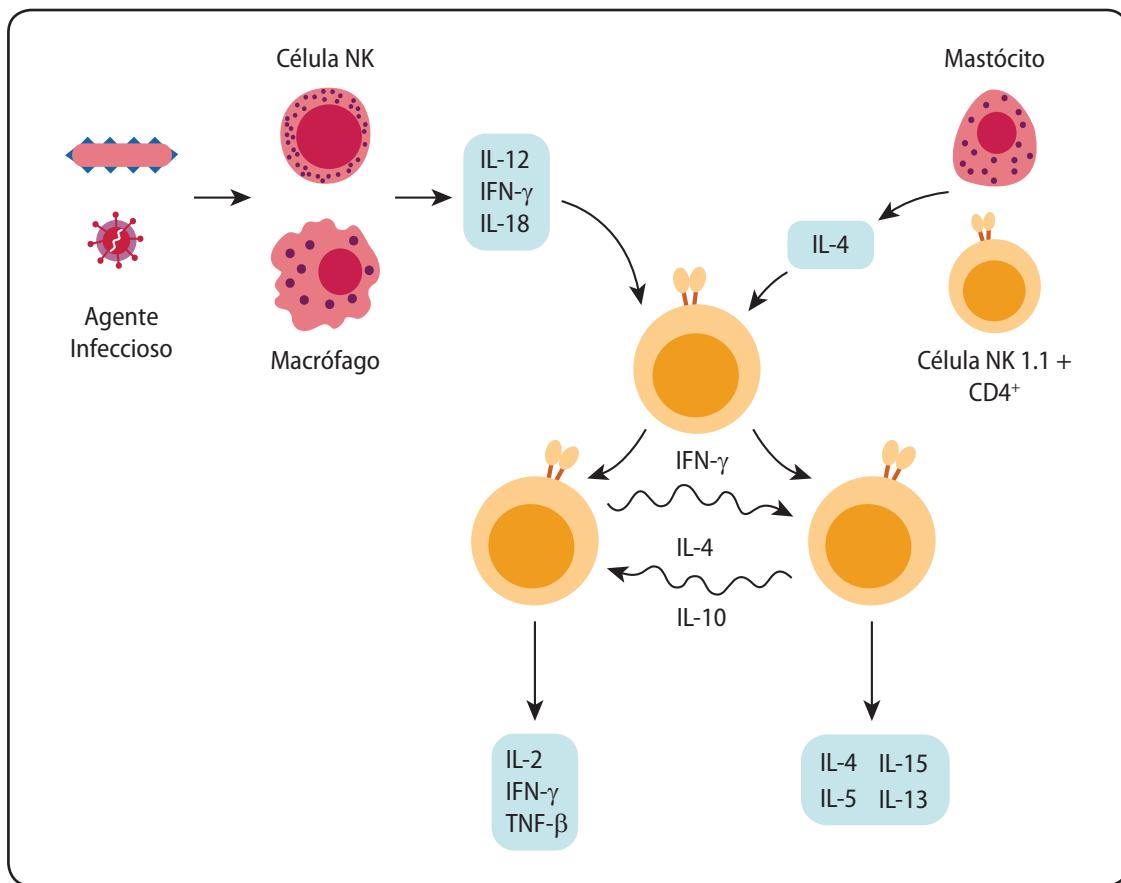


Figura 4.4 – Diferenciação da célula T_H0 em T_H1 e T_H2. (Adaptado de BENJAMINI et al., 2002, p. 115).

macrófagos, que podem ser ativados, os linfócitos T citotóxicos (CD8⁺), que exercem ação de citotoxicidade, e as células NK. Portanto, a ativação de linfócitos T_H1, a princípio, facilita a imunidade mediada por células.

Citocinas

Citocinas são proteínas de baixo peso molecular secretadas pelos leucócitos e por várias outras células no organismo em resposta a inúmeros estímulos. São mediadores solúveis responsáveis pela sinalização entre as células do sistema imune, regulando seu desenvolvimento e comportamento. As citocinas estão envolvidas em processos celulares como, por exemplo, ativação celular, maturação celular, proliferação celular, secreção de anticorpos, migração celular, entre outros.

IL-12 e IFN-γ

Células dendríticas, macrófagos e células NK, quando expostos a bactérias intracelulares (por exemplo, Listeria) e vírus, produzem IL-12 e IFN-γ.

4.2.2 Linfócitos T_H2

Estas células quando ativadas pelo antígeno secretam IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Entre as diversas ações das citocinas liberadas pelos linfócitos T_H2, destacam-se a estimulação, a proliferação de linfócitos B, a secreção policlonal de moléculas de imunoglobulinas e a ativação de mastócitos e de eosinófilos. Desse modo, o produto da ativação de linfócitos T_H2 induz à ativação da imunidade humoral ou mediada por anticorpos.

Cabe destacar que as citocinas liberadas por linfócitos T_H1 podem regular o crescimento e as funções efetoras dos linfócitos T_H2, e vice-versa. Sabe-se que a IL-4, a IL-10 e o TGF-β, produzidos por linfócitos T_H2, inibem a ativação e o crescimento de T_H1. Do mesmo modo, o IFN-γ produzido pelos linfócitos T_H1 inibe a proliferação de linfócitos T_H2 (Figura 4.5).

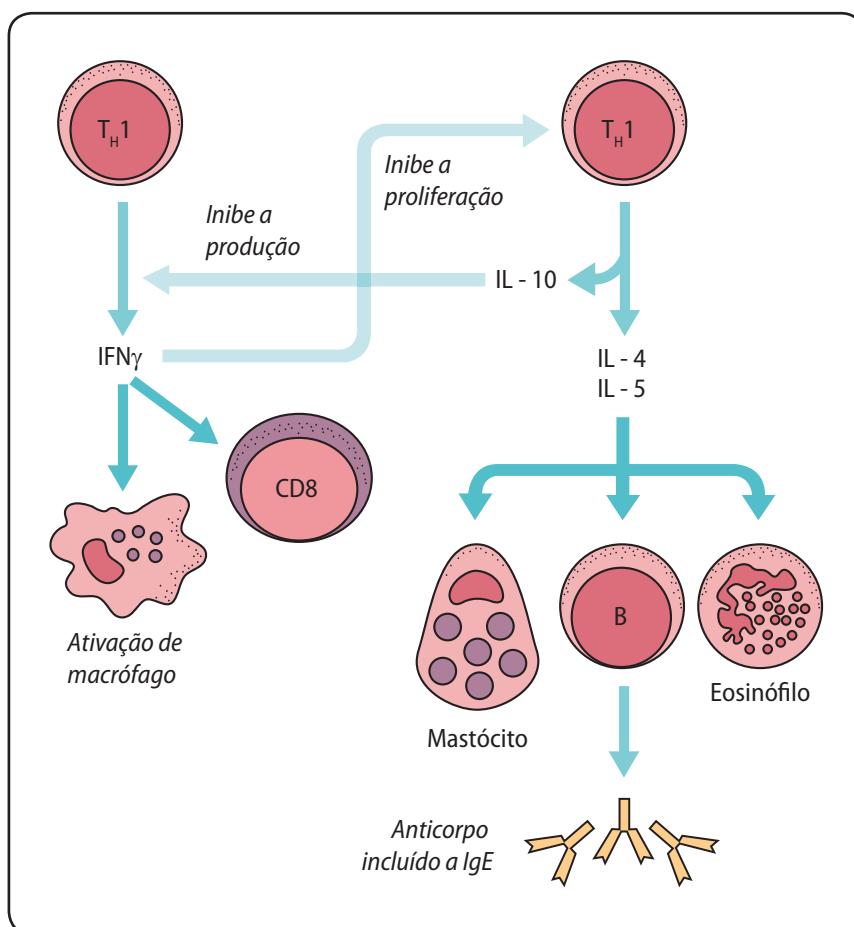


Figura 4.5 – Ação regulatória das citocinas sobre os subgrupos de linfócitos T auxiliadores. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 221).

Para finalizar, podemos dizer que o envolvimento dos linfócitos T auxiliadores no sistema imune é fundamental, uma vez que essas células constituem uma das principais fontes de citocinas, cujas propriedades são essenciais para a estimulação e a regulação da resposta imune.

4.3 Linfócitos T citotóxicos: CD8⁺

Os linfócitos T citotóxicos são células que exercem uma ação de citotoxicidade contra células-alvo infectadas por vírus e células tumorais. Contudo, é preciso lembrar que essas células T CD8⁺ reconhecem o antígeno que é apresentado por células que expressam, na sua superfície de membrana, glicoproteínas de Classe I do MHC. Cabe salientar que as moléculas de Classe I são encontradas em todas as células nucleadas do corpo. Os linfócitos T citotóxicos contêm grânulos ricos em perforina e granzimas.

A interação específica do linfócito T com a célula-alvo induz à degranulação desses linfócitos. Como consequência, esses grânulos liberam perforinas e granzimas. As perforinas formam poros na membrana da célula-alvo. A inserção de um número elevado dessas moléculas na membrana da célula-alvo pode levar à lise osmótica da célula. As granzimas (serina-proteases) entram na célula-alvo através de canais, ativando caspases e nucleases que levam à apoptose da célula-alvo (Figura 4.6a).

Outro mecanismo de citotoxicidade pode ser observado e envolve a interação específica do ligante de Fas (Fas-L) ou CD59L com a molécula de Fas ou CD59. Como é esse mecanismo?

A molécula Fas ou CD59 é observada na superfície de diversas células do organismo. Os linfócitos T citotóxicos, quando ativados, passam a expressar na superfície de membrana a molécula ligante de Fas, o Fas-L ou CD59L. A interação entre o ligante de Fas e a molécula Fas deflagra uma cascata de alterações bioquímicas intracelulares que resultam na apoptose da célula-alvo (Figura 4.6b).

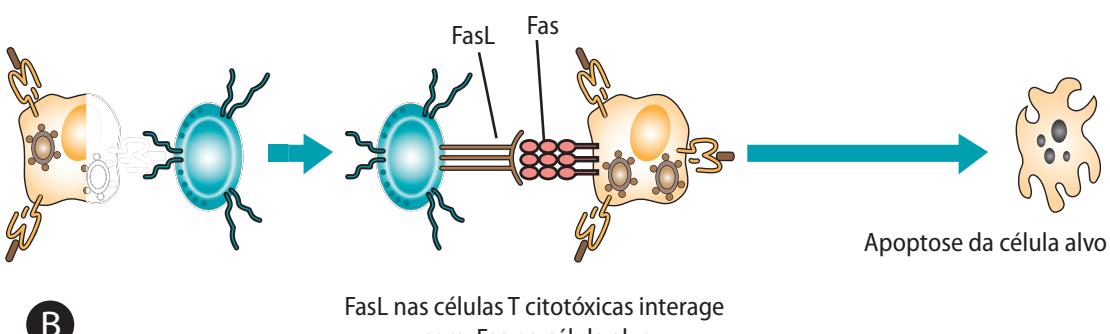
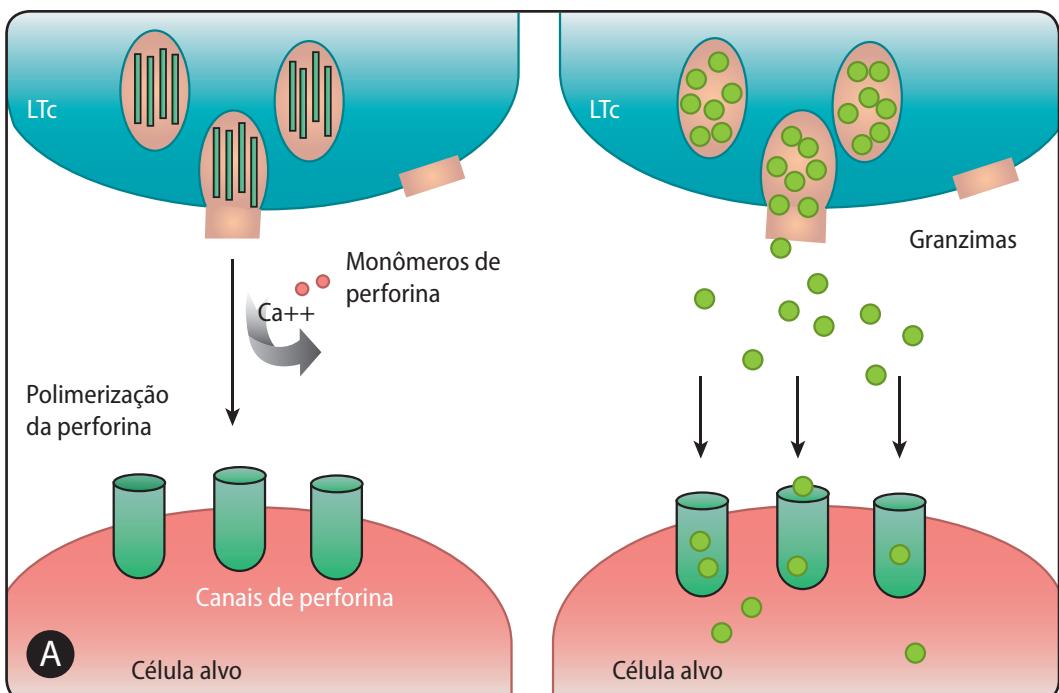


Figura 4.6 – (A) Mecanismos de citotoxicidade dos linfócitos T CD8^+ e (B) Interação FasL-Fas. (Adaptado de: (A) IMMUNOLOGY ON-LINE; 2010 e (B) ABBAS et al., 2007, p. 254).

4.4 Complexo principal de histocompatibilidade e processamento antígenico

Todas as espécies apresentam um segmento gênico contendo um grupo de genes firmemente ligados, com múltiplos loci, denominados Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC, do inglês, Major Histocompatibility Complex). Os produtos da codificação desses genes são conhecidos como antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês, Human Leukocyte Antigen, que

significa antígeno leucocitário humano). Na espécie humana, esse segmento gênico localiza-se no cromossomo 6.

Os estudos sobre o Complexo Principal de Histocompatibilidade são de evidente importância, dado o relevante papel nos processos que envolvem a rejeição entre órgãos e tecidos transplantados, como também nos fenômenos imunológicos que envolvem as interações celulares em decorrência da ativação de uma resposta imune adaptativa. Essas interações se estabelecem entre células linfoides distintas e entre células apresentadoras de antígeno e linfócitos.

Os抗ígenos de histocompatibilidade ou ainda抗ígenos de transplantação, presentes na superfície de células ou em tecidos, são elementos determinantes nas situações em que um transplante é indicado. Esses抗ígenos de histocompatibilidade assumem grande importância, uma vez que são imunógenos potentes e, portanto, capazes de induzir uma resposta imune nos organismos hospedeiros. Sendo assim, a compatibilidade entre os抗ígenos de histocompatibilidade do possível doador e do respectivo receptor deverá ser previamente investigada a fim de se evitar uma rejeição do tecido transplantado, ou seja, da lesão do tecido, provocada pela ativação imunológica.

Em transplantes, os抗ígenos de hiscompatibilidade considerados de grande relevância são os抗ígenos leucocitários humanos (HLAs), embora a análise quanto à compatibilidade entre os抗ígenos dos grupos sanguíneos do sistema ABO deva ser igualmente exigida.

Dada a relevância desse complexo, vamos entender a sua estruturação.

4.4.1 Estruturação do complexo principal de histocompatibilidade

O Complexo Principal de Histocompatibilidade humano é constituído por três subgrupos gênicos ou classes, denominadas de Classe I, Classe II e Classe III. Em humanos, o MHC de Classe I codifica glicoproteínas, conhecidas como HLA-A, HLA-B e HLA-C. Essas glicoproteínas se ligam a peptídeos gerados no cito-

plasma (antígenos exógenos) e apresentam-nos para os linfócitos T CD8⁺. Por sua vez, o MHC de Classe II codifica glicoproteínas, conhecidas como HLA-D, que se ligam a peptídeos degradados em vesículas celulares (antígenos exógenos) e são apresentadas para células T CD4⁺. Já o MHC de Classe III codifica componentes do Sistema Complemento e do fator de necrose tumoral (Figura 4.7).

4.4.2 Estrutura das glicoproteínas de classe I do MHC

As moléculas de Classe I do MHC são heterodímeros constituídos por duas cadeias polipeptídicas: uma cadeia α (cadeia pesada, com domínios α₁, α₂ e α₃) codificada pelo MHC; e uma cadeia de β₂-microglobulina (não codificada pelo MHC). Na extremidade aminoterminal, a molécula tem uma estrutura em forma de fenda. Nessa fenda, ocorre a ligação com peptídeos originados pela fragmentação de proteínas.

4.4.3 Estrutura das glicoproteínas de classe II do MHC

As moléculas de Classe II do MHC também são heterodímeros constituídos por duas cadeias: uma α (domínios α₁ e α₂) e uma β

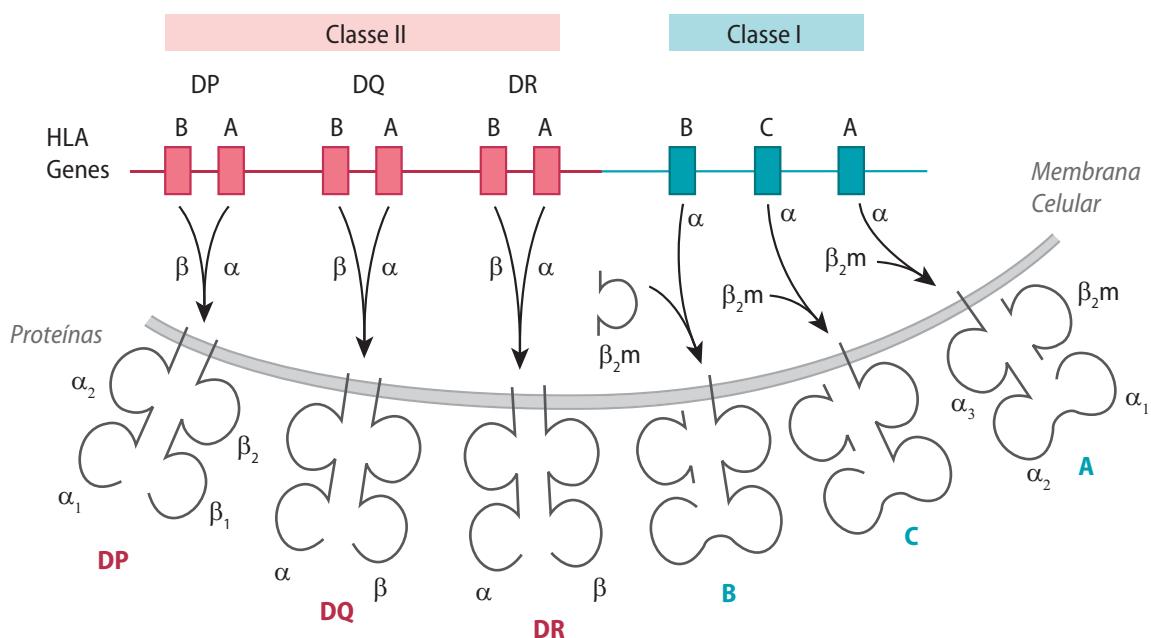


Figura 4.7 – Representação esquemática do MHC humano. (Adaptado de COICO e SUNSHINE, 2009, p. 119).

(domínios $\beta 1$ e $\beta 2$), ambas codificadas pelo MHC. Na extremidade aminoterminal está presente a fenda, onde se liga o peptídeo a ser apresentado ao sistema imune.

4.4.4 Como se dá a distribuição tecidual dessas glicoproteínas nas células?

As moléculas de Classe I do MHC são expressas em todas as células nucleadas do organismo. As moléculas de Classe II são constitutivamente expressas em linfócitos B, células dendríticas e células do epitélio tímico, e manifestadas, sob indução, em macrófagos, células endoteliais e células T ativadas (Figura 4.8).



Figura 4.8 – Distribuição das moléculas de MHC nas diferentes células. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 136).

* Somente células T ativadas expressam MHC-II.

† No cérebro a maioria das células são MHC-II negativas, com exceção da microglia, que são relacionadas com o macrófago e são MHC-II positivas

4.4.5 Funções biológicas do MHC

Apresentação dos peptídeos para os linfócitos T

Vamos recordar inicialmente quais são as células capazes de apresentar抗ígenos. São elas os macrófagos, as células de Langerhans na pele, as células dendríticas e os linfócitos B. A apresentação do抗ígeno por essas células se dá em associação com glicoproteínas de Classe II do MHC. Nessa etapa, a função do MHC se observa inicialmente no interior das células, onde as moléculas de Classe II do MHC se ligam aos fragmentos peptídicos e, na sequência, conduzem-nos até a superfície celular (Figura 4.9).

As células B reconhecem抗ígenos na sua forma nativa, como, por exemplo, proteínas na superfície do patógeno não processado. As células T reconhecem apenas抗ígenos processados, ou seja, fragmentos peptídicos. Quando é dito que houve processamento do抗ígeno, isso significa que a molécula antigênica (molécula de alto peso molecular) foi exposta a uma série de eventos bioquímicos e o produto final dessa exposição gerou fragmentos peptídicos menores que poderão se ligar às glicoproteínas do MHC e ser apresentados para as células T (apresentação do抗ígeno).

Reconhecendo os diferentes抗ígenos

Devemos destacar a importância do desencadeamento de uma resposta imune adequada. Para isso, o sistema imune precisa distinguir entre os patógenos extracelulares (抗ígenos exógenos) e os intracelulares (抗ígenos endógenos). Diante de uma exposição a抗ígenos exógenos, é desejável que o sistema imune seja capaz de desencadear uma resposta imune diretamente contra o抗ígeno, ou seja, através da ativação de mecanismos humorais ou mediados por anticorpos e da ativação das células fagocitárias. Para tanto, nessa etapa inicial é essencial, como já vimos, a apresentação desses抗ígenos em associação com as moléculas de MHC Classe II. Na sequência, os eventos secundários que seguem a apresentação desses抗ígenos são igualmente importantes, uma vez que as citocinas produzidas determinarão a classe de anticorpos a serem produzidos e o recrutamento de outros tipos celulares (Figura 4.10).

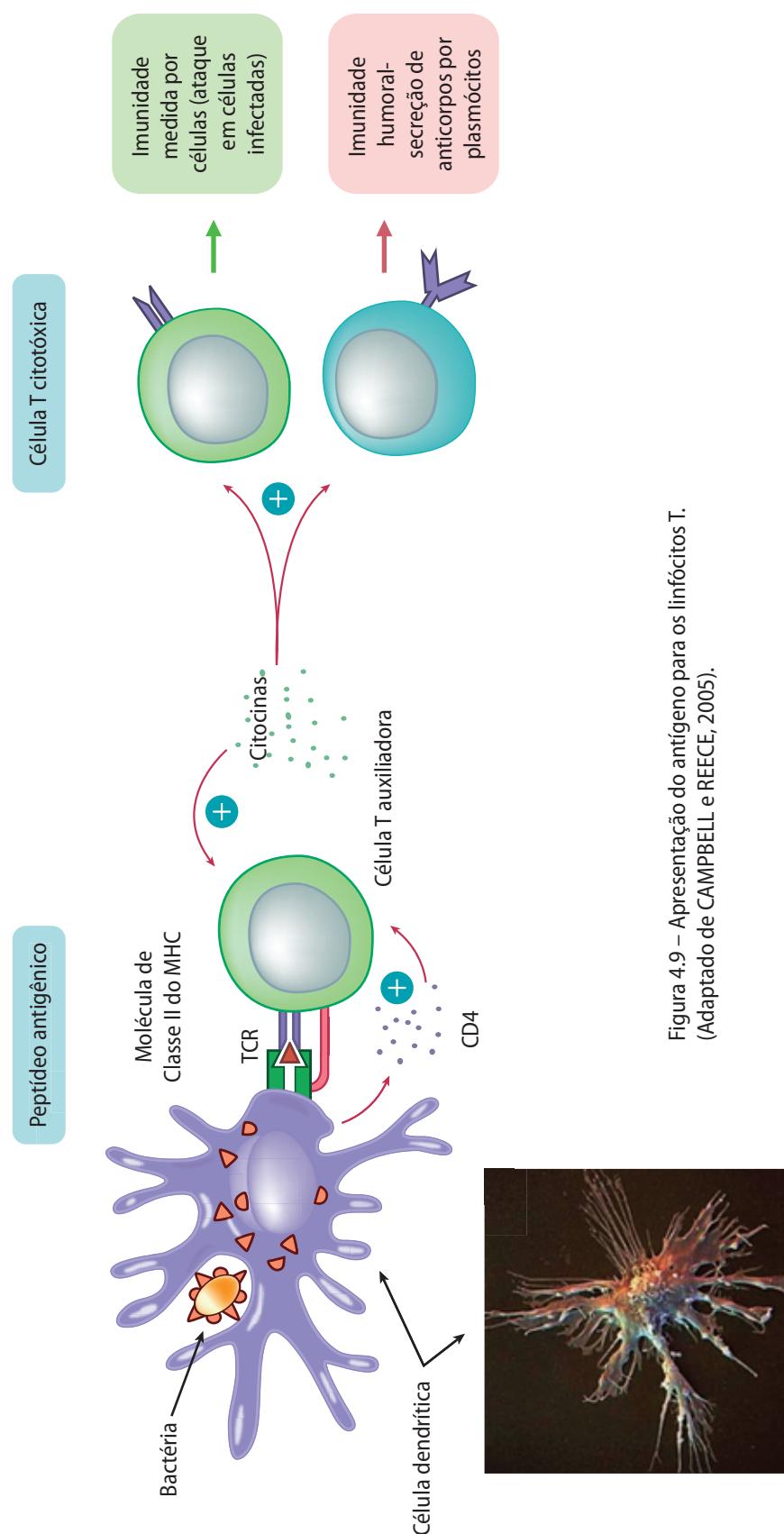


Figura 4.9 – Apresentação do antígeno para os linfócitos T.
(Adaptado de CAMPBELL e REECE, 2005).

Já a resposta do sistema imune aos抗ígenos endógenos deve ser distinta da anteriormente exposta, uma vez que é preciso que o sistema imune elabore uma resposta que seja capaz de destruir a célula do organismo onde esses抗ígenos estão sendo produzidos. Desse modo, uma resposta de citotoxicidade que resulta na destruição da célula-alvo é mais apropriada. Essa resposta de citotoxicidade ou lise da célula-alvo ocorre em associação com moléculas de Classe I do MHC (Figura 4.11).

Para finalizar, destacamos que as moléculas de Classe I do MHC apresentam peptídeos抗ígenicos para células T CD8⁺, enquanto as moléculas de Classe II apresentam抗ígenos para células T CD4⁺. Por esse motivo é dito que as células T CD4⁺ são restritas às

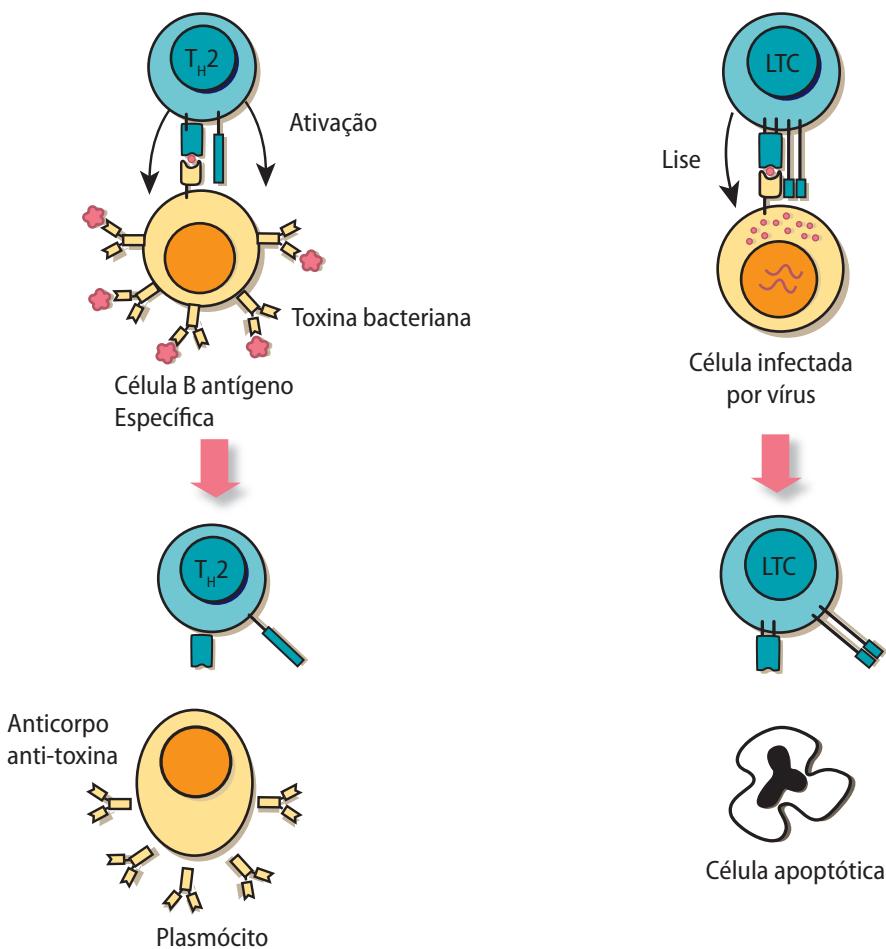


Figura 4.10 – Reconhecimento dos抗ígenos extracelulares. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 351).

Figura 4.11 – Reconhecimento dos抗ígenos intracelulares. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 351).

moléculas de Classe II e as células T CD8⁺, restritas às moléculas de Classe I do MHC.

MHC e a resistência ou susceptibilidade a doenças

A expressão de um alelo específico do MHC tem sido associada à resistência e susceptibilidade a vários agentes infecciosos, como, por exemplo, o vírus T-linfotrópico humano (HTLV-1), a malária, a lepra, a tuberculose, a hepatite B e a rápida progressão da AIDS. Adicionalmente, a associação entre a expressão de certas glicoproteínas do MHC e um risco maior de adquirir certas doenças autoimunes ou inflamatórias tem sido documentada. Discutiremos sobre esse assunto com mais detalhes no Capítulo 6.

Resumo

Já aprendemos que os linfócitos T são células que realizam a sua maturação no timo. Contudo, neste capítulo abordamos os diferentes estágios do desenvolvimento, o processo de seleção positiva e negativa, considerado essencial para a maturação e o funcionamento adequado dessas células. Os TCRs são estruturas que atuam como receptores para抗ígenos e são adquiridos durante o processo de maturação celular. Eles podem ser do tipo α/β (presentes na maioria dos linfócitos T) ou γ/δ. Associadas a essas estruturas, são observadas as moléculas de superfície celular CD3 e CD4 ou CD3 e CD8, que também são adquiridas durante os estágios de diferenciação da célula. Esses componentes celulares são importantes para a célula na medida em que auxiliam na transdução de sinais, na identificação e na ativação celular. Cabe ressaltar a importância da população de linfócitos T CD4⁺. Essas células são consideradas células “maestro” do sistema imune, uma vez que funcionam auxiliando a ação de outras células desse sistema. Elas são restritas ao MHC de Classe II. Os linfócitos T CD8⁺ geralmente funcionam como células T citotóxicas e são restritos ao MHC de Classe I. Dois subgrupos de linfócitos T auxiliadores são conhecidos, os linfócitos T_H1 e os linfócitos T_H2. Esses linfócitos são distinguíveis pelo perfil de citocinas que secretam. Uma vez liberadas, essas citocinas serão responsáveis pelo direcionamento da resposta imune. Cabe

lembra que essas subpopulações de linfócitos são passíveis de regulação pela ação das citocinas liberadas por eles. O envolvimento do Complexo Principal de Histocompatibilidade é de extrema importância nos fenômenos que envolvem as interações celulares, como também nos processos que envolvem a rejeição a tecidos e órgãos transplantados. Sabe-se que a expressão de determinadas glicoproteínas de superfície codificadas pelo MHC está associada à resistência e à susceptibilidade de certas doenças.

Referências

ABBAS, Abul K.; LICHTMANN, Andrew H.; PILLAI, Shiz.

Cellular and molecular immunology. 6. ed. Philadelphia, PA:

Saunders Elsevier, 2007. p. 142; 178 e 254.

BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. 4. ed.

Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 115.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. 2. ed. Rio de Janeiro:

Revinter, 2009.

CAMPBELL, Neil; REECE, Jane. Power point lectures for biology: the immune system, chapter 43. 7. ed. Lectures by Chris Romero. Pearson Education, Inc. publishing as Benjamin Cummings, 2005.

COICO, Richard; SUNSHINE, Geoffrey. *Immunology: a short Course*. 6. ed. New Jersey, 2009. p. 119 e 128.

IMMUNOLOGY ON-LINE. Disponível em: <<http://www.immunologyonline.com>>. Acesso em: 10 mar. 2010.

MALE, David et al. *Immunology*. 7. ed. Philadelphia, PA: Mosby; Elsevier, 2006. p. 22.

MURPHY, Kenneth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark. *Janeway's immunobiology*. 7. ed. New York: Garland Science, 2008. p. 136 e 351.

NAIRN, Roderick; HELBERT, Matthew. *Imunology for medical students*. 2. ed. Philadelphia, PA: Mosby; Elsevier, 2007.

CAPÍTULO 5



Soros e vacinas

Embora já tenhamos ideia da importância das vacinas, no presente capítulo vamos aprender por que o uso de soros e vacinas tem salvado a vida de milhões de pessoas e reduzido a incidência de muitas doenças infecciosas comuns. Os soros são constituídos de anticorpos, que conferem proteção imediata contra uma determinada doença, porém não conferem proteção em longo prazo. Já as vacinas são constituídas de抗ígenos do agente infeccioso contra o qual se deseja induzir proteção, além de substâncias inespecíficas chamadas adjuvantes. A resposta imune gerada pelas vacinas aparece algumas semanas após sua administração, porém a imunidade pode durar por muitos anos. As vacinas podem ser constituídas de micro-organismos inteiros atenuados ou inativados ou de macromoléculas purificadas, cada tipo de vacina oferece vantagens e desvantagens. Atualmente há inúmeras outras estratégias sendo estudadas na tentativa de se gerar proteção contra diversas doenças contra as quais ainda não existem vacinas eficazes disponíveis.

5.1 Introdução

A manipulação do sistema imune na tentativa de proteger os seres humanos contra doenças infecciosas é muito antiga, embora somente no século XX tenha se tornado uma prática rotineira para grandes populações. Durante os últimos 200 anos, desde quando o médico inglês Edward Jenner fez a primeira vacinação contra a varíola em 1796, inúmeras doenças têm sido controladas através do uso de vacinas. O processo de vacinação é muitas vezes tão eficiente que pode levar à erradicação de doenças, como aconteceu com a varíola, que teve seu último caso natural registrado em 1977, e como deve acontecer com a poliomielite em breve. Por essas razões, o uso de vacinas representa um dos maiores avanços da medicina.

Na primeira década do século XX, os anticorpos também começaram a ser utilizados para prevenir doenças, sendo essa formulação chamada de soro. Os primeiros soros utilizados em seres humanos foram contra difteria e tétano. Dessa maneira, duas formas de proteção ou imunização podem ser induzidas: imunização passiva e imunização ativa. A imunização passiva acontece quando ocorre a transferência de anticorpos, geralmente produzidos em outros animais, para impedir a infecção de uma pessoa que potencialmente tenha tido contato com o agente infeccioso. Na imunização ativa o indivíduo recebe o antígeno antes do contato com o agente infeccioso para montar sua própria resposta imune protetora (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Tipos de imunização

| Ativa | Passiva |
|------------------------|---|
| Natural (infecção) | Natural (transferência de anticorpos pela placenta e pelo colostro) |
| Artificial (vacinação) | Artificial (soroterapia) |

5.2 Imunização passiva

A imunização passiva ocorre através da transferência de anticorpos provenientes de um indivíduo (ou de animal de outras espécies) que foi previamente imunizado para um indivíduo receptor. Uma característica muito importante da imunização passiva é que ela confere proteção imediata, ou seja, logo após a administração dos anticorpos. Além disso, a imunização passiva não ativa células do sistema imune, não gerando, portanto, células de memória, sendo, então, esse tipo de imunidade transiente, ou seja, de curta duração. A imunização passiva pode ser dividida em natural e artificial.

A imunização passiva natural é quando ocorre a transferência de anticorpos da mãe para o bebê, seja através da placenta (IgG), seja através do leite e do colostro (IgA). Esse tipo de imunização é muito importante, pois, à época do nascimento, o sistema imunológico dos bebês ainda não está totalmente formado e, portanto, está suscetível a infecções. A transferência de todo o repertório de IgGs maternas contra os mais diversos patógenos ocorre através da placenta durante a gestação e, dessa forma, confere proteção ao bebê contra todas as infecções a que a mãe tem imunidade. Por isso é muito importante que a mãe esteja imunizada contra as mais diversas doenças (tétano, sarampo, pólio, difteria etc.), pois assim pode prover proteção para a criança nos primeiros meses de vida. Outra forma muito importante de transferência de anticorpos da mãe para a criança é através da amamentação. Principalmente anticorpos do tipo IgA (e também IgG e IgM, porém em quantidades bem menores) são encontrados no leite materno, sendo sua maior concentra-

ção encontrada no colostro (primeiro leite), imediatamente após o parto. Esses anticorpos se aderem a toda superfície do trato digestório e conferem proteção principalmente contra patógenos entéricos, como bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Salmonella* e *Shigella*, bem como contra vírus da pólio e rotavírus, dentre outros.

A imunização passiva artificial, também chamada de soroterapia, é a administração de anticorpos na forma de soros, bastante utilizados contra venenos de animais peçonhentos e toxinas bacterianas. O uso de soros é muito importante, pois rapidamente neutraliza venenos e toxinas. Os anticorpos geralmente são obtidos de outros animais, geralmente cavalos e coelhos, que são imunizados com os patógenos contra os quais se deseja produzir o soro. Embora a utilização de soros seja de fundamental importância para prevenir diversas doenças, deve-se lembrar que os anticorpos provenientes de outros animais podem ser reconhecidos pelo sistema imunológico humano como uma molécula estranha, levando a uma resposta imunológica que conduz à rápida eliminação da circulação dos anticorpos provenientes do soro, impedindo a neutralização do veneno ou de toxinas, além de poder gerar processos inflamatórios, como a chamada doença do soro, e reações alérgicas. Uma alternativa para evitar tais efeitos indesejados é o uso de anticorpos humanos que podem ser obtidos de seres humanos que se recuperaram da infecção contra a qual se deseja utilizar o soro ou que tenham sido previamente imunizados. A Tabela 5.2 mostra os soros mais comumente utilizados atualmente.

Tabela 5.2 – Soros mais comumente utilizados

| Doença | Soro |
|------------------------------|---|
| Tétano | Antitoxina tetânica origem equina ou humana |
| Botulismo | Antitoxina produzida em cavalos |
| Difteria | Antitoxina produzida em cavalos |
| Raiva | Imunoglobulina antirrábica de origem equina ou humana |
| Picada de cobras | Antiveneno produzido em cavalos |
| Picada de aranha viúva-negra | Antiveneno produzido em cavalos |

5.3 Imunização ativa

A imunização ativa é resultado da produção de anticorpos, bem como da ativação de linfócitos T, dirigida contra o agente infecioso ou contra seus produtos tóxicos. Esse tipo de imunização confere proteção de longa duração, pois induz a geração de linfócitos de memória, que podem perdurar por muitos anos. Porém, a proteção conferida por esse tipo de imunização não é imediata, diferente dos processos de imunização passiva, levando algumas semanas até que ela se desenvolva completamente. A imunização ativa também pode ser dividida em natural e artificial.

A imunização ativa natural acontece quando o indivíduo adquire uma infecção e se cura, tratando-se, portanto, de uma imunização não intencional. Em muitas infecções, quando o indivíduo se cura, ele permanece com uma resposta imune protetora por muitos anos e, caso venha a entrar novamente em contato com aquele agente infeccioso, não adoecerá novamente. É por isso que muitas doenças são adquiridas somente uma vez na vida, como caxumba, rubéola, sarampo, dentre outras. Quando as vacinas são utilizadas para prevenir uma doença, tem-se a imunização ativa artificial, que é uma forma de imunização intencional.

Várias características são essenciais em uma vacina para que ela possa ser considerada eficaz o suficiente para ser administrada em grandes populações, a saber:

- a proteção proporcionada pela vacina deve ser duradoura, ou seja, durar vários anos;
- a vacina deve induzir a proteção efetiva contra o agente infecioso, porém sem o perigo de causar doença ou efeitos adversos graves;
- a vacina deve estimular o tipo de resposta imune protetora mais eficaz contra o agente infeccioso (por exemplo, induzir anticorpos neutralizantes ou estimular linfócitos T); e
- a vacina deve ser estável para permitir o armazenamento, o transporte e o uso, bem como ter um baixo custo, permitindo, assim, que seu uso seja viável para ampla utilização.

5.4 Tipos de vacinas

As vacinas contêm, em sua formulação, antígenos, que são moléculas específicas derivadas do micro-organismo contra o qual se deseja induzir uma resposta imune protetora, bem como adjuvantes, que são moléculas inespecíficas cujas funções serão explicadas adiante ainda neste capítulo. Existem diferentes maneiras pelas quais as vacinas podem ser preparadas. Podem ser empregados micro-organismos inteiros inativados ou atenuados, ou pode ser utilizada apenas uma molécula do agente infeccioso, ou pode também ser utilizado DNA na forma de plasmídeo. As características gerais de cada tipo de vacinas são apresentadas a seguir, sendo na Tabela 5.3 listadas algumas mais comumente utilizadas, bem como o tipo de preparação vacinal utilizado.

Tabela 5.3 – Classificação de algumas vacinas de uso em seres humanos

| | Doença ou patógeno | Tipo de vacina |
|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| | | Doenças causadas por bactérias |
| Micro-organismos inteiros | Antrax | Inativada |
| | Cólica | Inativada |
| | Coqueluche | Inativada |
| | Peste | Inativada |
| | Tuberculose | Atenuada |
| Doenças causadas por vírus | | |
| | Influenza | Inativada |
| | Raiva | Inativada |
| | Poliomielite (vacina Salk) | Inativada |
| | Poliomielite (vacina Sabin) | Atenuada |
| | Caxumba | Atenuada |
| | Varicela zoster | Atenuada |
| | Febre amarela | Atenuada |

| Macromoléculas purificadas | Toxoides | |
|----------------------------|---|--|
| | Difteria | Exotoxina inativada |
| | Tétano | Exotoxina inativada |
| | Polissacarídeos capsulares | |
| | <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B | Polissacarídeo capsular conjugado com proteína |
| | <i>Neissera meningitidis</i> | Polissacarídeo capsular |
| Antígeno recombinante | | |
| Hepatite B | Antígeno de superfície viral recombinante | |

Vacinas de micro-organismos inativados

Contêm os agentes infecciosos inteiros em sua formulação, porém esses micro-organismos devem ser previamente tratados com agentes físicos (radiação UV, calor etc.) ou químicos (formol, por exemplo). Os micro-organismos perdem a capacidade de replicação, porém ainda são capazes de induzir resposta imune. Essas vacinas são bastante seguras, mas requerem que sejam administradas várias vezes para que seja induzida uma resposta imune satisfatória.

Vacinas de micro-organismos atenuados

Também contêm micro-organismos inteiros, porém estão vivos, ou seja, preservam a capacidade de replicação, mas não têm a habilidade de causar doenças. Diz-se que esses micro-organismos estão atenuados e esse processo de atenuação pode ser obtido de diversas maneiras, por exemplo, através do crescimento do agente patogênico em condições adversas. Essas vacinas são bastante imunogênicas, e, muitas vezes, uma única dose é suficiente para conferir proteção por longo tempo. Entretanto, são menos estáveis que as preparadas com micro-organismos inativados e, em algumas situações, podem causar a doença que elas deveriam proteger.

Vacinas de macromoléculas

Diferem das anteriores, pois sua formulação consta de moléculas derivadas e purificadas de micro-organismos. Atualmente três categorias de vacinas podem ser encontradas nessa subdivisão:

- a) *toxoides*: vacinas preparadas a partir de exotoxinas bacterianas;
- b) *polissacarídeos capsulares*: utilizam antígenos polissacarídicos da cápsula bacteriana fusionados com antígenos proteicos; e
- c) *antígenos recombinantes*: utilizam proteínas preparadas através de engenharia genética.

Vacinas de DNA

São constituídas por um plasmídeo bacteriano que, além de outros componentes essenciais, deve conter o gene que codifica um antígeno importante contra o qual a resposta imune será induzida. A intenção é que as células do indivíduo vacinado captem o DNA e passem a expressar o antígeno do patógeno. Embora considerada uma vacina segura, barata e de fácil obtenção, esse tipo de vacina induziu respostas imunes muito fracas em seres humanos. Atualmente estão licenciadas duas vacinas de DNA para uso veterinário: uma para proteger cavalos contra o vírus do Oeste do Nilo e outra para proteger salmões contra o vírus da necrose hematopoiética infecciosa. Ainda não há nenhuma vacina de DNA licenciada para uso humano.

5.5 Adjuvantes

Além do antígeno proveniente do patógeno contra o qual se deseja induzir resposta imune, as vacinas contêm em sua composição outra substância chamada adjuvante. Os adjuvantes têm como função aumentar o efeito das vacinas. Muitas vacinas, sem a presença de adjuvantes, estimulam uma resposta imune fraca que não confere proteção. Os adjuvantes geram uma inflamação no local da administração da vacina, e isso leva à ativação de macrófagos e ao recrutamento de células inflamatórias. Além disso, os adjuvantes retardam a destruição do antígeno vacinal, fazendo com

que a vacina permaneça estimulando os linfócitos por tempo mais prolongado.

Existem diversas substâncias e preparações utilizadas como adjuvantes em vacinas de uso veterinário, muitas vezes contendo componentes bacterianos em suspensões oleosas que são proibidos para uso humano. Até o presente momento, o único adjuvante aprovado para uso em vacinas humanas é o alúmen, uma forma de hidróxido de alumínio. Embora o alúmen não seja o adjuvante mais potente conhecido, ele é utilizado em detrimento de outros, pois é o mais seguro. Os outros adjuvantes induzem muitas reações adversas. A função de adjuvante pode também ser fornecida pelos componentes bacterianos das vacinas, como os componentes da parede celular de *Bordetella pertussis* na vacina DPT e da *Mycobacterium* na vacina contra tuberculose. Atualmente existem muitas pesquisas sendo conduzidas na tentativa de desenvolver adjuvantes mais eficientes e seguros.

5.6 Vacinas humanas em uso

Embora a Organização Mundial da Saúde recomende um esquema de vacinação, cada país adota o esquema que julgar mais apropriado. No Brasil existem três calendários: o de Vacinação da Criança (Tabela 5.4), o de Vacinação do Adolescente e o de Vacinação do Adulto e do Idoso. As vacinas presentes nos calendários vacinais são gratuitas e disponíveis a todos os brasileiros. Além disso, alguns indivíduos podem receber vacinas adicionais (Tabela 5.5) quando existe a possibilidade de exposição a agentes infecciosos em situações bastante particulares, como é o caso de viajantes para áreas endêmicas de algumas doenças, de profissionais da área de saúde ou de militares. Atualmente também existem vacinas que não estão no calendário vacinal oficial, mas que podem ser adquiridas em clínicas particulares por quem desejar. É o caso, por exemplo, da vacina contra o HPV (vírus do papiloma humano), que previne o câncer de colo de útero.

Tabela 5.4 – Calendário brasileiro de vacinação da criança

| Idade | Vacinas | Doenças evitadas |
|------------|--|---|
| 1 mês | Dose única de BCG | Formas graves de tuberculose |
| 2 meses | 1ª dose da vacina tríplice bacteriana + vacina contra <i>Haemophilus</i> | Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções causadas pelo <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B |
| | 1ª dose da vacina oral contra pólio | Poliomielite |
| | 1ª dose da vacina oral de rotavírus humano | Diarreia por rotavírus |
| | 2ª dose da vacina tríplice bacteriana + vacina contra <i>Haemophilus</i> | Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções causadas pelo <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B |
| 4 meses | 2ª dose da vacina oral contra pólio | Poliomielite |
| | 2ª dose da vacina oral de rotavírus humano | Diarreia por rotavírus |
| 6 meses | 3ª dose da vacina tríplice bacteriana + vacina contra <i>Haemophilus</i> | Difteria, tétano, coqueluche, meningite e outras infecções causadas pelo <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B |
| | 3ª dose da vacina oral contra pólio | Poliomielite |
| | 3ª dose da vacina contra hepatite B | Hepatite B |
| 9 meses | Dose inicial da vacina contra febre amarela | Febre amarela |
| 12 meses | Dose única da vacina tríplice viral | Sarampo, rubéola e caxumba |
| 15 meses | Reforço da vacina oral contra pólio | Poliomielite |
| | 1º reforço da vacina tríplice bacteriana (DPT) | Difteria, tétano e coqueluche |
| 4 a 6 anos | 2º reforço da vacina tríplice bacteriana | Difteria, tétano e coqueluche |
| | Reforço da vacina tríplice viral | Sarampo, rubéola e caxumba |
| 10 anos | Reforço da vacina contra febre amarela | Febre amarela |

Tabela 5.5 – Vacinas de usos em circunstâncias especiais

| Exposição ocupacional ou de outro tipo | Vacina |
|--|---|
| Veterinários, tratadores de animais, vítimas de mordeduras de animais | Raiva |
| Tratadores de animais e pessoas que trabalham com pele, ossos, lã e cerdas de animais | Antrax |
| Militares | Meningococo, febre amarela, antrax |
| Indivíduos que vivem e trabalham em regiões de floresta contendo carrapatos infectados com <i>Borrelia burgdorferi</i> | Doença de Lyme |
| Viajantes para determinadas áreas | Meningococo, febre amarela, cólera, febre tifoide, peste, encefalite japonesa B |

Adaptado de: BENJAMINI et al., 2002, p. 256.

5.7 Impacto das vacinas

O impacto das vacinas foi tão benéfico que muitas pessoas atualmente desconhecem os perigos das doenças por elas prevenidas. Isso faz com que em algumas partes do mundo um número cada vez maior de pais não deseje vacinar seus filhos. Além disso, existem evidências de que as vacinas possam induzir reações adversas severas. Essas reações adversas são muito variáveis, podendo ir desde eventos leves e passageiros, como febre e dor no local da aplicação, até causar a própria doença que deveriam prevenir. Esse evento é chamado de reversão de patogenicidade, que pode ocorrer quando vacinas atenuadas são utilizadas em indivíduos com algum quadro de imunossupressão. Existem indícios que ainda carecem de confirmação relacionando o uso de vacinas com o aumento de incidência de doenças autoimunes e alergias.

Embora tenha havido uma queda enorme no número de caso de doenças contra as quais existem vacinas, há várias doenças que

causam muitas mortes e contra as quais ainda não existem vacinas, como AIDS, malária, esquistossomose, hepatite C, dentre outras. Mesmo que muitas pesquisas estejam em andamento na tentativa de obtenção dessas vacinas e se conheça muito mais do funcionamento do sistema imune hoje do que na primeira metade do século XX, quando a maioria das vacinas atualmente utilizadas foram descobertas, tem sido muito difícil desenvolver novas vacinas. Com frequência, a dificuldade para se desenvolver uma vacina nova está relacionada às características do agente infeccioso, que geralmente apresenta mecanismos de escape do sistema imune. O uso de ferramentas de Biologia Molecular tem sido uma estratégia diferente daquelas utilizadas no passado, cada vez mais recorrente para desenvolver novas vacinas, embora, até agora, bem poucas vacinas tenham sido desenvolvidas com essa abordagem. Outra estratégia que tem sido bastante pesquisada é a utilização de vírus recombinantes como carregadores de抗ígenos, mesmo que até o presente momento nenhuma vacina para uso humano utilizando essa estratégia tenha sido licenciada.

Resumo

O uso de soros e vacinas tem salvado a vida de milhões de pessoas e reduzido a incidência de muitas doenças infecciosas comuns. Os soros são constituídos de anticorpos que conferem proteção imediata contra uma determinada doença, porém não conferem proteção em longo prazo. Já as vacinas são constituídas de抗ígenos do agente infeccioso contra o qual se deseja induzir proteção, além de substâncias inespecíficas chamadas adjuvantes. A resposta imune gerada pelas vacinas aparece algumas semanas após sua administração, porém a imunidade pode durar por muitos anos. As vacinas podem ser constituídas de micro-organismos inteiros atenuados ou inativados ou de macromoléculas purificadas, cada tipo de vacina oferece vantagens e desvantagens. Atualmente há inúmeras outras estratégias sendo estudadas na tentativa de se gerar proteção contra diversas doenças contra os quais ainda não existem vacinas eficazes disponíveis.

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: <www.saude.gov.br>. Acesso em: 10 mar. 2010.

MURPHY, K. M.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Janeway's immunobiology*. 7. ed. Garland Publishing Philadelphia, 2008.

PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A. *Vaccines*. 5. ed. Philadelphia, Pensylvania, EUA: Saunders Company, 2008.

CAPÍTULO 6



Hipersensibilidades e doenças autoimunes

Ao estudar este capítulo, você compreenderá os mecanismos imunológicos envolvidos em algumas reações imunes consideradas inapropriadas, visto que, em vez conferirem proteção, provocam alguns sintomas e sinais clínicos indesejáveis e conhecidos por vocês, como a rinite alérgica, a asma e a incompatibilidade Rh. Estamos nos referindo às reações de hipersensibilidade. Elas são de quatro tipos, ou seja, tipo I, II, III e IV. As reações de hipersensibilidade do tipo I, II e III são mediadas por anticorpos, enquanto a reação de hipersensibilidade do tipo IV é mediada pelas células T. Discutiremos também a autoimunidade e os fatores que podem contribuir com a manifestação de doenças autoimunes. Essas doenças envolvem a ativação de mecanismos imunológicos que também são indesejáveis na medida em que colaboram com o comprometimento ou a destruição do(s) órgão(s) e/ou do(s) tecido(s) envolvido(s).

6.1 Introdução

Há fenômenos imunológicos que nem sempre implicam na proteção dos organismos. Neste capítulo abordaremos mecanismos imunológicos que, por vezes, são exacerbados e, ao contrário de conferirem proteção, podem gerar respostas que levem à lesão de certos tecidos dos organismos.

Vamos iniciar o nosso estudo com as reações de hipersensibilidades. Elas podem ser de quatro tipos: I, II, III e IV. De um modo geral, podemos dizer que as reações de hipersensibilidades do tipo I, II e III são mediadas por anticorpos, enquanto as reações de hipersensibilidades do tipo IV são mediadas por células. Cada uma delas deflagra mecanismos distintos que podem causar diferentes doenças.

Alérgenos

São substâncias que em alguns indivíduos têm a capacidade de induzir a produção de anticorpos IgE específicos em humanos [anticorpos anafiláticos (do latim, *ana* = contra, *filaxis* = proteção)]. Essas substâncias são encontradas no meio ambiente e podem invadir os organismos por diferentes vias, ou seja, através da inalação, de componentes da dieta ou até mesmo da administração de certos fármacos.

6.2 Hipersensibilidade do tipo I

Comecemos pela reação de **hipersensibilidade do tipo I**. Essa reação é também conhecida como reação de hipersensibilidade imediata ou anafilática.

Como dito anteriormente, essa reação é considerada genericamente como “mediada por anticorpos”. A classe de anticorpo envolvida nessas reações é a IgE. Essas reações são causadas pela ligação cruzada de抗ígenos, nesse caso os **alérgenos**, às moléculas de IgE,

que, por sua vez, estão ligadas ao **Fc ϵ RI** na superfície dos mastócitos e basófilos. Mas como isso acontece?

Vamos detalhar o processo. Após a primeira exposição ao alérgeno, alguns indivíduos respondem ativando fortemente linfócitos T CD4 $^{+}$ do tipo T_H2, que, por sua vez, induzem a produção de anticorpos preferencialmente da classe IgE. A síntese de IgE pode ser regulada por diversos fatores: hereditários e ambientais (exposição natural ao alérgeno). Cabe destacar que a IgE tem uma alta afinidade pelo seu receptor Fc ϵ RI (Fc ϵ RI, do inglês, *High Affinity IgE Receptor*, que significa receptor de alta afinidade para a porção Fc de IgE), que é encontrado na superfície de mastócitos e basófilos. As moléculas de IgE, uma vez produzidas, podem se ligar aos receptores presentes nessas células. Os mastócitos e os basófilos são essenciais nessa etapa e, por esse motivo, são conhecidos como componentes celulares primários. Exposições sucessivas ao mesmo alérgeno podem deflagrar uma reação de hipersensibilidade caso o alérgeno forme uma ponte (ligação de forma cruzada) com duas moléculas de IgE adjacentes que estão ligadas aos mastócitos ou basófilos. Quando isso acontece, observam-se a degranulação e a liberação de mediadores químicos estocados em mastócitos (ou basófilos) (Figura 6.1).

A liberação desses mediadores químicos requer energia, e uma série de eventos é observada:

- a) aumento no influxo de cálcio nos mastócitos;
- b) ativação da enzima fosfodiesterase intracelular;
- c) queda nos níveis intracelulares de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc);
- d) migração dos grânulos citoplasmáticos contendo os mediadores para a superfície da célula;
- e) fusão das membranas dos grânulos com a membrana celular; e
- f) liberação do conteúdo dos grânulos (mediadores químicos) para o exterior da célula (exocitose).

Os sintomas decorrentes da reação de hipersensibilidade do tipo I, mediada por IgE, são explicados pela ação dos mediadores químicos liberados pelos mastócitos (ou basófilos) ativados.

Esta sigla é utilizada para se referir ao receptor ao qual a porção Fc da molécula de IgE se liga.

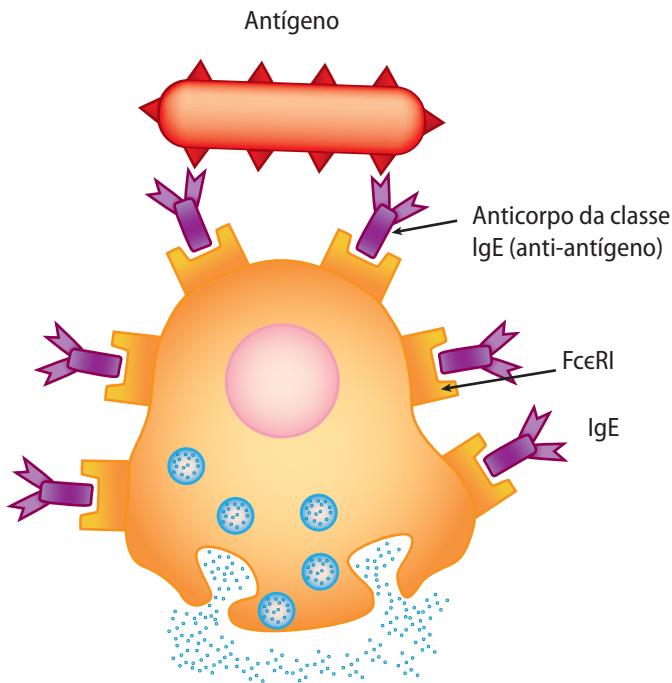


Figura 6.1 - Degranulação de mastócitos mediada pela ligação cruzada do antígeno às moléculas de IgE adjacentes ligadas ao receptor Fc ϵ RI.
(Adaptado de COICO; SUNSHINE, 2009, p. 223).

Esses mediadores químicos responsáveis pelas reações anafiláticas são divididos em dois grupos: os pré-formados e os neoformados (Tabela 6.1).

Os mediadores pré-formados são aqueles sintetizados previamente pela deflagração da reação e armazenados nos grânulos de mastócitos (ou basófilos). São eles a histamina, a serotonina, os fatores quimiotáticos, a heparina, as enzimas e os proteoglicanos.

Os mediadores neoformados incluem os mediadores lipídicos e várias citocinas. Os mediadores lipídicos são formados pela ação da enzima fosfolipase. Após a degra-

nulação dos mastócitos (ou basófilos), as alterações nas membranas celulares fazem com que a enzima fosfolipase A2 libere o ácido araquidônico. O ácido araquidônico é subsequentemente degradado, via lipo-oxigenase ou ciclo-oxigenase, a leucotrienos ou prostaglandinas e mediadores tromboxanos, respectivamente. A lisofosforilcolina acetilada forma o fator ativador de plaqueta (PAF, do inglês, Platelet-activating Factor). Dentre as citocinas (mediadores neoformados) merecem destaque TNF- α , IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-3 e GM-CSF.

Em suma, os efeitos farmacológicos decorrentes da liberação desses mediadores químicos são o aumento da permeabilidade vascular, a contração da musculatura lisa e o influxo de eosinófilos.

Choque anafilático

Um quadro bastante grave e que pode ser letal é o “choque anafilático”. Nesse caso em particular, há uma ativação disseminada de mastócitos que, após a degranulação e a liberação dos mediadores químicos (histamina em alta concentração), provoca um aumento da permeabilidade vascular, o líquido do espaço vascular é, então, extravasado para o extracelular e há significativa queda no tônus vascular e da pressão sanguínea, constrição das vias respiratórias e fechamento de epiglote, causando o sufocamento.

A reação da “fase tardia” se caracteriza por uma resposta inflamatória a componentes da matriz granular dos mastócitos, que pode ser potencializada pela ação de citocinas responsáveis pelo recrutamento de eosinófilos e pelo aumento da expressão de moléculas de adesão celular.

Tabela 6.1 – Principais mediadores da anafilaxia

| | Mediadores | Características estruturais | Funções principais |
|--------------|---|--|--|
| Pré-formados | Histamina | β imidazol etilamina | Contração de músculo liso Aumento da permeabilidade vascular |
| | | PM 111 kDa | Produção de muco |
| | Serotonina (roedores e herbívoros) | 5-hidroxitriptamina PM 176 kDa | Contração de músculo liso, aumento da permeabilidade vascular |
| | Citocinas | TNF PM 51 kDa | Recrutamento de leucócitos |
| | Leucotrienos, C4,D4,E4 | Derivados do ácido araquidônico (via lipoxigenase) | Contração prolongada de músculo liso, aumento da permeabilidade vascular, produção de muco |
| Neoformados | Prostaglandina D2 | Derivados do ácido araquidônico (via ciclo-oxigenase) | Vasodilatação e broncoconstricção |
| | PAF (<i>Platelet-activating Factor</i> , do inglês, fator ativador de plaquetas) | Fosfolipídeos derivados da fosforilcolina | Aumento da permeabilidade vascular, broncoconstricção, migração e ativação de leucócitos |
| | Citocinas (TNF, IL-1, IL-4, IL-5, IL-3 e GM-CSF) | Hormônios proteicos PM < 26 kDa TNF (trímero) PM 51 kDa | Recrutamento e ativação de leucócitos, produção e maturação de células efetoras |

Adaptado de CALICH; VAZ, 2009, p. 215.

A Tabela 6.2 a seguir apresenta um sumário que relaciona a patologia com os alérgenos, a via de entrada e as reações observadas nos organismos.

Tabela 6.2 – Sumário relacionando a patologia, os alérgenos, a via de entrada e as reações de hipersensibilidade do tipo I

| Patologia | Alérgenos/ Exposição | Via de entrada/Acesso ao organismo | Efeitos clínicos |
|-----------------------------|-----------------------------------|---|---|
| Anafilaxia sistêmica | drogas, soro, venenos, sementes | Intravenosa | edema, aumento de permeabilidade vascular, oclusão da traqueia, colapso do sistema circulatório, morte |
| Anafilaxia local | venenos de insetos | Subcutânea | edema local |
| Rinite alérgica | pólen, fezes de ácaros | Inalação | vasodilatação e edema da mucosa nasal, obstrução nasal e espirros, aumento da secreção de muco |
| Asma brônquica | pólen, fezes de ácaros | Inalação | contração da musculatura lisa, redução do fluxo aéreo, aumento da secreção de muco, inflamação das vias respiratórias |
| Alergia a produtos da dieta | leite, trigo, ovos, frutos do mar | Oral – estes alérgenos precisam ser absorvidos através da mucosa da boca e dos lábios ou ser resistentes a enzimas digestivas e ao pH baixo | coceira, urticária, vômito, diarreia, anafilaxia |

Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 557.

Na nossa rotina, o contato com as substâncias (alérgenos) é frequente. A pergunta que surge é a seguinte: por que somente em algumas pessoas essas substâncias ativam mecanismos imunes exacerbados, característicos de reações de hipersensibilidade do tipo I?

Para responder a esse questionamento, devemos considerar vários fatores, entre eles o genético e o ambiental. Ao que parece, há uma predisposição genética às doenças atópicas. Vale aqui uma explicação sobre o termo **atopia**. Há evidências que sugerem que as reações de hipersensibilidade mediadas por IgE sejam geneticamente controladas por genes ligados ao MHC que se encontram no cromossomo 6. Outros genes de grande importância são aqueles responsáveis pela regulação da expressão da molécula de IgE. A cadeia β do receptor de IgE de alta afinidade, o Fc ϵ RI, é codificada

Atopia

Atopia é palavra grega que significa “singularidade” e é usada para as reações de hipersensibilidade do tipo I mediadas por IgE. A atopia é influenciada por inúmeros genes.

pelo gene localizado no cromossomo 11. Ressaltam-se, ainda, os grupos de genes localizados no cromossomo 5 que são envolvidos no direcionamento da resposta $T_H2/IL-4$, que inclui a expressão de várias citocinas responsáveis pelo *switch* (troca) de classe da IgE, pela sobrevivência de eosinófilos e pela proliferação de mastócitos, como a IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 e GM-CSF. Em pacientes atópicos verifica-se que polimorfismos no promotor do gene da IL-4 estão associados a um aumento nos níveis de IgE.

Quanto aos fatores ambientais, há evidências que sugerem a associação desses fatores a um aumento da incidência de alergias no mundo. Essas evidências levaram à formulação da “hipótese da higiene”, que é baseada em algumas constatações, como, por exemplo, a indução da ativação de linfócitos T CD4⁺ do tipo T_H1 decorrente da exposição a micro-organismos na infância que leva a uma diminuição no risco do desenvolvimento de doenças alérgicas; a asma é rara nas áreas em que a tuberculose é comum; crescer em fazendas e estar exposto ao gado diminuem o risco de asma. Todos esses relatos servem de subsídio para as pesquisas que buscam ainda uma melhor compreensão sobre esse tema.

Tratamento

- Identificar, evitar e remover os alérgenos.
- Terapia de dessensibilização ou hipossensibilização – consiste na administração de quantidades muito pequenas do alérgeno. Com o tempo, a quantidade de alérgeno é aumentada de forma progressiva. Esse procedimento leva à formação de anticorpos da classe IgG que se ligam ao antígeno. Desse modo, a ligação do antígeno às moléculas de IgE fica impedida, evitando-se, assim, o desencadeamento de reações anafiláticas. Esse tipo de tratamento muitas vezes é eficaz, uma vez que induz uma mudança, um desvio de uma resposta T_H2 (IgE) para T_H1 , reduzindo os níveis de IgE e o número de mastócitos no local da reação alérgica.
- Uso de bloqueadores dos efeitos finais da liberação do mediador – agonistas β_2 adrenérgicos – por exemplo, o salbutamol

simula os efeitos do sistema nervoso simpático e atua evitando a contração da musculatura lisa dos brônquios em pacientes asmáticos.

- A epinefrina (adrenalina) é utilizada no tratamento da anafilaxia quando a pressão arterial sofre uma queda significativa pelo extravasamento do líquido dos vasos para os tecidos, causado pelo aumento na permeabilidade vascular. A epinefrina aumenta a pressão arterial e reverte a obstrução das vias aéreas.
- Acredita-se que a atuação do cromoglicato de sódio seja na estabilização dos mastócitos e na redução da sua degranulação. É utilizado principalmente nas crises de asma.
- Os corticosteroides atuam de modo a evitar a reação de hipersensibilidade imediata, a fase tardia e a inflamação alérgica crônica.
- Os anti-histamínicos bloqueiam os receptores de histamina específicos.
- Os bloqueadores de receptores de leucotrieno, os inibidores da ciclo-oxigenase e os broncodilatadores são, por vezes, utilizados para aliviar os sintomas alérgicos.

6.3 Hipersensibilidade do tipo II

Passemos agora a abordar as **reações de hipersensibilidade do tipo II ou citotóxica**.

Essas reações também são mediadas por anticorpos. Os anticorpos são da classe IgG ou IgM, que se ligam à superfície celular ou à matriz extracelular (membrana basal). Como consequência dessa ligação, a célula-alvo é danificada ou destruída. Os mecanismos que levam à destruição da célula-alvo são os seguintes:

1. **Reações que envolvem a participação do Sistema Complemento:** a ligação dos anticorpos à superfície celular pode levar à ativação do Sistema Complemento. Como consequência da ativação da cascata do complemento, observa-se a lise da

célula-alvo ou a opsonização, ou seja, a fagocitose facilitada, mediada por receptores para a porção Fc ou para o componente C3b, que leva à destruição das células-alvo por macrófagos e neutrófilos;

2. **Citotoxicidade dependente de anticorpos:** as células-alvo recobertas por anticorpos são lisadas pela ação de células citotóxicas dependentes de anticorpos (ADCC, do inglês, Antibody-dependent Cell-mediated Cytolysis, que significa citólise mediada por célula, dependente de anticorpo) que possuem na superfície de membrana receptores para porção Fc de IgG; e
3. **Disfunção celular mediada por anticorpos:** a produção de anticorpos específicos para receptores pode levar à perda funcional normal desses receptores. Como exemplo, citamos os autoanticorpos produzidos contra os receptores de acetilcolina presentes nas sinapses das placas motoras dos músculos esqueléticos. Esses autoanticorpos, ao se ligarem aos receptores de acetilcolina, impedem a ligação da acetilcolina nesses receptores, interferem na atividade funcional desses receptores e provocam fraqueza muscular (Figura 6.2).

As reações de hipersensibilidade do tipo II ou citotóxicas se verificam nas seguintes situações:

- **A incompatibilidade do sistema ABO:** quando a transfusão de sangue é realizada entre indivíduos incompatíveis no sistema ABO, observa-se a destruição das hemácias do doador. Essa destruição é explicada pela ligação dos anticorpos naturais presentes no receptor. Como esses anticorpos naturais são da classe IgM e sendo essa molécula altamente eficiente na ativação do Sistema Complemento, o resultado desse procedimento desastroso é a lise das hemácias (hemólise).
- **A incompatibilidade com o fator Rh:** a sensibilização de uma mãe Rh- poderá ocorrer durante a primeira gestação. Essa sensibilização poderá acontecer se o feto for Rh+ e se alguns eritrócitos desse bebê atingirem a circulação materna durante o parto. A mãe, ao ser exposta a esses eritrócitos Rh+, produzirá anticorpos contra o fator Rh da classe IgG. Sabemos que

essa molécula é capaz de atravessar a placenta. Desse modo, em uma segunda gestação de um filho Rh+, esses anticorpos poderão atravessar a placenta, ligar-se aos determinantes Rh+ e promover a destruição dos eritrócitos do feto pelo efeito opsonizante da porção Fc de IgG, que interage com os receptores para a porção Fc presentes em células fagocíticas do baço e do fígado. Esse quadro é conhecido como doença hemolítica do recém-nascido.

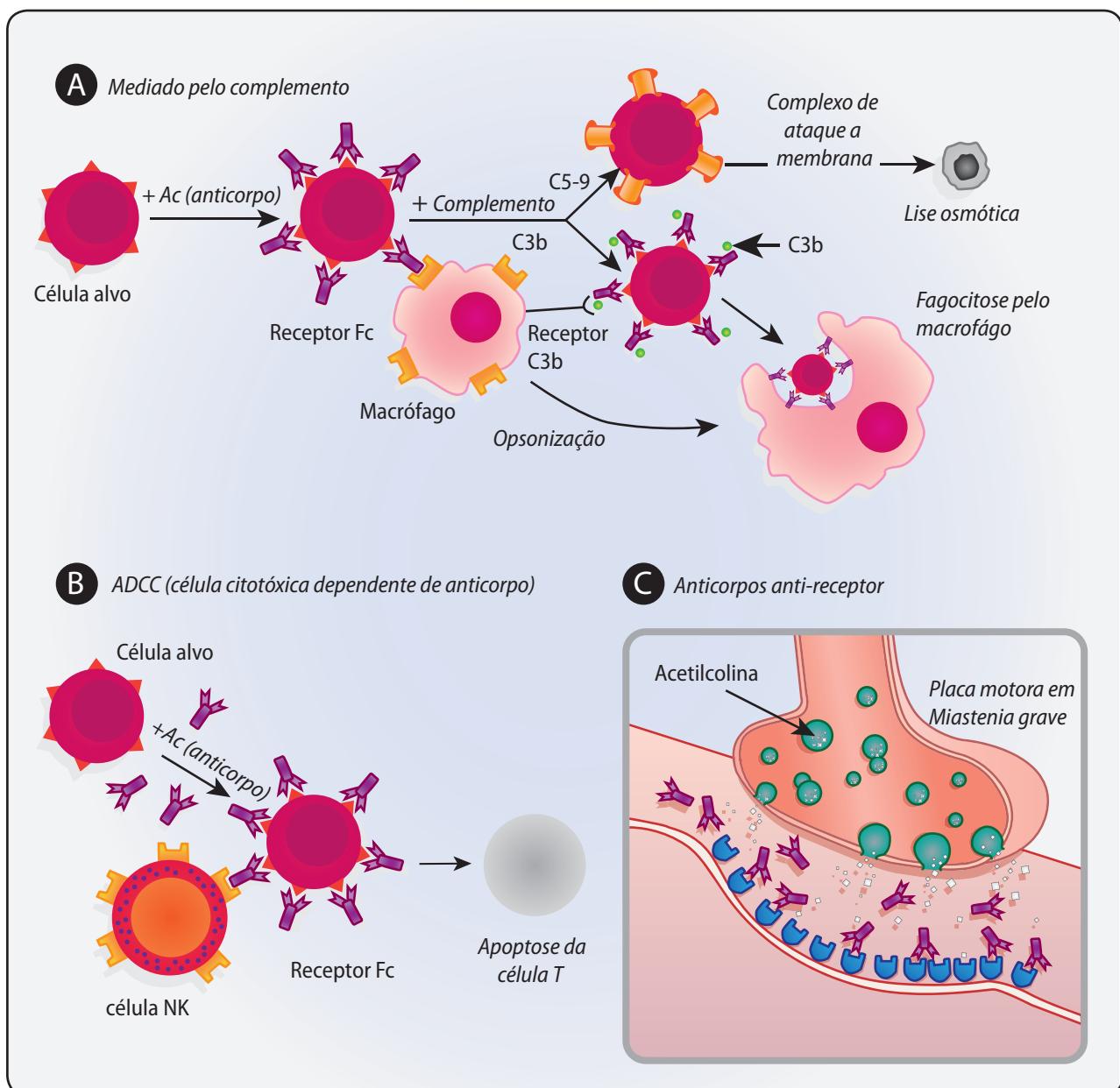


Figura 6.2 – Mecanismos imunológicos envolvidos nas reações de hipersensibilidade do tipo II.
(Adaptado de COICO; SUNSHINE, 2009, p. 238).

- Reações induzidas por drogas:** algumas drogas são **haptenos**. Alguns fármacos se ligam a células ou a outros componentes do sangue e induzem a produção de anticorpos. A ligação desses anticorpos às células revestidas com essas drogas pode levar à destruição das células-alvo pelos mecanismos citados nos itens anteriormente.
- Reações autoimunes:** esta situação se verifica quando há a produção de autoanticorpos contra componentes do próprio organismo. A ligação desses autoanticorpos aos componentes próprios pode levar à sua destruição. Um exemplo é a púrpura trombocitopênica idiopática. Nesses casos, os anticorpos são produzidos contra as plaquetas do próprio indivíduo. Como consequência dessa ligação, as plaquetas são destruídas pela ativação do Sistema Complemento (lise) ou pela ação de células fagocíticas (opsonização). A perda de plaquetas leva ao sangramento, cujo quadro clínico é conhecido como púrpura.

Haptenos

Substâncias de baixo peso molecular que, por si só, não são imunogênicas; contudo, se acopladas a um carreador, tornam-se potentes imunógenos.

6.4 Reações de hipersensibilidade do tipo III

Esta reação é mediada por anticorpos que são produzidos após a exposição a抗ígenos de natureza solúvel. A ligação desses anticorpos aos抗ígenos solúveis pode levar à formação de imunocomplexos.

Em geral, os imunocomplexos são formados quando a quantidade de抗ígeno é superior à dos anticorpos. Esses imunocomplexos podem causar vários tipos de danos ao organismo. Destacam-se os casos em que se observa um excesso de抗ígeno, como, por exemplo, em infecções persistentes ou em doenças autoimunes. Nessas situações, verifica-se a formação de imunocomplexos solúveis na corrente sanguínea que se depositam na parede das arteríolas, glomerulos e juntas (Figura 6.3).

Outra possibilidade de formação de imunocomplexos é verificada nas situações em que pacientes sensibilizados são expostos à inalação repetida de抗ígenos. Nessa situação observam-se a formação e a deposição extravascular dos imunocomplexos nos tecidos.

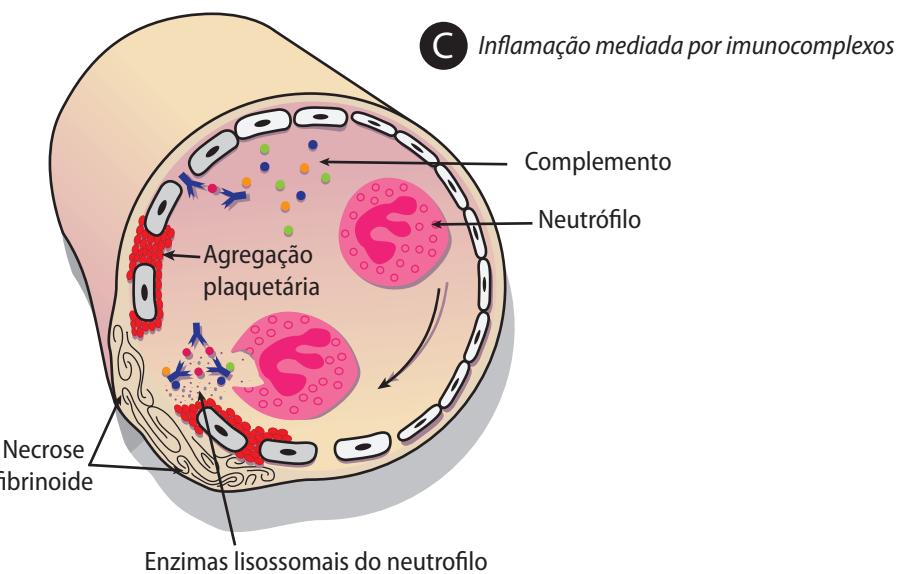
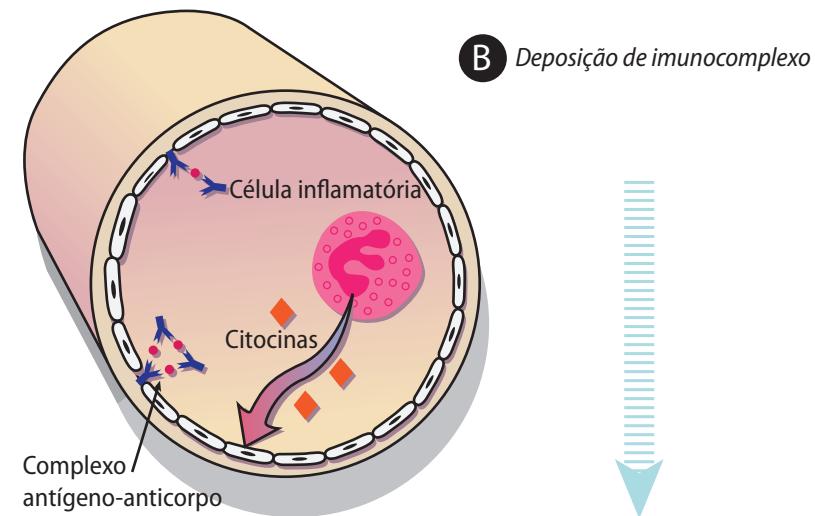
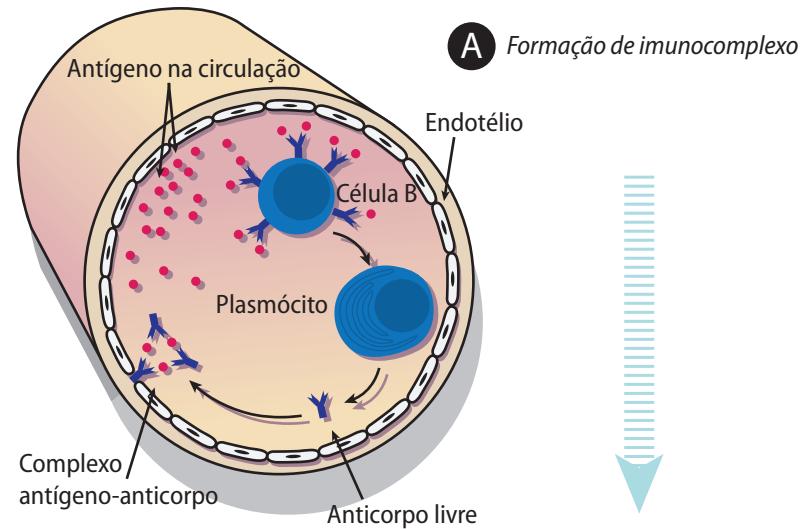


Figura 6.3 – Mecanismos imunológicos envolvidos nas reações de hipersensibilidade do tipo III. (Adaptado de COICO; SUNSHINE, 2009, p. 242).

As reações de hipersensibilidade do tipo III podem ser sistêmicas ou localizadas:

Reação sistêmica (doença do soro)

Previamente ao advento dos antibióticos, o soro imune de equinos (soroterapia) era utilizado no tratamento de pacientes com infecções. Transcorrido um período equivalente entre sete e dez dias da injeção do soro heterólogo, observavam-se nesses pacientes a formação e a deposição de imunocomplexos nos tecidos, seguidas de reações inflamatórias intensas. Os pacientes apresentavam sinais clínicos caracterizados por febre, calafrios, adenopatia, vermelhidão, artrite, dores nas articulações e, em alguns casos, glomerulonefrite.

Hoje sabemos que a injeção de grandes quantidades de soro heterólogo de uma espécie diferente é capaz de induzir no organismo receptor a produção de anticorpos contra a imunoglobulina não própria (presente no soro heterólogo previamente administrado). Quando esses imunocomplexos são formados, observam-se os sintomas conhecidos da doença do soro.

O conhecimento sobre esses mecanismos que levam à formação desses imunocomplexos e às respectivas consequências clínicas assume grande importância atual, uma vez que anticorpos monoclonais produzidos em camundongos ou ratos são utilizados em pacientes com neoplasia, doenças autoimunes e rejeição de enxerto.

Reação localizada (reação de Arthus)

Esta reação tem essa denominação porque foi constatada pelo pesquisador francês Arthus, que, em 1903, observou reações cada vez mais graves em coelhos à medida que o soro de cavalo era repetidamente injetado nesses animais, por via intradérmica. Inicialmente, nas primeiras 24 horas após a injeção do soro de cavalo, observavam-se nos coelhos, no local da injeção, vermelhidão e edema. Contudo, com as injeções subsequentes do soro de cavalo, lesões hemorrágicas acompanhadas de necrose eram percebidas. Esse tipo de reação de hipersensibilidade do tipo III caracteriza-se pela formação de imunocomplexos localizados.

Cabe ressaltar que a ativação do complemento, a migração e o acúmulo de leucócitos polimorfonucleares são eventos observados nas reações de hipersensibilidade do tipo III, quer sejam essas sistêmicas ou localizadas.

Reações de hipersensibilidade do tipo III são observadas, ainda, em pacientes que apresentam certos tipos de doenças autoimunes. A formação de imunocomplexos é observada em pacientes que desenvolvem, por exemplo, o lúpus eritematoso sistêmico. Nessa condição, antígenos endógenos como o DNA pode servir de alvo para autoanticorpos. Do mesmo modo, pacientes com artrite reumatoide apresentam no soro o fator reumatoide, que é um autoanticorpo (IgM) que se liga à porção Fc de IgG normal.

6.5 Reações de hipersensibilidade do tipo IV ou tardia

Este tipo de reação de hipersensibilidade, diferentemente das reações de hipersensibilidades previamente estudadas, é mediado por linfócitos T antígeno-específicos.

Por que chamamos essa reação de tardia?

A razão é temporal. Após a inoculação do antígeno, cerca de um a três dias são necessários para que a resposta imune seja observada.

Um exemplo clássico dessa reação é o teste tuberculínico (teste de Mantoux), que é utilizado com o objetivo de avaliar se o indivíduo foi previamente infectado ou vacinado com *Mycobacterium tuberculosis*. Para tanto, uma pequena quantidade de antígeno, usualmente o extrato proteico de *M. tuberculosis*, o PPD (do inglês, *Purified Protein Derivative*), é inoculado por via intradérmica. A reação se desenvolve lentamente entre 12 e 24 horas após a injeção do antígeno e atinge a reatividade máxima após 24 a 48 horas. Observam-se inicialmente eritema (vermelhidão) e um infiltrado neutrofílico. Posteriormente, um infiltrado constituído de células mononucleares (linfócitos e macrófagos) é acompanhado de enrijecimento da região do inóculo.

Mecanismos celulares envolvidos nessa reação

Essa reação é mediada por linfócitos T do tipo $T_H 1$, que migram para o local da inoculação e reconhecem os peptídeos antigênicos associados às moléculas de Classe II do MHC. Várias citocinas inflamatórias são liberadas, entre elas destacamos IFN- γ , IL-8, TNF- α , IL-3 e GM-CSF. Essas citocinas promovem aumento na permeabilidade vascular, eritema, recrutamento e ativação de macrófagos no local da inoculação. Outra citocina liberada por essas células é a IL-12, que tem a propriedade de inibir $T_H 2$, direcionando, portanto, a resposta para $T_H 1$, que libera citocinas que ativarão macrófagos.

Consequências da reação de hipersensibilidade tardia

- Destrução dos抗ígenos pelos macrófagos (ingestão, ativação de macrófagos pelo IFN- γ e degradação dos抗ígenos pela ação de enzimas lisossomais e por produtos derivados da explosão respiratória).
- Nos casos em que o抗ígeno encontra-se protegido (ovo de esquistossoma e microbactérias encapsuladas com lipídeos), observa-se um acúmulo de macrófagos que leva ao agrupamento de células epitelioides que se fundem para formar células gigantes e contribuir para o granuloma. Como pode haver a substituição de tecido normal por granulomas, isso pode levar à **necrose caseosa**.

Necrose caseosa

Necrose caseosa ou necrose de caseificação é outra forma peculiar de necrose que recebe esse nome porque a estrutura necrosada assemelha-se grosseiramente à massa grumosa do queijo branco, fresco (*caseum*).

Classificação das reações de hipersensibilidade do tipo IV

As reações de hipersensibilidade do tipo IV se classificam em:

- contato;
- tuberculina; e
- granulomatosa.

Essa classificação é baseada no tempo, em sintomas clínicos e nas observações histológicas (Figura 6.4).

| As variantes das reações de hipersensibilidade do tipo IV | |
|---|------------------------|
| Reação tardia | Tempo máximo de reação |
| Contato | 48 - 72 horas |
| Tuberculina | 48 - 72 horas |
| Granulomatosa | 21 - 28 dias |

Figura 6.4 – As variantes das reações de hipersensibilidade do tipo tardia. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 478).

Os linfócitos T CD8⁺ podem estar presentes nas reações de hipersensibilidade tipo IV e causar dano aos tecidos através da ativação de mecanismos de citotoxicidade. Isso se observa com certos agentes químicos, solúveis em lipídeos, que são capazes de induzir respostas de hipersensibilidade tardia. Esses agentes químicos, ao atravessarem a membrana celular, reagem com proteínas citosólicas e geram peptídeos modificados. Esses peptídeos são translocados para o retículo endoplasmático, expostos na superfície celular e associados às moléculas de Classe I do MHC. As células apresentando esses peptídeos podem ser destruídas pela ação dos linfócitos T CD8⁺. Como exemplo citamos a substância química da hera venenosa, o pentadecilcatecol (Figura 6.5).

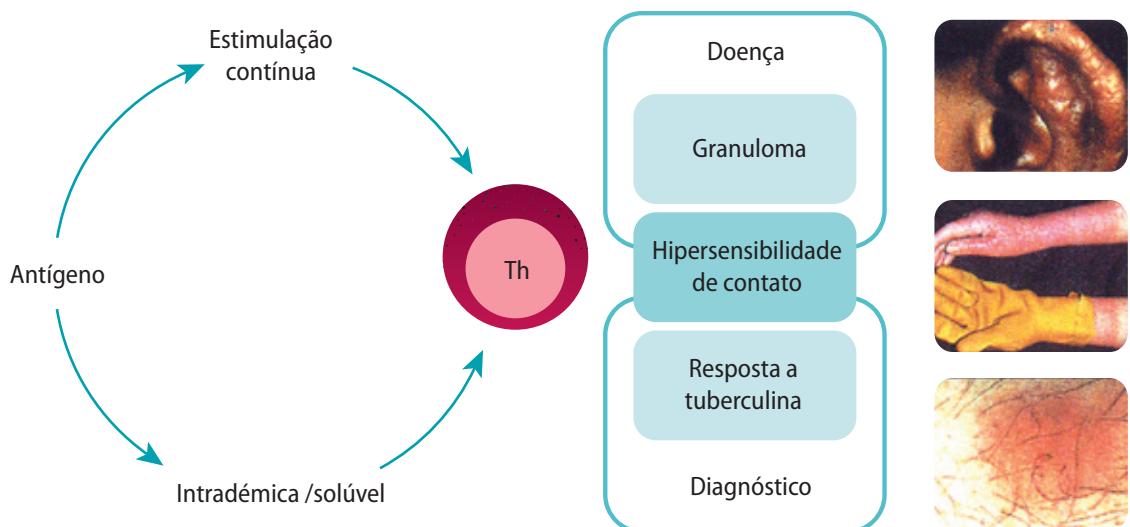


Figura 6.5 – Papel dos linfócitos T auxiliadores específicos nas reações de hipersensibilidade do tipo IV. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 483).

6.6 Doenças autoimunes

Primeiramente precisamos ter clareza sobre o conceito de doença *autoimune* e de *autoimunidade*. É importante entender o significado desses termos e saber distingui-los.

Certo número de **doenças** são consideradas **autoimunes** pela sua natureza. Isso significa dizer que os mecanismos imunológicos observados nessas patologias são resultantes de uma “falha” na to-

lerância aos constituintes próprios do organismo. Esses mecanismos imunológicos podem envolver a participação de linfócitos T e de moléculas de anticorpos e afetar (danificar) vários órgãos e/ou tecidos do organismo. Nessas doenças, um ou mais de um tipo de reações de hipersensibilidade podem ser observados.

Autoimunidade, diferentemente da doença autoimune, pode ser entendida como uma resposta do organismo que nem sempre é prejudicial e pode ser observada durante o desenvolvimento de uma resposta imune. Como exemplo citamos o reconhecimento dos idiotipos próprios por anticorpos anti-idiotipos, essenciais para a diversificação e a regulação das respostas imunes.

Passemos a entender as causas da autoimunidade:

Existe uma série de fatores que, de forma individual ou associados e sob certas condições, podem contribuir para o desenvolvimento de uma doença autoimune. Dentre eles citamos os fatores físicos e químicos, a idade, o sexo, os fatores hormonais e biológicos/infecciosos, a exposição a estímulos estressores e a predisposição genética. A Figura 6.6 mostra a associação entre algumas moléculas do MHC e o desenvolvimento de certas doenças autoimunes.

Os mecanismos imunopatológicos que podem levar a doenças autoimunes são vários, entre eles citamos as anormalidades na seleção dos linfócitos (já discutidas no Capítulo 4, em que foi vista a biologia dos linfócitos T), a alteração na tolerância periférica, a ativação linfocitária policlonal, as reações cruzadas entre antígenos estranhos e próprios ao organismo, a regulação anormal de respostas linfocitárias e a formação de neoantígenos ou liberação de antígenos sequestrados, previamente não apresentados para a tolerância imunológica.

As doenças autoimunes podem ser classificadas em doenças órgão/tecido específicas ou sistêmicas.

Nas doenças autoimunes órgão/tecido específicas, a resposta imune é dirigida contra抗ígenos associados a um órgão/tecido-alvo e, nas doenças autoimunes sistêmicas, as reações imunes são dirigidas contra抗ígenos associados a vários órgãos/tecidos-alvo. Na figura 6.7 temos um sumário dessas doenças.

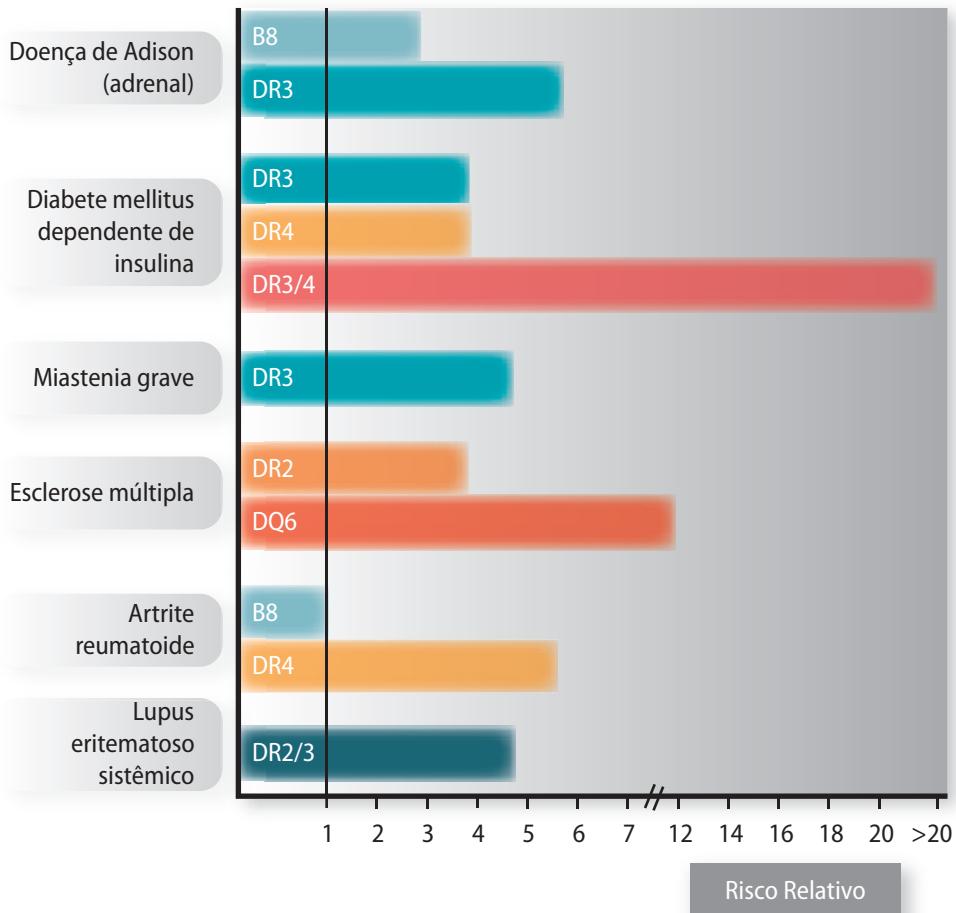


Figura 6.6 – Associações HLA em doenças. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 368).

Com relação ao diagnóstico dessas doenças autoimunes, o que devemos considerar?

As evidências clínicas (sintomas e ausência de outra causa ou de uma reação secundária) devem ser acompanhadas de uma avaliação criteriosa da presença de reações autoimunes. Para tanto, ensaios imunológicos que permitam a detecção de autoanticorpos e/ou células auto-T reativas devem ser conduzidos. Os testes imunológicos, comumente utilizados para essa finalidade, são os de imunofluorescência, ELISA e radioimunoensaio, embora, em alguns casos, testes bioquímicos sejam também solicitados.

Como é feito o tratamento das doenças autoimunes?

O tratamento das doenças autoimunes envolve diferentes abordagens:



Figura 6.7 – O espectro das doenças autoimunes. (Adaptado de MALE et al., 2006, p. 367).

1. administração de drogas anti-inflamatórias não esteroidais, drogas anti-inflamatórias esteroidais e drogas citotóxicas imunossupressoras;
2. administração de drogas que atuam no controle metabólico. A vitamina B12 é administrada em pacientes que apresentam anemia perniciosa;
3. drogas anticolinesterase e timectomia, indicadas na *Miastenia gravis*. A *Miastenia gravis* é uma doença neuromuscular que

leva à fraqueza e fadiga muscular anormalmente rápida dos músculos voluntários. A fraqueza é causada pela ligação de anticorpos aos receptores de acetilcolina presentes na junção neuromuscular pós-sináptica, bloqueando, portanto, a ligação da acetilcolina no referido receptor;

4. plasmaferesis (terapia que envolve a remoção do plasma, que é substituído por albumina do soro normal ou por plasma). Pode ser indicada no tratamento de doenças como a de Guillain-Barré, no lúpus eritematoso sistêmico, na síndrome de Goodpasture. A síndrome de Goodpasture é também conhecida como doença de Goodpasture e doença antimembrana basal glomerular. É uma rara condição caracterizada por rápida destruição dos rins e por hemorragia dos pulmões; e
5. esplenectomia (doenças hemolíticas e na púrpura trombocitopênica idiopática).

Resumo

Aprendemos que as reações de hipersensibilidade do tipo I são mediadas por anticorpos. Nessa resposta, os alérgenos induzem à ativação de linfócitos T_H2. Essas células liberam citocinas que resultam na produção de anticorpos da classe IgE. Esses anticorpos se ligam a receptores presentes em mastócitos e/ou basófilos. Após sucessivas exposições ao mesmo alérgeno, poderemos observar a ligação cruzada de duas moléculas de IgE adjacentes, e tal evento poderá estimular a liberação de mediadores químicos presentes nos grânulos de mastócitos e basófilos. Esses mediadores químicos são responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular, pela contração da musculatura lisa e pelo recrutamento de eosinófilos. O resultado dessas reações provoca quadros de rinite alérgica, alergia a alimentos, asma e reações sistêmicas graves, como o choque anafilático.

As reações de hipersensibilidade do tipo II são mediadas por anticorpos da classe IgM e IgG. Esses anticorpos se ligam à superfície das células-alvo e causam danos através da ativação de me-

canismos que envolvem a ativação do Sistema Complemento e a ativação de células fagocíticas (opsonização) e de células citotóxicas dependentes de anticorpos. Um exemplo bastante conhecido desse tipo de reação é a incompatibilidade do sistema ABO e Rh.

As reações de hipersensibilidade do tipo III, igualmente, são mediadas por anticorpos. São formados complexos imunes (antígenos–anticorpos) que têm a propriedade de ativar o Sistema Complemento. Uma vez liberados, alguns componentes desse sistema poderão causar o aumento da permeabilidade vascular e a quimiotaxia e favorecer a fagocitose. Esses eventos são observados nas reações de hipersensibilidade que podem se manifestar de forma sistêmica ou localizada.

As reações de hipersensibilidade do tipo IV são mediadas por linfócitos T. Essa reação envolve a participação de linfócitos $T_H 1$ e a secreção de citocinas e quimiocinas que levam à ativação de macrófagos. As reações de hipersensibilidade são classificadas em reações de hipersensibilidade de contato, tuberculínica e granulomatosa.

Referências

ABBAS, Abul K.; LICHTMANN, Andrew H.; PILLAI, Shiz.

Cellular and Molecular Immunology. 6. ed. Philadelphia, PA:
Saunders Elsevier, 2007.

CALICH, Vera; VAZ, Celidéia. *Imunologia*. 2. ed. Rio de Janeiro:
Revinter, 2009. p.215.

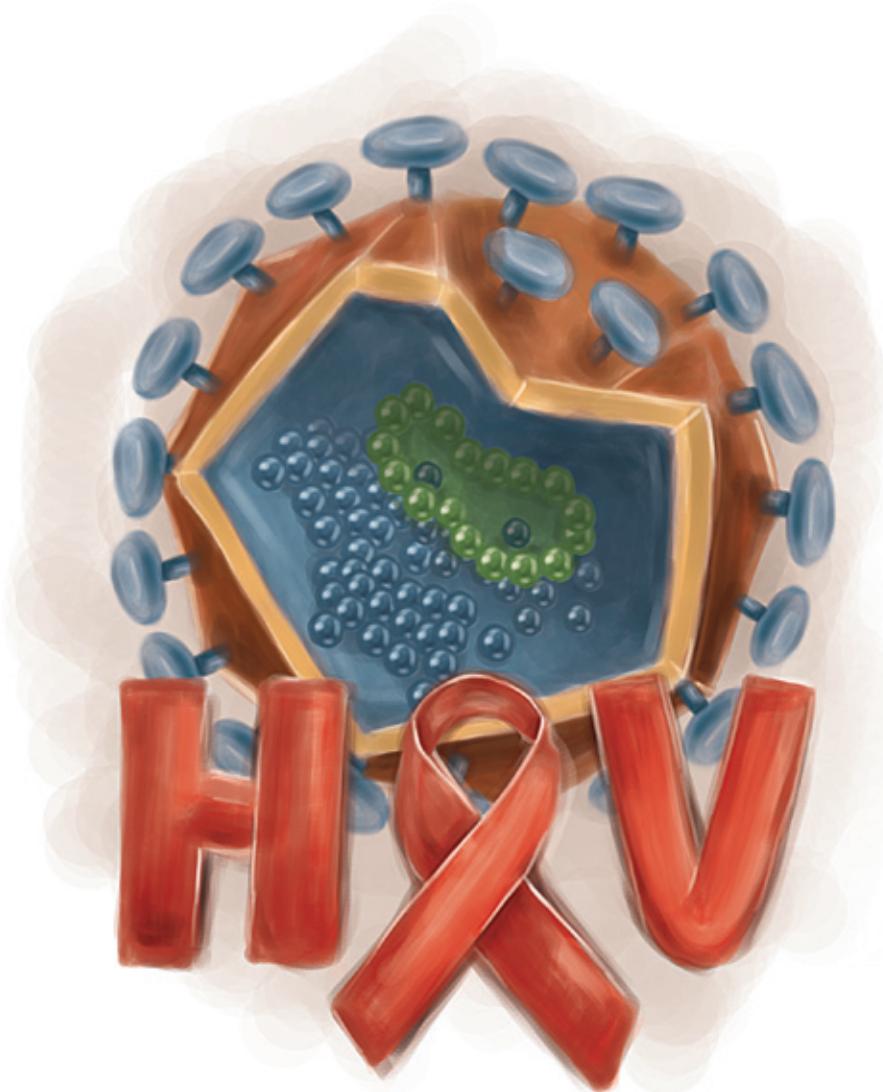
COICO, Richard; SUNSHINE, Geoffrey. *Immunology: a short course*. 6. ed. New Jersey: 2009. p. 223; 238 e 242.

MALE, David et al. *Immunology*. 7. ed. Philadelphia, PA: Mosby/
Elsevier, 2006. p. 367; 368; 478 e 483.

MURPHY, K. M.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Janeway's immunobiology*. 7. ed. Garland Publishing Philadelphia, 2008. p. 557.

NAIRN, Roderick; HELBERT, Matthew. *Imunology for medical students*. 2. ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier, 2007.

CAPÍTULO 7



HIV/AIDS

O que vem a ser AIDS? O que diferencia um indivíduo com AIDS de um indivíduo portador do vírus HIV? Os casos de AIDS começaram a aparecer mesmo na década de 1980, quando o vírus foi descoberto, ou são muito anteriores a essa data? Por que os anticorpos anti-HIV não são capazes de acabar com o vírus e curar o indivíduo? O que se usa para conter a replicação do HIV? Por que não se consegue desenvolver uma vacina contra o vírus HIV? Por que a proteção física continua sendo a melhor forma de se conter a infecção pelo HIV? Por que devemos estudar o HIV durante o curso de Imunologia? Muito bem, essas são perguntas que serão respondidas ao longo deste capítulo, que iniciará com um breve histórico que precedeu à descoberta desse retrovírus e que nos mostrará o quanto a Virologia e a Imunologia tiveram que evoluir para entender a forma como esse vírus se replica, adquire tantas mutações e, se não for contido, deteriora por completo o sistema imunológico dos infectados.

7.1 Como surgiu o HIV?

Há evidências de que a infecção pelo vírus HIV teve seu início em tribos africanas subsaarianas isoladas. O vírus da imunodeficiência símia (SIV), que infecta uma subespécie de chimpanzés africanos, apresenta uma similaridade muito estreita com o HIV, apontando para a hipótese de que ambos evoluíram de uma espécie comum. Provavelmente, o estabelecimento da infecção em humanos foi resultado da transmissão interespécie. Alguns estudos sorológicos têm sugerido que o HIV passou a infectar os seres humanos entre as décadas de 1940 e 1950, na África. Não se pode precisar quanto tempo o vírus ficou latente nas células humanas das tribos africanas. Recentemente, pesquisas sobre variações genéticas de alguns genes do HIV, com simulações em computador, sugerem que o ano provável do aparecimento do vírus foi 1931. O fato real é que somente quando o vírus começou a se espalhar e chegou aos países desenvolvidos na década de 1980 é que ele foi isolado e a síndrome da imunodeficiência humana foi desvendada. Hoje, dois tipos de vírus HIV estão descritos: o HIV1, difundido mundialmente, responsável por 99% dos casos e mais virulento; e o HIV2, encontrado principalmente na África Ocidental e em algumas regiões da Europa, sendo esse tipo de uma latência mais prolongada. Parece que o responsável pela disseminação do vírus HIV2 é o macaco da espécie *Cercopithecus atys*.

7.2 Histórico da descoberta do vírus HIV

Em 1981, a agência norte-americana Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) recebeu um alerta sobre o aparecimento de uma nova doença: em apenas oito meses haviam aparecido, na área de Los Angeles, Estados Unidos, cinco casos de uma pneumonia extremamente rara causada por um protozoário (*Pneumocystis carinii*). Essa era uma infecção oportunista que até aquele momento só tinha sido detectada em pessoas com alto grau de comprometimento do sistema imune (câncer e usuários de fármacos imunossupressores). Para se ter uma ideia da raridade dessa infecção, entre 1967 e 1979 haviam sido diagnosticados apenas dois casos dessa infecção e, então, repentinamente, cinco homossexuais masculinos foram afetados.

Nesse mesmo período, o CDC recebeu a notificação de 26 casos de Sarcoma de Kaposi, um tipo de câncer que envolve os vasos sanguíneos da pele ou dos órgãos internos extremamente raro e que pode acometer pessoas com alto grau de comprometimento imunológico. Em 1982, sem saber exatamente o que estava causando essas doenças raras, os cientistas apontaram, como causa do seu aparecimento, a ausência de linfócitos T CD4⁺ nos pacientes. Por essa razão, nesse mesmo ano, essa ausência de linfócitos T CD4⁺ que não tinha origem genética foi denominada AIDS (em inglês, *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. O que marcava essas doenças, no início de seu aparecimento, era a homossexualidade, a maioria das pessoas acometidas era homossexual do sexo masculino. Mas logo as doenças começaram a ser relatadas e levaram a óbito hemofílicos e usuários de drogas injetáveis, apontando para alguma infecção por via sanguínea e por contacto sexual. Em 1982, começaram a ser diagnosticados os primeiros casos de AIDS no Brasil, inicialmente em São Paulo e no Rio de Janeiro.

7.3 Isolamento do vírus da imunodeficiência adquirida ou HIV

Em 1983, dois grupos de pesquisadores, um deles liderado pelo Dr. Robert Gallo do National Institute of Health (NIH, EUA) e outro liderado pelo Dr. Luc Montaigner do Instituto Pasteur (França), isolaram linfonodos de pacientes que haviam morrido pela AIDS, um vírus que foi denominado HIV (sigla internacionalmente aceita cujo termo em inglês significa *Human Immunodeficiency Virus* ou Vírus da Imunodeficiência Humana). A partir dessa data, começou a contagem do tempo para os casos de indivíduos infectados pelo HIV no mundo todo.

7.4 Características do vírus HIV

O vírus HIV é um retrovírus humano da família dos lentivírus. Esses vírus possuem como características marcantes um envelope constituído por uma bicamada lipídica e o genoma constituído por RNA, que é reversamente transcrita a DNA (chamado de DNA proviral) após infectar a célula-alvo por uma enzima viral denominada transcriptase reversa. Preste muita atenção: vários outros vírus causadores de doenças também têm o seu genoma constituído de RNA em vez de DNA, mas somente nos retrovírus esse RNA é transscrito a DNA, que se integra ao DNA (genoma) da célula hospedeira e fica assim “escondido” da resposta imunológica e silencioso, até que, por qualquer estimulação da célula infectada, o DNA proviral é transcrita a RNA viral e assim são traduzidas as proteínas virais, completando-se o ciclo de replicação do vírus. Podemos, então, dizer que todos os retrovírus são vírus de genoma RNA, mas nem todos os vírus de genoma RNA são retrovírus. O genoma do HIV é constituído por duas fitas únicas e idênticas de RNA genômico, sendo, portanto, um vírus de genoma diploide (atenção, quando o vírus infecta a célula-alvo, somente uma das fitas de RNA é transcrita a DNA, a segunda fita fica como “reserva” para o vírus caso ocorra algum problema durante a transcrição reversa). Esse genoma está localizado no interior do nucleocapsídeo viral, onde tam-

bém se localizam três enzimas muito importantes para a replicação desse vírus: a transcriptase reversa, a integrase e a protease. No envelope do vírus, que é derivado da membrana da célula que foi infectada, estão ancoradas duas glicoproteínas muito importantes para o processo infeccioso viral: gp 120 e gp 40. Sendo assim, os constituintes do vírus são identificados por p (quando tratamos de proteínas virais) e gp (quando tratamos de glicoproteínas virais), seguidos de seus respectivos pesos moleculares (Figura 7.1).

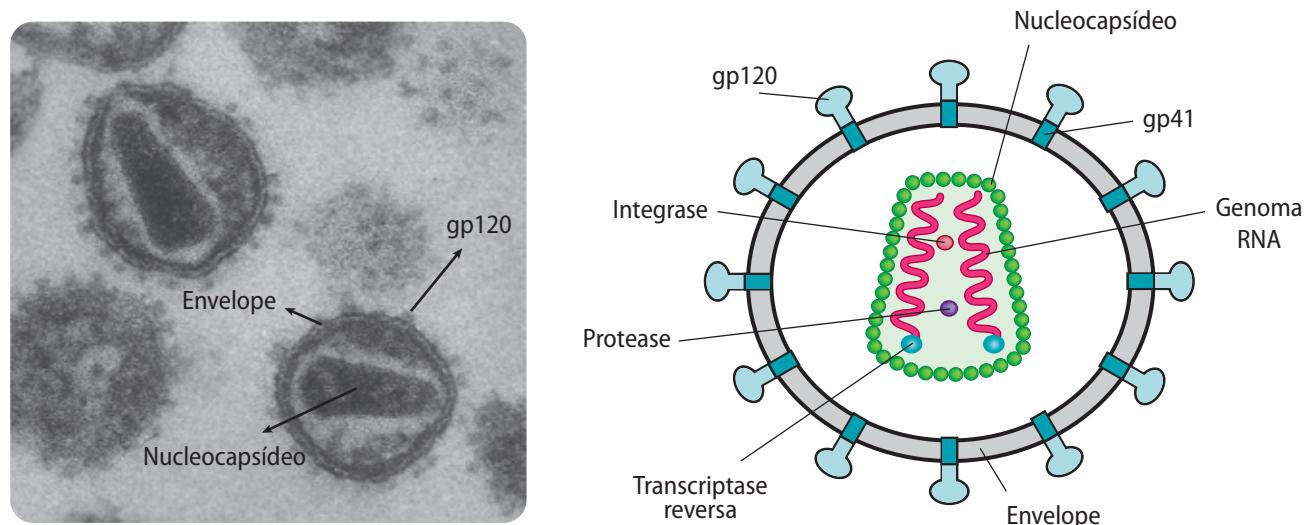


Figura 7.1 – Estrutura do HIV: lentivírus, uma das três subfamílias dos retrovírus.
(Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 531).

O genoma do HIV está dividido em **três regiões** que codificam as **proteínas estruturais do vírus**: uma região codificadora das proteínas de capsídeo interno do vírus, denominada *região gag*; uma região codificadora das enzimas virais (protease, transcriptase reversa e integrase), denominada *pol*; e uma região codificadora das proteínas do envelope viral (gp 120 e gp 40), denominada *env*. Vários outros genes codificam proteínas de regulação viral, incluindo os genes *tat*, *vif* e *nef*, os quais também são alvos das terapias antivirais das quais trataremos mais adiante neste capítulo (Figura 7.2).

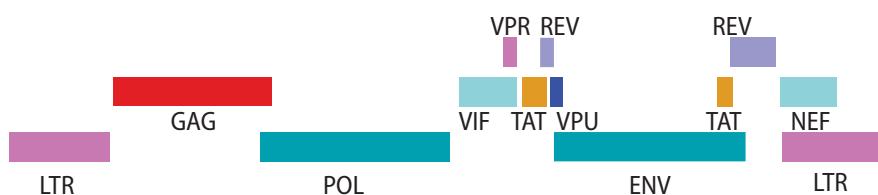


Figura 7.2 – Genoma do HIV (9.749 nucleotídeos). (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 536).

7.5 HIV e sistema imune

Por que estudamos o vírus HIV na disciplina de Imunologia? Para responder a essa pergunta, temos que entender como o vírus infecta a célula hospedeira e qual o seu caminho de replicação e espalhamento para as outras células. A gp 120, que é a glicoproteína de envelope viral, apresenta uma alta afinidade de ligação na proteína CD4. Assim, todas as células que possuem CD4 em sua superfície, ou seja, os linfócitos T helper CD4 (estes majoritariamente), os macrófagos, os monócitos e as células dendríticas (estas expressando baixos níveis de CD4) são alvos em potencial para o vírus. Se a via de infecção envolveu mucosa (por exemplo, a via sexual), o vírus ficará estocado nos tecidos linfoides associados à mucosa cujas células servirão como reservatórios virais.

Agora vamos entender o que acontece para que o vírus infecte a célula hospedeira: lembram-se das glicoproteínas gp 120 e gp 40 presentes no envelope viral e quando estudamos que essas proteínas são importantes no processo de entrada do vírus na célula? Pois bem, após a ligação da gp 120 viral ao receptor CD4 da célula hospedeira, a gp 40 promoverá a fusão do envelope viral com a membrana celular, promovendo a entrada do genoma viral e das enzimas associadas a ele dentro da célula infectada. Uma vez presente no interior da célula hospedeira, o RNA viral será convertido em DNA pela enzima transcriptase reversa (chamamos esse DNA de DNA complementar ou cDNA). Essa enzima será responsável tanto pela síntese da primeira como da segunda fita de DNA proviral. Aqui vale comentar que a enzima transcriptase reversa é uma DNA polimerase que comete muitos erros durante a síntese do DNA a partir do RNA viral molde e também durante a síntese da segunda fita de DNA proviral, usando a primeira fita como molde. Isso significa que cada vez que a transcriptase reversa copiar fitas de DNA, essas fitas geradas são alteradas, criando, com isso, muitos mutantes virais. *Imaginem que num mesmo indivíduo durante todo o curso de infecção pelo HIV podem surgir mais de 1.000 mutantes virais diferentes!!!* Por essa razão, a resposta imune, que é altamente específica, nunca consegue resolver a infecção, pois sempre terá que gerar uma nova resposta contra os novos mutantes virais.

Após a fase de síntese do DNA dupla fita, ele atravessará a membrana nuclear e integrar-se-á ao genoma da célula, ficando, dessa forma, latente ou “escondido”, e isso pode durar muitos anos. A enzima viral responsável por essa integração é chamada de integrase. E como será que o vírus, que está com o seu genoma de DNA proviral “escondido” no genoma da própria célula e, por isso, “invisível” à resposta imune, irá continuar sua replicação, formar novos vírus e infectar outras células? Isso ocorre porque, quando a célula que está infectada for ativada por qualquer antígeno estimulador (lembrem-se de que essas são células da resposta imune e nada impede que elas sejam estimuladas), uma cascata de reações resulta na transcrição do RNA viral pela RNA polimerase do próprio hospedeiro, ou seja, em vez de a RNA polimerase celular transcrever RNA celular para síntese de proteínas celulares, ela passa a transcrever o RNA do próprio vírus. Fica, assim, selado o destino de destruição para essa célula. Assim que o RNA é transcrito, tem-se início à síntese das proteínas virais, à replicação do RNA e à montagem de novas partículas virais.

Durante a síntese das proteínas virais, elas são formadas como pré-proteínas precursoras. E, durante a montagem das partículas virais, outra enzima tem um papel fundamental no processo – a protease viral –, que cliva as pré-proteínas e permite a junção das proteínas maduras que irão empacotar o genoma viral e finalizar a partícula viral madura. Por exemplo, quando sintetizadas as proteínas de envelope, forma-se uma pré-proteína precursora de 160 kd (gp 160). Somente após a clivagem pela protease viral surgirão a gp 120 e a gp 40.

Os vírus maduros estão agora prontos para ser liberados e se espalhar para outras células. Como se trata de um vírus envelopado, a saída da célula ocorre por um processo denominado de “brotamento”, e, neste caso, a hora de passar através da membrana é que vai ser fundamental para a aquisição do envelope glicolipídico na partícula viral. No caso dos macrófagos, é mais frequente que eles mesmos sirvam como reservatórios virais transportando o vírus para outras partes do corpo (tecidos linfoides e sistema nervoso central). Nas células T CD4, ocorre com mais frequência a liberação de um número muito grande de partículas virais, fazendo

com que o número de lesões na membrana causadas pelo brotamento do vírus seja muito alto, a célula não consiga se regenerar e seja lisada. Ainda há um agravante de essas células infectadas e não lisadas pela passagem do vírus ficarem com gp 120 presas em suas membranas na hora da passagem do vírus por brotamento. Essa presença da gp 120 faz com que essas células se liguem em receptores CD4 de linfócitos T helper sadios. Formam-se, então, células gigantes multinucleadas, denominadas sincícios, que são resultados de fusão de linfócitos T CD4 infectados com linfócitos T CD4 não infectados. Já sabemos que células infectadas por vírus são alvo de destruição pelos linfócitos T CD8⁺ pois elas expressam proteínas virais associadas à MHC I em sua superfície. Assim, os linfócitos T CD8 positivos proliferaram para gerar muitos clones de células que destroem as células T CD4⁺ infectadas pelos vírus. Temos, assim, uma diminuição progressiva das células T CD4⁺ e um aumento de linfócitos T CD8⁺ nos pacientes HIV positivos que estão em fase de proliferação viral (Figura 7.3).

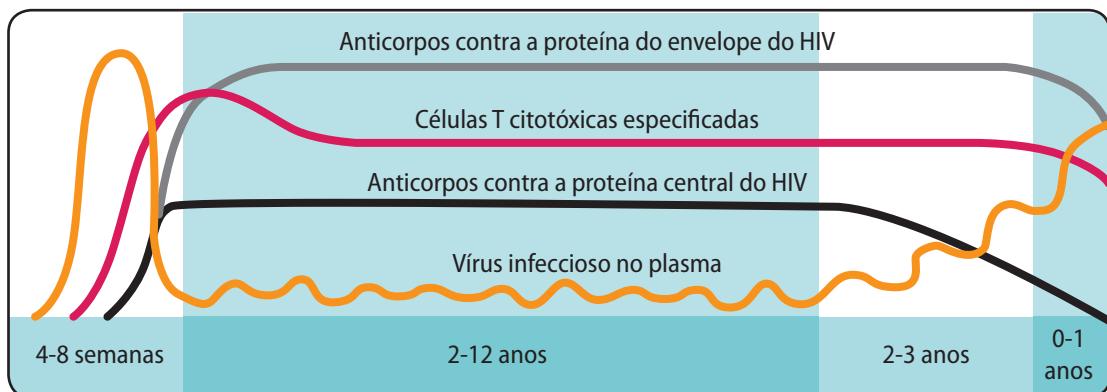


Figura 7.3 – Cinética de infecção pelo HIV e resposta imune. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 538).

7.6 Transmissão do HIV

O vírus da imunodeficiência humana pode ser transmitido através de três vias importantes: contacto com sangue contaminado pelo vírus (aqui identificamos as transmissões por transfusões de sangue contaminado que atualmente são raras devido aos testes feitos antes da liberação das bolsas de sangue e também as contaminações devidas ao compartilhamento de agulhas utilizadas para

injetar drogas); através de fluidos corporais genitais (o contacto sexual direto e sem proteção permite um íntimo contacto com células de mucosa potencialmente infectadas pelo vírus); e a chamada transmissão vertical, que ocorre quando a gestante HIV+ transmite o vírus através da placenta durante a gestação ou durante o parto através do contacto com sangue e grande quantidade de fluidos corpóreos. O que mais assusta é que, apesar das campanhas massivas feitas pelos agentes de saúde governamentais e pelas escolas, 85% das infecções atualmente ocorrem por transmissão sexual. O fato é que duas características de transmissão viral mudaram e adquiriram um novo perfil desde o isolamento do vírus em 1983: a heterossexualização (antes a doença era típica de homossexuais) e a feminilização (antes a prevalência era de homens).

7.7 Janela imunológica e o perigo da transmissão

Após a infecção inicial pelo HIV, muitos pacientes permanecem assintomáticos, outros apresentam uma doença semelhante a uma gripe, caracterizada por febre, dor de cabeça, dor de garganta e indisposição geral. Durante esse período, ocorre viremia (ou seja, vírus circulantes na corrente sanguínea), com queda brusca dos linfócitos T CD4⁺. Entretanto, nesse período, que pode variar de 2 a 6 semanas, caso o indivíduo infectado fizesse um teste de sorologia para HIV, esse teste seria negativo, pois nessa fase o sistema imune está sendo estimulado para gerar uma resposta específica contra o vírus. Essa fase é denominada de “janela imunológica”. Com a estimulação da resposta imune específica, células T citotóxicas irão responder ao vírus, sendo em parte responsáveis pela redução do número de células T CD4⁺ infectadas pelo vírus. Também, nessa fase, células B proliferarão, diferenciar-se-ão em plasmócitos e passarão a excretar anticorpos no soro contra as proteínas do HIV. Nesse ponto o paciente é considerado soroconvertido e o diagnóstico da infecção pelo HIV pode ser realizado por testes sorológicos de procura de anticorpos no soro. Nessa fase, o número de células CD4⁺ no sangue periférico aumenta, o indivíduo

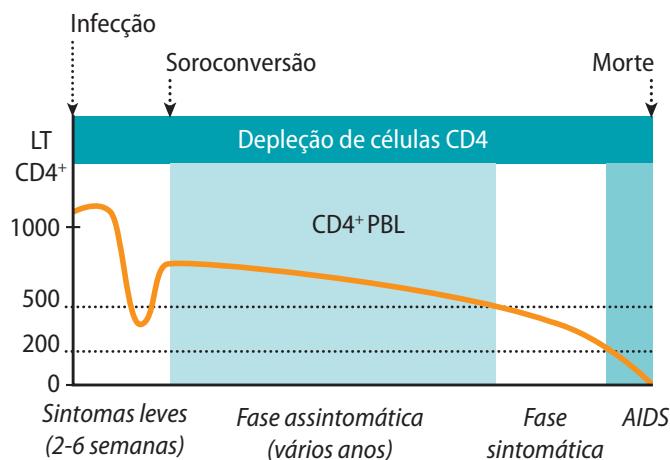


Figura 7.4 – Fases da infecção pelo HIV até o aparecimento da AIDS. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 530).

fica totalmente assintomático e permanecerá dessa forma por períodos de tempo variáveis, podendo chegar a muitos anos. Portanto, atenção: algumas pessoas, quando suspeitam que podem ter sido infectadas pelo HIV, por medo de discriminação, resolvem doar sangue para poder fazer o teste sem se identificar nos laboratórios e inclusive mentem na entrevista de autoexclusão. Esse constitui um perigo e põe em risco a vida de pacientes inocentes que necessitam desse sangue para transfusões. Caso esse doador esteja na fase de janela imunológica, os testes aplicados não irão detectar o vírus, o sangue será liberado para doação e contaminará outras pessoas (Figura 7.4).

7.8 Diagnóstico

Os diagnósticos mais comuns de HIV estão baseados na busca de anticorpos anticonstituintes virais (proteínas virais) no soro do paciente, ou seja, o indivíduo infectado reage contra o vírus e produz anticorpos contra esse vírus, por isso se busca em seu soro a presença desses anticorpos. O teste de ELISA, que será estudado no capítulo 8, é o teste de triagem mais comum usado inclusive nos bancos de sangue para triagem de sangue de doadores para serem liberados para transfusão. Esse teste é bastante sensível e utiliza placas de um plástico especial (poliestireno) de 96 poços sensibilizados com proteínas purificadas do HIV (usualmente os kits de diagnóstico por ELISA usam as proteínas gp 120, gp 41 e p 24). Se o indivíduo estiver infectado e não estiver na janela imunológica, ele terá, em seu soro, anticorpos que se ligarão às proteínas virais que estão no poço da placa e poderão, assim, ser detectados. Caso o teste ELISA seja positivo, para efeitos de triagem, o sangue não é usado para transfusão e é descartado, mas, para efeitos de diagnóstico, outro teste é então aplicado: o Western-blotting. Esse teste, conforme explicado no capítulo 8, é de alta sensibilidade.

de e alta especificidade, e dizemos que é um teste confirmatório de diagnóstico do HIV. Ele busca a interação dos anticorpos presentes no soro do indivíduo com as proteínas virais isoladas gp 120, gp 41, p 24 e gp 31 (Figura 7.5). Atenção, esses testes sorológicos não são válidos se aplicados para bebês filhos de mães HIV+ até pelo menos o oitavo mês de vida. Lembram-se de que os anticorpos da classe IgG podem atravessar a placenta? Pois bem, todo bebê filho de mãe HIV+ é necessariamente soropositivo para o HIV, mas não necessariamente está infectado pelo vírus, que pode não ter sido transmitido durante a gestação e o parto. Se somente os anticorpos maternos foram transmitidos, o que ocorrerá é que eles irão gradualmente desaparecendo do sangue do bebê com o passar dos meses, conforme já estudamos. Nesses casos, aplicam-se testes para buscar a presença ou ausência do vírus no sangue do bebê e se busca, então, realizar testes de Biologia Molecular baseados na amplificação do genoma viral por PCR (reação em cadeia da polimerase), que amplifica *in vitro* o genoma viral e permite sua detecção. Esse teste é mais caro, não é usado em testes de triagem em bancos de sangue e só é usado quando indicado, inclusive para o monitoramento de pacientes HIV+ em terapia antirretroviral.

7.9 Indivíduo portador do vírus HIV e indivíduo portador da AIDS

Essa questão é extremamente delicada e devemos saber diferenciar muito bem esses dois termos, pois muitas vezes os indivíduos HIV+ são tratados com extrema discriminação, sendo em alguns casos afastados do convívio social por ignorância das pessoas com as quais convivem. Conforme já relatamos no curso da infecção pelo HIV, na fase inicial da infecção pelo vírus, ocorre uma diminuição bastante acentuada de linfócitos T CD4⁺ no sangue periférico. Para termos uma ideia bem clara, o número de LT CD4⁺ em indivíduos não infectados varia de 1.000 a 800 células/mm³ de sangue. Logo no início da infecção (que pode ter alguns sintomas leves de uma virose ou muitas vezes ser assintomática), esse número cai bastante, podendo chegar a 400 células/mm³ de sangue.

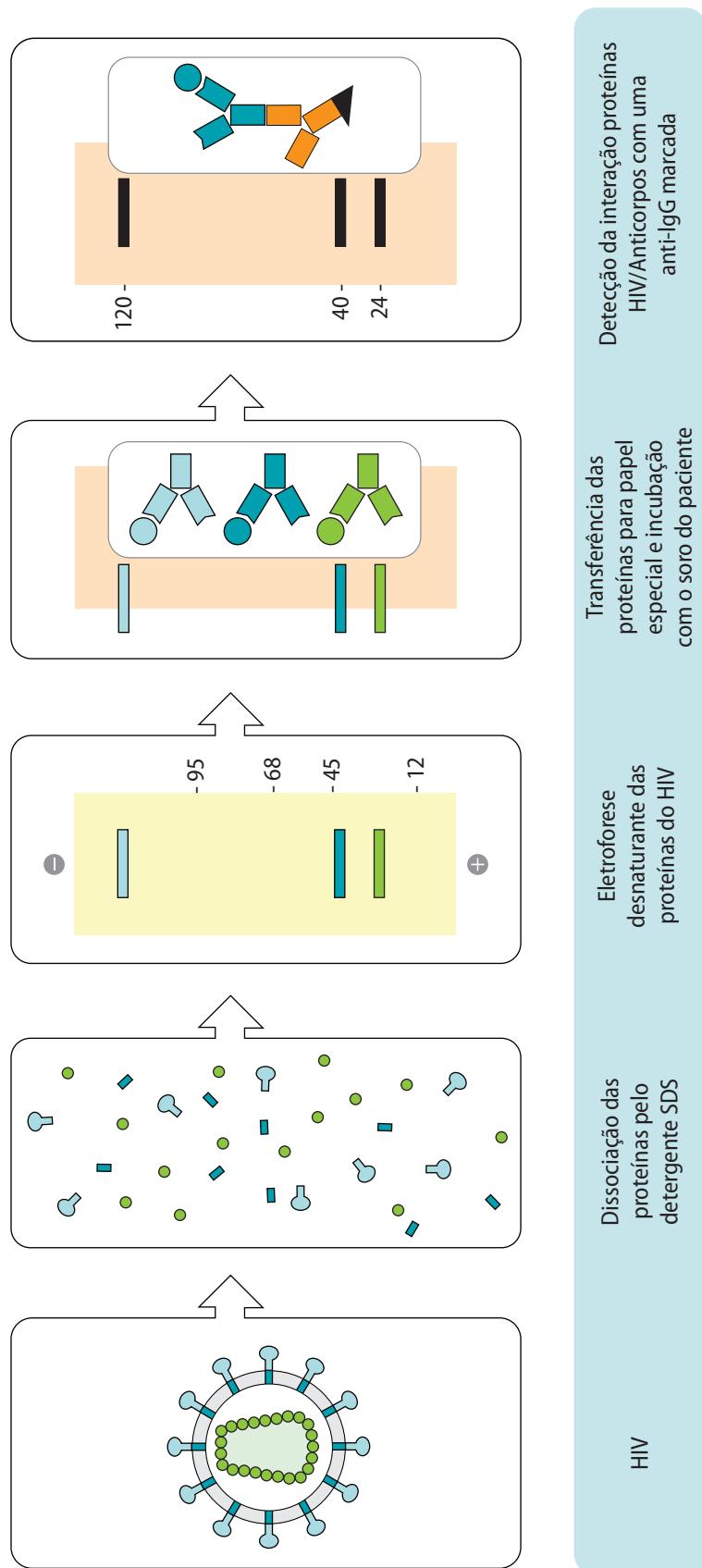


Figura 7.5 – Diagnóstico confirmatório do HIV por Western-blotting. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 756).

Mas, assim que a resposta imunológica é ativada, esse número de células sobe, a carga viral (partículas de HIV no sangue) cai e o indivíduo entra na fase assintomática da doença, que pode se prolongar por muitos anos. *Muito bem, esse indivíduo é HIV+, mas não é portador da AIDS!*

Com o passar dos anos e com o aumento da estimulação de células cronicamente infectadas pelo vírus (lembra-se das células que ficam com o DNA proviral escondido em seu genoma?), novas partículas virais são liberadas e começa a ocorrer uma diminuição mais acentuada do número de linfócitos T CD4⁺. Logo falaremos dos fármacos antivirais e da estratégia que se está buscando para aumentar cada vez mais esse período de latência e de diminuição das partículas virais no sangue, comprovando que o indivíduo HIV+ pode passar toda a sua vida sem AIDS. Se o número de linfócitos T CD4⁺ caírem para menos de 400 células/mm³ de sangue, começam a ocorrer infecções oportunistas, que são aquelas causadas por bactérias, fungos, vírus, protozoários, neoplasias pouco comuns (por exemplo, Sarcoma de Kaposi), alterações neurológicas, encefalopatias e demência. Essa é a fase sintomática da infecção pelo HIV, que, quando tratada e o indivíduo responder ao tratamento, ele não está com **AIDS**, sendo portador do vírus HIV com presença de infecções oportunistas.

Se o número de LT CD4⁺ cair em níveis inferiores a 200 células/mm³ de sangue, as infecções tornam-se muito comuns, de várias origens e concomitantes e o indivíduo não tem mais condições de responder aos tratamentos devido ao seu alto grau de comprometimento imunológico. Nessa fase, e somente nessa fase, dizemos que o indivíduo é portador da AIDS.

O vírus HIV, diferentemente de vários outros vírus que infectam um determinado órgão ou local do corpo causando uma doença específica, tem como alvo as células da resposta imune. Por isso, não causa uma doença específica, mas impede o indivíduo de lutar contra qualquer doença, mesmo as mais benignas e insignificantes para os indivíduos sadios.

AIDS não é uma doença específica, e sim uma síndrome de imunodeficiência causada pela incapacidade do sistema imunológico do indivíduo responder a qualquer tipo de infecção por estar extremamente deficiente.

Para não esquecer!

Quando convivemos com um indivíduo portador do vírus HIV e o número de células CD4⁺ desse indivíduo estiver baixo, devemos ter extremo cuidado para não transmitir doenças a ele, essa será a forma de demonstrarmos amor e solidariedade aos infectados. E nunca podemos usar o termo AIDS ou, pior, AIDÉTICO ao indivíduo portador do vírus HIV, pois essa será somente a fase terminal dele, que talvez nunca venha a acontecer.

7.10 Monitoramento dos pacientes HIV+

O monitoramento dos pacientes se dá pela contagem de linfócitos no sangue periférico por citometria de fluxo e também se medindo a carga viral (ou seja, o número de partículas virais no sangue) por técnicas de Biologia Molecular. A contagem da subpopulação CD4⁺ possui um papel importante, pois é o melhor marcador para se avaliar o sistema imune no paciente HIV+. Com esse parâmetro, sabe-se quando iniciar o tratamento profilático e a manutenção dos pacientes sintomáticos, além de fornecer um segundo parâmetro no controle da eficácia do tratamento.

7.11 Terapia antirretroviral

A terapia antirretroviral atualmente recebe um nome elegante cuja sigla em inglês é HAART (em inglês, *Highly Active Anti Retroviral Treatment*) e cuja tradução para o português é Terapia Antirretroviral de Alta Atividade. Pacientes que seguem o coquetel denominado HAART com disciplina têm mostrado excelentes resultados de tratamento. A HAART reduziu a mortalidade em 40-70%, a hospitalização em 80%, além de ter contribuído significantemente para o aumento da qualidade e do tempo de vida dos pacientes. O uso da HAART também reduziu dramaticamente o número de recém-nascidos filhos de mães HIV positivas infectados pelo vírus, pois, como a carga viral das gestantes é mantida em números muito baixos, isso reduz a possibilidade de passagem do vírus pela placenta.

Dentre os medicamentos que fazem parte desse “coquetel”, os análogos de nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa são de papel fundamental na composição. Lembram-se de que a transcriptase reversa é uma enzima que copia DNA a partir da fita de RNA molde? Pois bem, para fazer isso, ela precisa dos nucleotídeos Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G) e Timina (T); e esses nucleotídeos ela usa da célula hospedeira que está constantemente em processo de duplicação de seu próprio DNA. Em sua forma final, esses nucleotídeos são: ATP, CTP, GTP e TTP. Lembram-se também de que a transcriptase reversa não é uma enzima muito

seletiva e que comete muitos erros na hora de sintetizar o DNA viral? Pois bem, os pesquisadores se utilizaram, então, de uma estratégia que consistiu em utilizar substâncias que “imitam” os nucleotídeos, mas que possuem uma diferença muito pequena na sua composição. Se esses análogos de nucleotídeos forem usados pela transcriptase reversa (e ela os usa), a síntese do DNA não prossegue e o vírus paralisa a sua replicação. Hoje já estão disponíveis no mercado vários desses análogos. O mais famoso deles (e o primeiro que foi patenteado e entrou no mercado) é o AZT (azidotimidina trifosfato), um nucleotídeo muito semelhante ao TTP (timidina trifosfato). A DNA polimerase celular não usa esse análogo na duplicação do seu DNA celular, mas a transcriptase reversa viral usa e com isso bloqueia a replicação. Outros análogos disponíveis são o ddC (análogo do CTP), o ddA (análogo do ATP), o dDI (análogo de qualquer nucleotídeo) etc.

Outro componente importante do HAART é um composto inibidor da enzima protease. Lembram-se de que a protease cliva as pré-proteínas precursoras permitindo a montagem da partícula viral madura? Pois bem, com a protease inibida não há como clivar as precursoras e a partícula viral não deixa a célula e não invade as células vizinhas.

Mas se o coquetel anti-HIV funciona tão bem, qual é o problema em se utilizarem esses medicamentos e por que o seu uso deve ser criteriosamente estudado para cada indivíduo? A resposta é simples: esses medicamentos, como a maioria dos medicamentos de uso contínuo, têm algumas desvantagens, uma delas é que a transcriptase reversa pode se tornar resistente ou seletiva ao uso dos análogos de nucleotídeos e, assim, preferir o uso dos nucleotídeos celulares disponíveis. Existem casos de indivíduos que já são infectados por cepas de HIV resistentes aos análogos, e isso é um problema sério no tratamento. O uso de vários deles nos coquetéis tem permitido um emprego mais prolongado sem indução de resistência, mas esse é um perigo que sempre se corre.

E os efeitos colaterais? Essa é outra desvantagem, pois esses medicamentos possuem muitos efeitos colaterais, como náuseas, vômitos, hepatotoxicidade etc. e seu uso prolongado complica mais ainda essa administração.

A composição final da HAART pode variar de paciente para paciente. Existem outros componentes, como inibidores de proteínas regulatórias do vírus, estimuladores da resposta imune do paciente, soroterapia etc., mas sobre isso não entraremos em detalhes neste capítulo.

O que é mais importante é que o tratamento com HAART deve ser muito bem planejado entre médico e paciente, inclusive o melhor período para seu início.

Resumo

Aprendemos neste capítulo que o vírus HIV é um retrovírus humano que possui como características marcantes um envelope constituído por uma bicamada lipídica e o genoma constituído por RNA, que é reversamente transcrito a DNA (chamado de DNA pró-viral) após infectar a célula-alvo por uma enzima viral denominada transcriptase reversa. O HIV pode ser transmitido através de três vias importantes: contacto com sangue contaminado pelo vírus, através de fluidos corporais genitais (o contacto sexual direto e sem proteção permite um íntimo contacto com células de mucosa potencialmente infectada pelo vírus) e a chamada transmissão vertical, que ocorre quando a gestante HIV+ transmite o vírus através da placenta durante a gestação ou durante o parto através do contacto com sangue e grande quantidade de fluidos corpóreos. A infecção pelo vírus ocorre porque a gp 120, que é a glicoproteína de envelope viral, apresenta uma alta afinidade de ligação com a proteína CD4⁺. Assim, todas as células que possuem CD4⁺ em sua superfície, ou seja, os linfócitos T helper CD4⁺, os macrófagos, os monócitos e as células dendríticas são alvos em potencial para o vírus. Após a fase de síntese do DNA dupla fita viral, ele atravessará a membrana nuclear e integrar-se-á ao genoma da célula, entrando na fase de latência viral, que pode durar muitos anos. Na fase de proliferação viral ocorre uma diminuição progressiva das células T CD4⁺ e um aumento de linfócitos T CD8⁺ nos pacientes HIV positivos. Se o número de LT CD4+ cair em níveis inferiores a 200 células/mm3 de sangue, as infecções tornam-

se muito comuns, de várias origens e ao mesmo tempo devido ao alto grau de seu comprometimento imunológico e o indivíduo está, dessa forma, portador da síndrome da imunodeficiência ou AIDS. O tratamento baseado na HAART tem mostrado excelentes resultados, tendo reduzido a mortalidade e a hospitalização, além de ter contribuído significantemente para o aumento da qualidade e do tempo de vida dos pacientes.

Referências

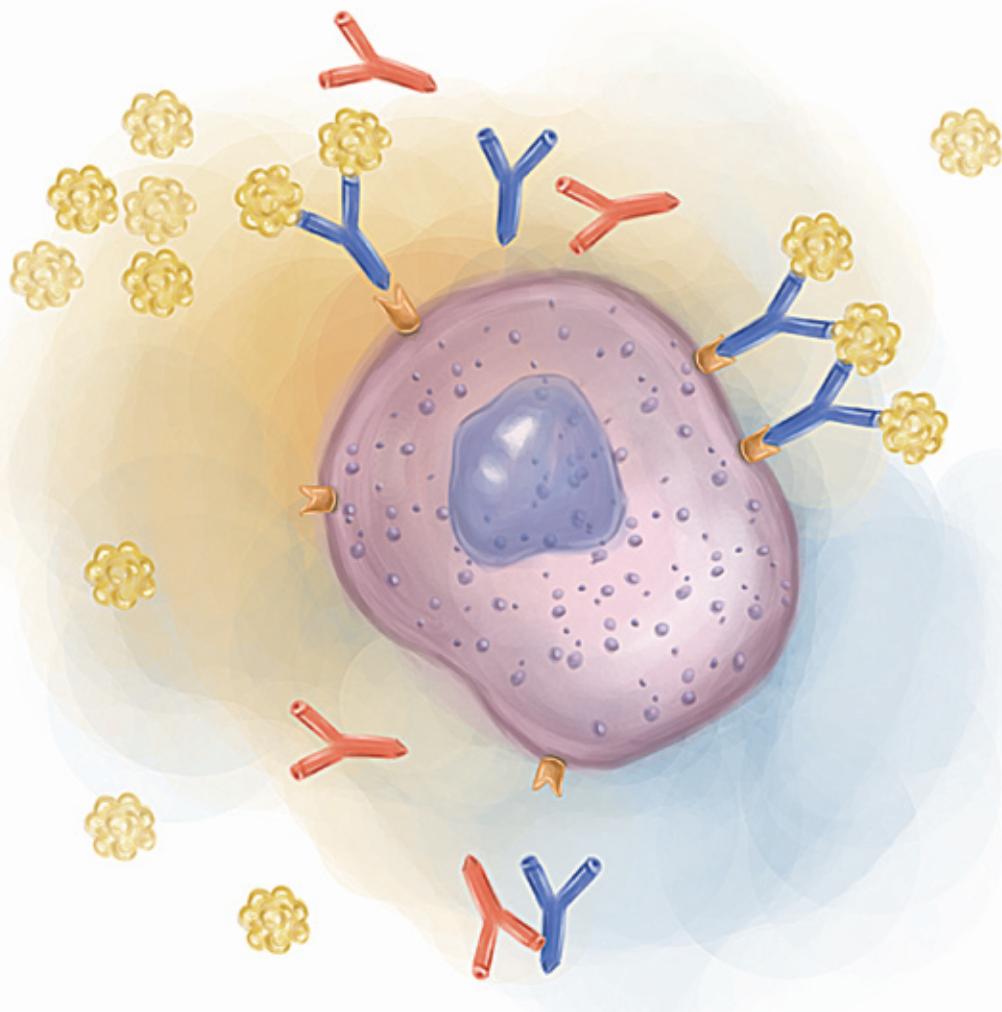
BENJAMINI, E.; COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

MURPHY, K. M.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Janeway's immunobiology*. 7. ed. Philadelphia: Garland Publishing, 2008. p. 530; 531; 536; 538 e 756.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. *Imunologia básica e clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. *Introdução à virologia humana*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

CAPÍTULO 8



Interações antígeno–anticorpo

Neste capítulo você aprenderá os princípios que norteiam as reações antígeno–anticorpo que constituem a base de diversos ensaios imunológicos. Discutiremos ainda as reações de aglutinação utilizadas na determinação dos grupos sanguíneos do sistema ABO e Rh, os métodos envolvidos no diagnóstico da gravidez, os métodos de imunofluorescência, os ensaios imunoenzimáticos, o Western-blotting e a citometria de fluxo.

8.1 Reações de hemaglutinação: grupos sanguíneos ABO e Rh

Foi no início do século XX que a transfusão de sangue adquiriu bases mais científicas. Em 1900, foram descritos os grupos sanguíneos A, B e O por Landsteiner e, em 1902, o grupo AB por De Costello e Starli. A descrição do sistema Rh foi descrito posteriormente, em 1940, por Landsteiner e Wiener.

Os grupos sanguíneos de maneira geral são constituídos por抗ígenos que são a expressão de genes herdados da geração anterior. Quando um antígeno está presente, isso significa que o indivíduo herdou o gene de um ou de ambos os pais e que esse gene poderá ser transmitido para a próxima geração.

8.1.1 Sistema ABO

Há vários grupos sanguíneos herdados independentemente entre si, sendo conhecidos diversos sistemas de grupo sanguíneos. Entre eles podemos citar os sistemas ABO, Rh, MNS, Kell, Lewis etc. O sistema ABO é o de maior importância na prática transfusional e no ensino da Imunologia por ser o mais imunogênico, ou seja, por ter maior capacidade de provocar a produção de anticorpos, seguido do sistema Rh.

Os抗ígenos desse sistema estão presentes na maioria dos tecidos do organismo. Fazem parte desse sistema três genes – A, B e O –, podendo qualquer um dos três ocupar o loco ABO em cada elemento do par de cromossomos responsáveis por esse sistema.

Os genes ABO não codificam diretamente seus抗ígenos específicos, mas sim enzimas carreadoras que têm a função de transportar açúcares específicos para uma substância precursora na superfície dos eritrócitos, resultando nos抗ígenos ABO.

O indivíduo do grupo AB é possuidor de um gene A e de um gene B, sendo um herdado da mãe e o outro do pai. Ele possui nos seus glóbulos vermelhos os抗ígenos A e B, e seu genótipo é AB.

No caso do grupo O, foi herdado do pai e da mãe o mesmo gene O. As células de grupo O são reconhecidas pela ausência de抗ígeno A ou B. Quando o gene O é herdado ao lado de A, apenas o gene A se manifesta; e, quando é herdado ao lado do gene B, apenas o gene B se manifesta.

Ao realizarmos os testes rotineiros em laboratório, não podemos diferenciar os indivíduos BO e BB, e nem AO e AA. Os símbolos A e B, quando nos referimos a grupos sanguíneos, indicam *fenótipos*, enquanto AA, BO etc. são *genótipos*.

É dito homozigoto o indivíduo possuidor de genes iguais (AA, BB, OO) e heterozigoto quando os genes são diferentes (AO, BO, AB).

Regularmente as pessoas expostas a um抗ígeno que não possuem podem responder com a produção de um anticorpo específico para esse抗ígeno. Entretanto, há alguns抗ígenos que possuem uma estrutura que se assemelha muito com抗ígenos de bactérias e plantas, às quais estamos constantemente expostos. Nesses casos, ocorre a produção de anticorpos a partir do contato com as bactérias e as plantas, e não com o抗ígeno eritrocitário.

Nesse grupo encontramos os抗ígenos do sistema ABO. Por esse processo, os indivíduos com idade superior a seis meses possuem o anticorpo contra o抗ígeno que não existe na superfície de seus eritrócitos, pois já foram expostos a essas bactérias e plantas através da alimentação. Esses anticorpos são chamados de isoaglutininas ou aglutininas naturais e são da classe IgM (Tabela 8.1).

A classificação sanguínea ABO

A determinação do grupo sanguíneo desse sistema é feita usando dois tipos de teste:

1. através da identificação da presença de抗ígenos nos eritrócitos, empregando como reativos anticorpos purificados (anti-A e anti-B). Essa é a chamada classificação ou tipagem direta e será utilizada na aula prática; e
2. através da identificação da presença de anticorpos no soro/plasma, usando como reativos抗ígenos conhecidos (hemácias A e hemácias B). Essa é a classificação ou tipagem reversa (ver Tabela 8.1).

Tabela 8.1 – Determinantes antigênicos e anticorpos naturais do sistema sanguíneo ABO

| Grupo sanguíneo do indivíduo | Soro de tipagem Anti-A e anti-B | | Hemácias de tipagem A e B | | Antígeno | Anticorpo presente no soro do indivíduo |
|------------------------------|---------------------------------|---|---------------------------|---|----------|---|
| A | + | - | - | + | A | Anti-B |
| B | - | + | + | - | B | Anti-A |
| AB | + | + | - | - | A e B | Ausente |
| O | - | - | + | + | - | Anti-A e anti-B |

Observando o quadro anterior, podemos perceber a presença dos抗ígenos e dos anticorpos em cada grupo sanguíneo. É nessa presença ou ausência de抗ígenos e anticorpos que se baseiam a tipagem sanguínea e a escolha do sangue a ser transfundido.

As transfusões podem ser:

- isogrupo – quando doador e receptor são do mesmo grupo ABO; e
- heterogrupo – doador e receptor são de grupo sanguíneo diferente.

A escolha do sangue se baseia no fato de que o indivíduo não pode ser transfundido com um sangue que possua um抗ígeno que ele não tem, pois o anticorpo presente no seu plasma contra esse抗ígeno iria reagir com essas hemácias transfundidas. Em vista disso e observando o quadro anterior, fica claro que um indivíduo do grupo A não pode receber sangue B, e assim por diante.

Nas transfusões sanguíneas, em relação ao sistema ABO, é preciso considerar, inicialmente, que a taxa de aglutinogênios nas hemácias é significativamente maior que a taxa de aglutininas no plasma. Dessa maneira, são inviáveis as transfusões em que o sangue doado contém aglutinogênios que “encontrarão” no receptor as aglutininas contrastantes. Isso significa que, se o sangue doado apresenta aglutinogênios A, o sangue do receptor não pode conter aglutininas anti-A; e que, se o sangue doado contém aglutinogênios B, o receptor não pode apresentar aglutininas anti-B. Assim, exemplificando, um indivíduo do grupo B não pode doar sangue para outro do grupo O, uma vez que as aglutininas anti-B do receptor reagiriam com os aglutinogênios B do doador, à semelhança de uma reação antígeno–anticorpo. Dessa reação, na qual os aglutinogênios B atuariam como antígeno (“estranho” ao receptor do grupo O) e as aglutininas anti-B como anticorpos, resulta a aglutinação do sangue doado, fato que pode provocar a obstrução de vasos sanguíneos, com consequências que podem levar o receptor à morte. No entanto, um indivíduo do grupo O pode doar sangue para outro do grupo B. Isso porque o volume de sangue doado não contém aglutininas em taxa suficientemente grande para provocar a aglutinação das hemácias do receptor. Observe, então, que as hemácias que se aglutinam são aquelas presentes no sangue doado e, para tanto, devem conter aglutinogênios (antígenos) “estranhos”, isto é, que não existem no sangue do receptor. No entanto, sempre que possível, deve se transfundir sangue isogrupo, pois, se transfundimos um sangue do grupo O a um paciente do grupo A, junto com as hemácias transfundidas temos uma quantidade de plasma onde há anticorpo anti-A que poderá reagir com as hemácias desse paciente, causando certo grau de hemólise maior ou menor, mas que poderá ter um significado dependendo do quadro clínico do paciente. Cada caso deve ser particularmente analisado pelo hemoterapeuta (Figura 8.1).

Esse sistema ABO também pode ocasionar incompatibilidade materno-fetal, com desenvolvimento da doença hemolítica perinatal. Apresenta também importância em transplantes renais ou cardíaco, com menor papel nos hepáticos ou de medula óssea. Em alguns processos pode ocorrer a perda parcial do antígeno A ou B, como em algumas leucemias.

| Hemácias de indivíduos dos grupos sanguíneos | | | | | |
|--|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Estrutura dos carboidratos | | | | | |
| Soro de indivíduos do tipo | O | A | B | AB | |
| O |  Anticorpos Anti-A e Anti-B | Não Aglutinação | Aglutinação | Aglutinação | Aglutinação |
| A |  Anticorpos Anti-B | Não Aglutinação | Não Aglutinação | Aglutinação | Aglutinação |
| B |  Anticorpos Anti-A | Não Aglutinação | Aglutinação | Não Aglutinação | Aglutinação |
| AB | Ausência de anticorpos para A ou B | Não Aglutinação | Não Aglutinação | Não Aglutinação | Não Aglutinação |

Figura 8.1 – Caracterização da compatibilidade dos grupos sanguíneos ABO.
GlcNAc = N-Acetylglucosamina; *Gal* = Galactosamina; *Fuc* = Fucose. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 744).

8.1.2 Sistema Rh

O fator Rh é constituído de aproximadamente 40抗ígenos, e essa família gênica ainda não é totalmente compreendida. Sabe-se que cada pessoa herda um gene ou um complexo gênico Rh de cada um dos pais. No sistema descrito por Fisher e Race, os pares alélicos produzem cinco抗ígenos (“D”, “C”, “c”, “E” e “e”). Esses抗ígenos são lipoproteínas e estão dispersamente distribuídos na

superfície das hemácias. Quando dizemos que um indivíduo é Rh positivo, quer dizer que o antígeno D está presente na superfície de suas hemácias. Isso porque o antígeno D foi o primeiro a ser descoberto nesse sistema e inicialmente foi considerado como único. Após os抗ígenos A e B (do sistema ABO), o antígeno D é o mais importante na prática transfusional.

Em algumas situações podemos ter uma expressão fraca do antígeno D. Isso pode ocorrer por:

- variações quantitativas que são transmitidas geneticamente;
- efeito de posição, sendo o mais conhecido o enfraquecimento do antígeno D quando o gene C está na posição trans em relação ao D; e
- expressão gênica parcial por ausência de um dos múltiplos componentes do antígeno D.

Esses casos são chamados na prática de Rh “fraco” e se referem ao que era conhecido anteriormente como Du. O antígeno “Du” é particularmente importante na tipagem de sangue de populações de negros nas quais é mais frequente e pode levar a falsos resultados Rh negativos e a **aloimunizações** tanto por transfusões quanto por gestação incompatível.

Ao contrário do que ocorre com os抗ígenos A e B, as pessoas cujos eritrócitos carecem do antígeno D não têm regularmente o anticorpo correspondente. A produção de anti-D quase sempre é posterior à exposição por transfusão ou gravidez a eritrócitos que possuem o antígeno D. Uma alta proporção de pessoas D-negativas que recebem sangue D-positivo produz anti-D.

Se encontrarmos anticorpos desse sistema, podemos concluir que ocorreu uma imunização através de uma transfusão ou de uma gravidez. Qualquer antígeno desse sistema é capaz de provocar a produção de anticorpos e assim a gerar situações de incompatibilidade.

Aloimunizações contra抗ígenos E, c, e, C são também observadas em pacientes politransfundidos, mas com uma frequência inferior.

A maioria dos casos de doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) é devida ao anti-D. A profilaxia por imunoglobulinas

Aloimunização

A aloimunização ou isoimunização Rh é uma condição caracterizada pelo contacto de indivíduos Rh negativos com hemácias Rh positivas, levando à produção de anticorpos contra os抗ígenos presentes naquelas hemácias. Esses anticorpos têm a capacidade de destruir as hemácias Rh positivas. No caso de mães Rh negativas que possuem anticorpos anti-Rh, esses anticorpos atravessam a placenta, entram em contato com o sangue fetal e têm a capacidade de destruir as hemácias fetais. O resultado final é a anemia, que pode ser grave e levar à insuficiência cardíaca e a edema generalizado.

anti-D diminuiu o número de aloimunizações maternas contra o antígeno D, mas não contra E, c, e, C.

Na rotina, é realizada a tipagem apenas para o antígeno D nesse sistema. Os outros抗ígenos (E, C, c, e) são determinados apenas em situações onde ocorre incompatibilidade.

A produção de anticorpos contra esses抗ígenos ocorre de forma semelhante à produção de anti-D. A capacidade de provocar a produção de anticorpos desses抗ígenos varia. Partindo do mais imunogênico, temos D > c > E > C > e.

8.1.3 Transfusão

Para efeito de transfusão, é considerado que pacientes Rh positivos podem receber sangue Rh positivo ou negativo e que pacientes Rh negativos podem receber somente sangue Rh negativo.

Para os pacientes D “fraco”, existem alguns critérios a serem observados. Se o抗ígeno D está enfraquecido por interação gênica, estando ele presente integralmente, o paciente poderá receber sangue Rh positivo ou negativo. Porém, nos casos em que o抗ígeno D está enfraquecido por ausência de um dos componentes, pode ocorrer produção de anticorpos contra o抗ígeno D na sua forma completa. Como, rotineiramente, não se identifica a causa que leva à expressão enfraquecida do抗ígeno, costuma-se dar preferência a usar sangue Rh negativo para os pacientes Rh “fraco”.

Existem situações clínicas em que é necessário avaliar o risco x benefício e fazer outras opções. Nesse momento é necessário o acompanhamento do hemoterapeuta.

8.1.4 Reação de hemaglutinação

A medida direta da ligação de um anticorpo ao抗ígeno específico é utilizada na maioria dos ensaios sorológicos. Alguns importantes ensaios estão baseados na capacidade do anticorpo de se ligar ao抗ígeno e essa ligação levar a uma alteração do estado físico do抗ígeno. Essas interações secundárias podem assim ser detectadas de diversas maneiras. Por exemplo: quando o抗ígeno está presente numa superfície de uma partícula grande como, por

exemplo, uma bactéria ou um eritrócito, os anticorpos, uma vez ligados, levam essas partículas a se agruparem num fenômeno conhecido por aglutinação. O mesmo princípio aplica-se às reações utilizadas para determinação dos grupos sanguíneos em que os抗ígenos encontram-se na superfície das hemácias, e essa reação de aglutinação causada pela ligação do anticorpo é denominada hemaglutinação (do grego, haima, sangue).

Esse procedimento é utilizado para determinar o grupo sanguíneo ABO e também pode ser utilizado para o grupo Rh, mas se deve levar em consideração que somente 75% dos indivíduos Rh positivos (D positivos) podem ser tipados dessa forma, já que existem os D “fracos” que necessitam ser testados pela forma de aglutinação indireta (coombs indiretos). Para a tipagem utilizam-se anticorpos (aglutininas) anti-A ou anti-B e anti-D que se ligarão nos determinantes antigênicos A, B e D, respectivamente, presentes nas hemácias (aglutinogênios). Esses aglutinogênios estão presentes num grande número de cópias na superfície das hemácias, levando as células a se ligarem cruzadamente entre si quando da ligação do anticorpo específico. Essas ligações cruzadas ocorrem pela interação das células e pela ligação simultânea de uma mesma molécula de anticorpo em células diferentes, já que cada molécula de Ig possui pelo menos dois sítios de ligação ao antígeno.

8.1.5 Doença hemolítica do recém-nascido

Anticorpos maternos da classe IgG podem atravessar a placenta e lesar as hemácias fetais. A doença hemolítica do recém-nascido é observada com mais frequência quando existe incompatibilidade materno-fetal quanto ao antígeno D. Assim, mulheres Rh negativas, cujos filhos são Rh positivos, podem ser imunizadas pelas células fetais por ocasião do parto. Geralmente esse primeiro filho não sofrerá ação dos anticorpos maternos, mas um segundo filho poderá ser prejudicado. Os anticorpos maternos, entrando na circulação fetal através da placenta, fixam-se às hemácias e causam destruição dessas células. Para compensar a anemia resultante, a medula fetal responde excessivamente, assim como outros órgãos hematopoiéticos. Como consequência evidenciam-se eritroblasto-se, anemia e hepatoesplenomegalia (Figura 8.2).

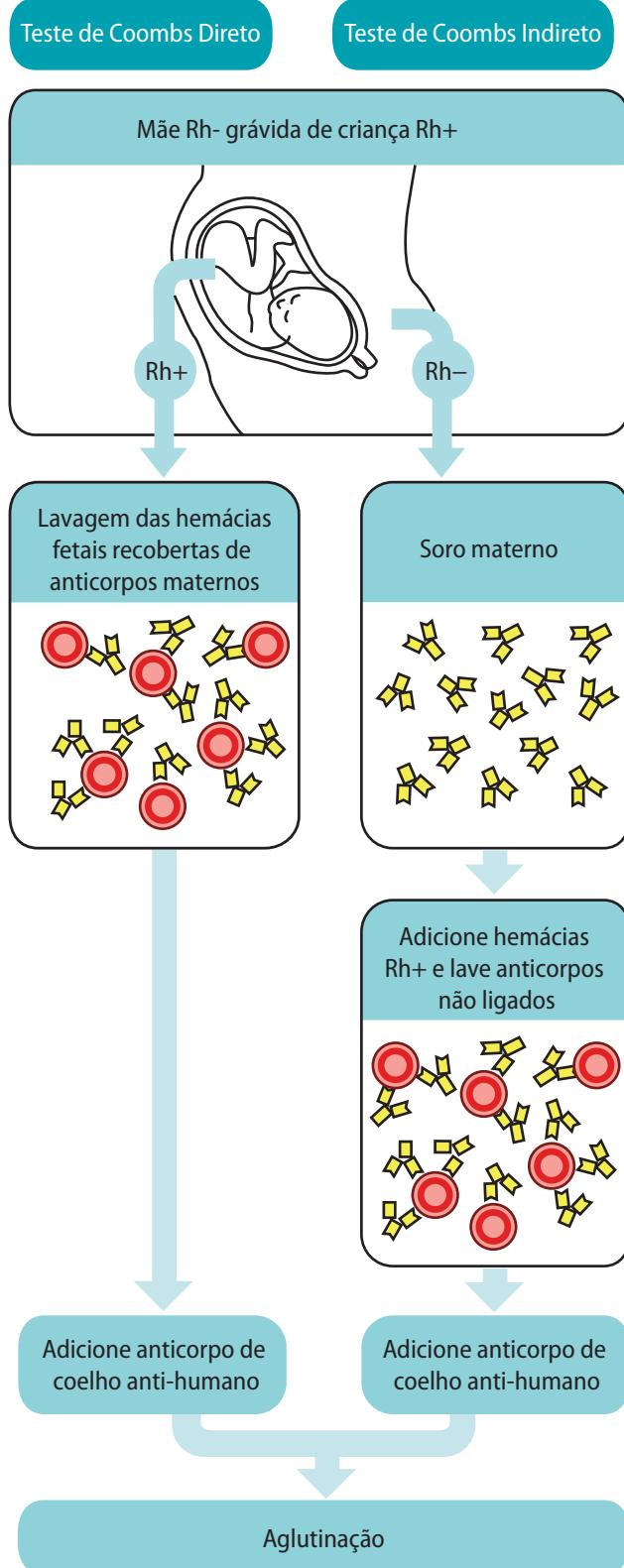


Figura 8.2 – Coombs direto e indireto no diagnóstico da anemia hemolítica do recém-nascido. (Adaptado de MURPHY et al., 2008, p. 749).

8.2 Imunofluorescência

As técnicas de imunofluorescência abriram várias perspectivas para a área de Imunologia e consequentemente para outras áreas do conhecimento, como a Patologia, a Histologia e a Biologia. Anteriormente à padronização dessas técnicas, as reações antígeno-anticorpo eram evidenciadas por métodos indiretos, mediante a observação e a análise de fenômenos secundários (formação de imunocomplexos resultantes da união entre antígeno e anticorpo), como precipitação, aglutinação, fixação do complemento etc.

A ideia de ligar radicais fluorescentes às moléculas de anticorpos possibilitou a visualização direta desses anticorpos, como também das estruturas antigênicas.

O sucesso dessa técnica se deve à intensa luminosidade emitida por quantidades extremamente diminutas de fluoresceína (fluorocromo). Segundo Coons, em 1956, cada célula bacteriana visível pela fluoresceína fixa cerca de 3×10^{-7} microgramas de proteínas de anticorpos, conjugados com $1,5 \times 10^{-9}$ microgramas de fluoresceína. Outro fator que contribui com a sensibilidade da técnica é que ela permite distinguir uma única bactéria fluorescente entre 10^7 bactérias não fluorescentes, isto é, uma em dez milhões.

Vamos conhecer as propriedades dos fluorocromos.

Fluorocromos são moléculas que têm a capacidade de ser excitadas a um estágio energético mais elevado por uma radiação luminescente de comprimento de onda característico. Com o retorno dos elétrons excitados ao seu estado normal, o excesso de energia é liberado sob a forma de luz. O comprimento de onda da luz emitida é maior do que o usado para excitar as moléculas. Quando o processo de excitação-emissão ocorre por um espaço de tempo muito curto, da ordem de 10^{-9} a 10^{-8} segundos, ele é denominado de fluorescência.

Vários são os corantes fluorescentes, entre eles citamos o isotiocianato de fluoresceína e a rodamina. Essas moléculas apresentam comprimentos de onda característicos de excitação e emissão. O isotiocianato de fluoresceína, por exemplo, tem uma excitação máxima a 490-495 nm e um máximo de emissão a 517 nm. Esse fluorocromo emite uma luz de cor verde-amarelo.

8.2.1 Método direto ou em uma única etapa

No teste de imunofluorescência direta, o anticorpo específico para o antígeno é diretamente marcado com o fluorocromo. Como alternativa, o fluorocromo pode ser conjugado ao antígeno para detecção de anticorpos específicos sintetizados por células ou seções em tecidos. Nesse teste, o material em estudo é incubado por um período de 20 a 60 minutos, com o antígeno ou anticorpo marcado. Após esse período, a lâmina contendo a amostra é lavada, secada e, por fim, examinada ao microscópio de fluorescência. Por exemplo: identificação de linfócitos B, bacilo diftérico, sorotipos de leptospiras etc.

8.2.2 Método Indireto ou em duas etapas

Na imunofluorescência indireta, o antígeno é previamente fixado à lâmina. O soro do paciente contendo ou não anticorpos específicos para o antígeno fixado na lâmina é aplicado sobre a amostra antigênica. A lâmina é incubada por um período equivalente a 30 minutos para possibilitar a reação entre o antígeno e o anticorpo. A lâmina é lavada para se removerem todas as proteínas (imunoglobulinas) não fixadas ao antígeno. Em seguida, um antianticorpo (anti-imunoglobulina) marcado com uma substância fluorescente é adicionado à amostra. Novamente, a amostra é submetida a um período de incubação de 30 minutos. Esse procedimento é seguido de lavagem e secagem das lâminas. Ao final, as lâminas são analisadas ao microscópio de fluorescência. A técnica é utilizada na pesquisa de anticorpos circulantes no diagnóstico de toxoplasmose, sífilis, doença de Chagas, anti-DNA, anticorpos antitireoide etc (Figura 8.3).

É preciso enfatizar que o método indireto tem algumas vantagens sobre o método direto. As justificativas são abaixo listadas.

- A fluorescência é mais evidente, uma vez que a um determinante antigênico liga-se somente uma molécula de anticorpo e, quando se aplica o antianticorpo conjugado a um corante fluorescente, várias moléculas podem se ligar ao anticorpo presente no soro do paciente. Muitos anticorpos podem ser pesquisados.

dos usando o mesmo conjugado marcado, pois a especificidade não é para o antígeno, mas para a imunoglobulina.

- A técnica permite detectar a classe do anticorpo circulante em determinada fase da infecção, pois basta selecionar o antianicorpo específico para a cadeia pesada característica de cada classe.
- A realização de diluições seriadas de cada soro nos permite ter uma ideia semiquantitativa do título desse soro.

Devemos destacar que, além dessa técnica de conjugação com radicais fluorescentes, outros processos de marcação são utilizados: isótopos radioativos ou substâncias eletroindensas. Esses permitem a identificação e a localização por meio de técnicas autoradiográficas e de microscopia eletrônica, respectivamente. As técnicas imunoenzimáticas (ELISA, do inglês, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) são baseadas na ligação de anticorpos a enzimas (ELISA). O emprego dessa técnica constitui uma alternativa vantajosa, visto a sensibilidade satisfatória dessa técnica e o fato de ela permitir uma análise quantitativa das amostras em estudo.

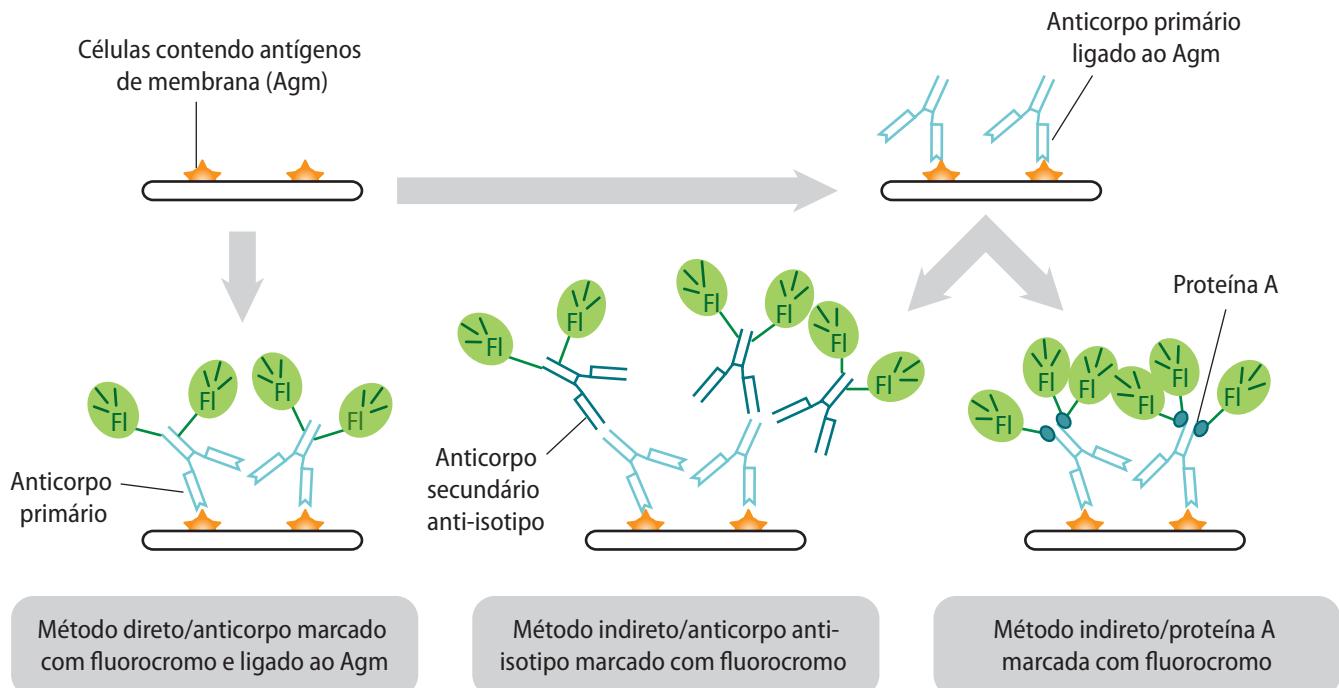


Figura 8.3 – Método direto e indireto de imunofluorescência. (Adaptado de GOLDSBY et al., 2003. p.153).

8.3 Passemos a entender os ensaios imunoenzimáticos (ELISA)

Estes ensaios são desenvolvidos em placas de plástico constituídas por pocinhos em que os reagentes são depositados. Antígenos ou anticorpos, dependendo do objetivo do método, são adsorvidos à placa. Enzimas são conjugadas às moléculas de anticorpos ou antígenos. Nessa condição, quando se aplica o substrato da enzima, seguido da adição de uma substância cromógena, gera-se um produto colorido que poderá ser lido por espectrofotometria. Várias enzimas podem ser conjugadas, entre elas, citamos a peroxidase e a fosfatase alcalina. Essa reação apresenta alta sensibilidade, especificidade e custo baixo.

8.3.1 Método indireto

O soro ou amostra contendo o anticorpo primário é colocado sobre a placa contendo o antígeno adsorvido. Segue-se um período de incubação de 30 minutos para favorecer a ligação dos anticorpos ao antígeno. Posteriormente, a placa é lavada. Todo o anticorpo livre, não ligado ao antígeno, é desprezado nessa lavagem. Um anticorpo secundário (antianticorpo) conjugado a uma enzima é adicionado. Segue-se mais um período de incubação de 30 minutos. Esse passo é seguido de lavagem para remover os anticorpos livres. Adiciona-se o substrato para a enzima e o cromógeno. O produto colorido é quantificado em leitores de placa (espectrofômetros especializados) que medem a absorbância.

8.3.2 Método sanduíche

O anticorpo é imobilizado na placa de microtitulação. A amostra contendo ou não antígeno é adicionada na placa. Segue-se um período de incubação para permitir a ligação do antígeno ao anticorpo fixado. Após esse período de incubação, a placa é lavada e um anticorpo específico ligado a uma enzima para os diferentes epítopos do antígeno é adicionado para permitir a reação com o antígeno ligado. Após a remoção dos anticorpos secundários li-

vres, o substrato é adicionado, seguido do cromógeno, e o produto colorido da reação é quantificado. Esse ensaio permite a detecção ou a quantificação do antígeno.

8.3.3 Método competitivo

Nesta técnica, o anticorpo é primeiramente incubado em solução com uma amostra contendo ou não o antígeno. A mistura antígeno–anticorpo é então adicionada a uma placa coberta previamente com o antígeno. Quanto maior a quantidade de antígeno na amostra, uma quantidade menor de anticorpo ficará disponível para se ligar aos抗ígenos prefixados na placa. A adição de um anticorpo secundário conjugado a uma enzima para o isótipo do anticorpo primário pode ser usada para quantificar os níveis de anticorpos primários ligados na placa, como é feito no ensaio indireto.

No ensaio competitivo, como geralmente a concentração de antígeno da amostra original é maior, haverá uma quantidade menor de anticorpos disponíveis para se ligarem aos抗ígenos fixados na placa. Com a lavagem, ocorre a remoção dos抗ígenos (da amostra original) e dos anticorpos primários ligados. O anticorpo secundário conjugado a enzima, não encontrando o seu ligante, é removido da lavagem. A adição do substrato e do cromógeno resultará em um produto não colorido, portanto a absorbância será menor. Dessa forma, nos ensaios competitivos, ensaios do tipo inibitório, a concentração do antígeno na amostra é inversamente proporcional à cor produzida no ensaio.

Esses ensaios são frequentemente utilizados para o diagnóstico de doenças, a dosagem de antígeno, anticorpo e de substâncias, como, por exemplo, as citocinas (Figura 8.4).

8.4 Western-Blotting

Este método permite a identificação de uma proteína em uma mistura complexa de proteínas. No Western-blotting, a proteína é separada eletroforeticamente em um gel de poliacrilamida na pre-

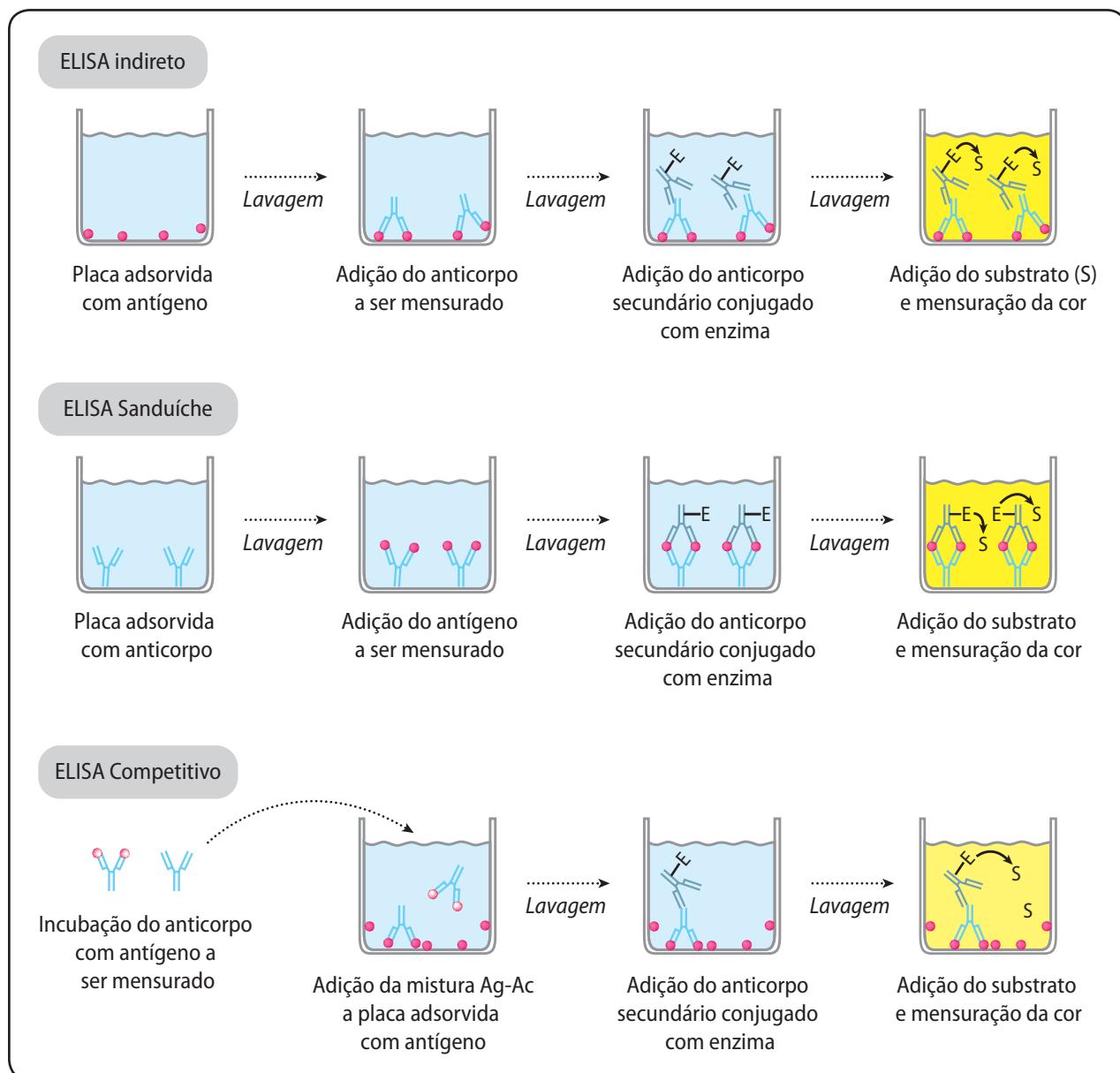


Figura 8.4 – Variações do ELISA. (Adaptado de GOLDSBY et al., 2003. p.149).

sença de docecilsulfato de sódio (SDS). As bandas proteicas são transferidas por eletroforese para uma membrana de nitrocelulose (eletrotransferência). A detecção pode ser feita pela adição de anticorpos monoclonal ou policlonal radiomarcado, e os complexos antígeno–anticorpos que se formam são visualizados por radioautografia. Essa técnica está em desuso, dado que há outras técnicas mais seguras, rápidas e de custo mais baixo.

Outras alternativas para essa detecção incluem métodos cuja marcação é feita pela ligação de uma enzima que, após a adição de um substrato, gera um produto colorido que será visualizado na membrana.

Outro exemplo é a adição de uma enzima, por exemplo, a peroxidase, que é ligada secundariamente em conjunção com um agente quimioluminescente. Os métodos de detecção quimioluminescentes dependem da incubação do Western-blot com um substrato que fluoresce quando exposto à enzima reveladora no anticorpo secundário. A luz é detectada por um filme fotográfico ou por câmeras que capturam uma imagem digital do Western-blotting. A imagem é analisada por densitometria, a qual avalia a quantidade de proteína colorida e quantifica os resultados em termos de intensidade óptica. O método de detecção por quimioluminescência ampliada é considerado um dos métodos mais sensíveis para análise em blot.

As aplicações do método de Western-blotting são vistas tanto em pesquisas básicas, clínicas e em diagnóstico. Citaremos apenas alguns exemplos do uso desse método na confirmação de alguns diagnósticos:

- a confirmação dos resultados positivos encontrados no teste de ELISA para o HIV é feita através do Western-blotting. Nesse teste é analisada no soro do paciente a presença de anticorpos dirigidos contra as proteínas virais, especificamente, a p 24 ou p 31, gp 41 e gp 120/160. A presença de anticorpos para essas quatro proteínas virais é considerada como prova de infecção pelo HIV;
- em certos casos, é fundamental analisar se recém-nascidos de mãe soropositivas estão infectados com o vírus ou se os anticorpos antivírus maternos foram transferidos para o feto; e
- o Western-blotting também é um teste definitivo para a doença da vaca louca (Figura 8.5).

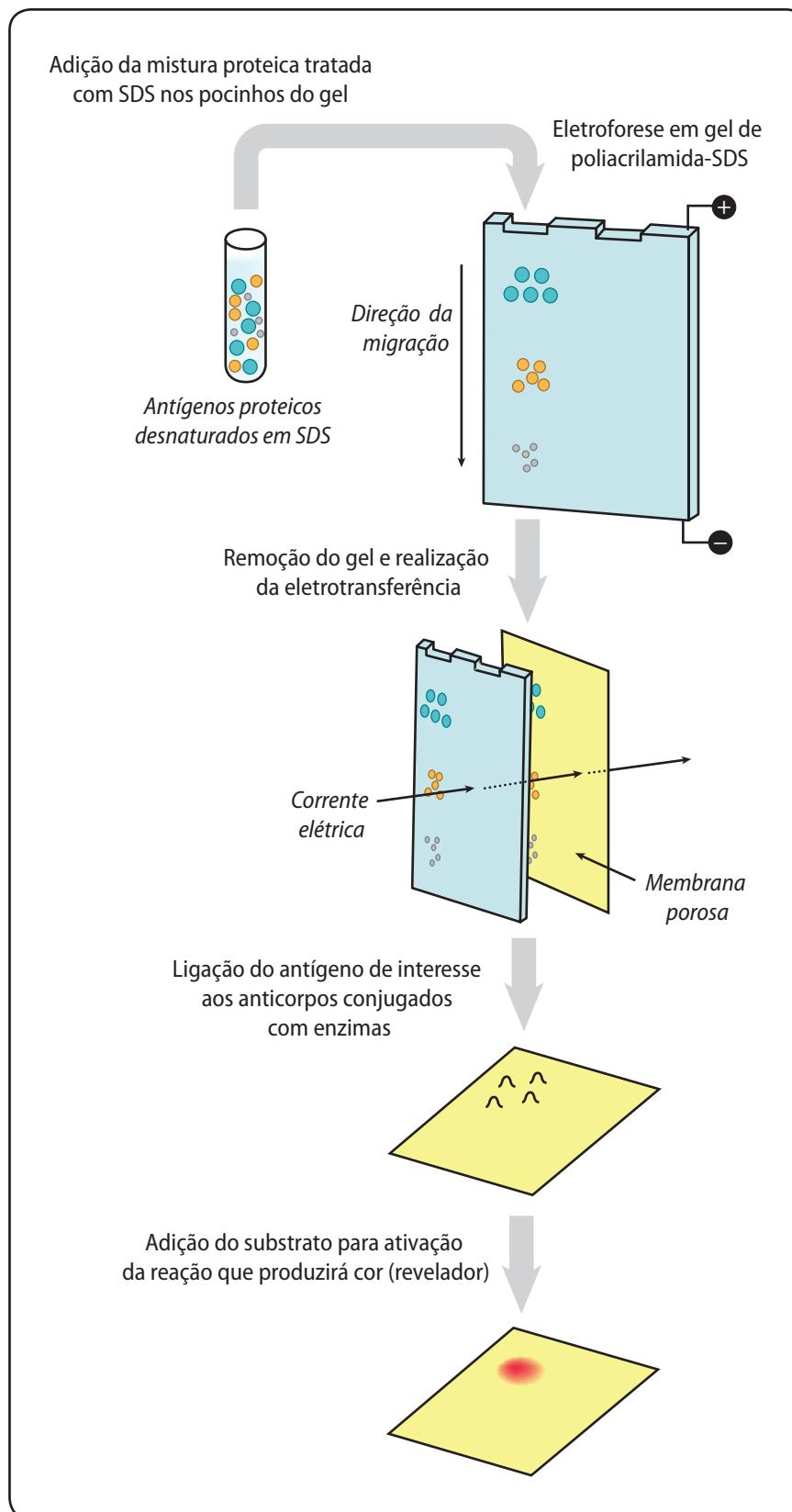


Figura 8.5 – Western-blotting. (Adaptado de GOLDSBY et al., 2003, p. 151).

8.5 Citometria de fluxo

Esta técnica permite a identificação, a caracterização, a quantificação e a seleção de células. Como vários parâmetros podem ser analisados simultaneamente, a técnica é também conhecida como citometria de fluxo multiparamétrica. Essas análises são realizadas em um equipamento de alta tecnologia composto de vários componentes: um sistema fluido (câmara de fluxo de célula), uma fonte de luz, um detector e um conversor de sistema analógico para digital (ADC), gerando FSC (do inglês, *Forward Scatter*, que significa ângulo de dispersão frontal) e SSC (do inglês, *Side Scatter*, que significa ângulo de dispersão lateral), assim como sinais fluorescentes, sistema de amplificação – linear ou escala logarítmica – e um computador para análise de sinais.

Os procedimentos iniciais implicam o tratamento da amostra celular (marcação) com substâncias fluorescentes. Essas células marcadas são submetidas a uma câmara de fluxo contínuo. Elas são alinhadas em fila única e “forçadas” a passar em fila, uma por uma, por um feixe luminoso, normalmente *laser*, de um único comprimento de onda (cor). Essa passagem é garantida por um sistema de baixa pressão ao redor delas. No equipamento há detectores que são apontados para o local onde o fluxo passa através do feixe de luz: um na linha do feixe de luz, o FSC, e vários perpendiculares a este, o SSC, além de um ou mais detectores fluorescentes. O FSC fornece dados sobre o volume celular e o SSC, sobre a forma do núcleo, a quantidade e o tipo dos grânulos citoplasmáticos e da

Parâmetros medidos

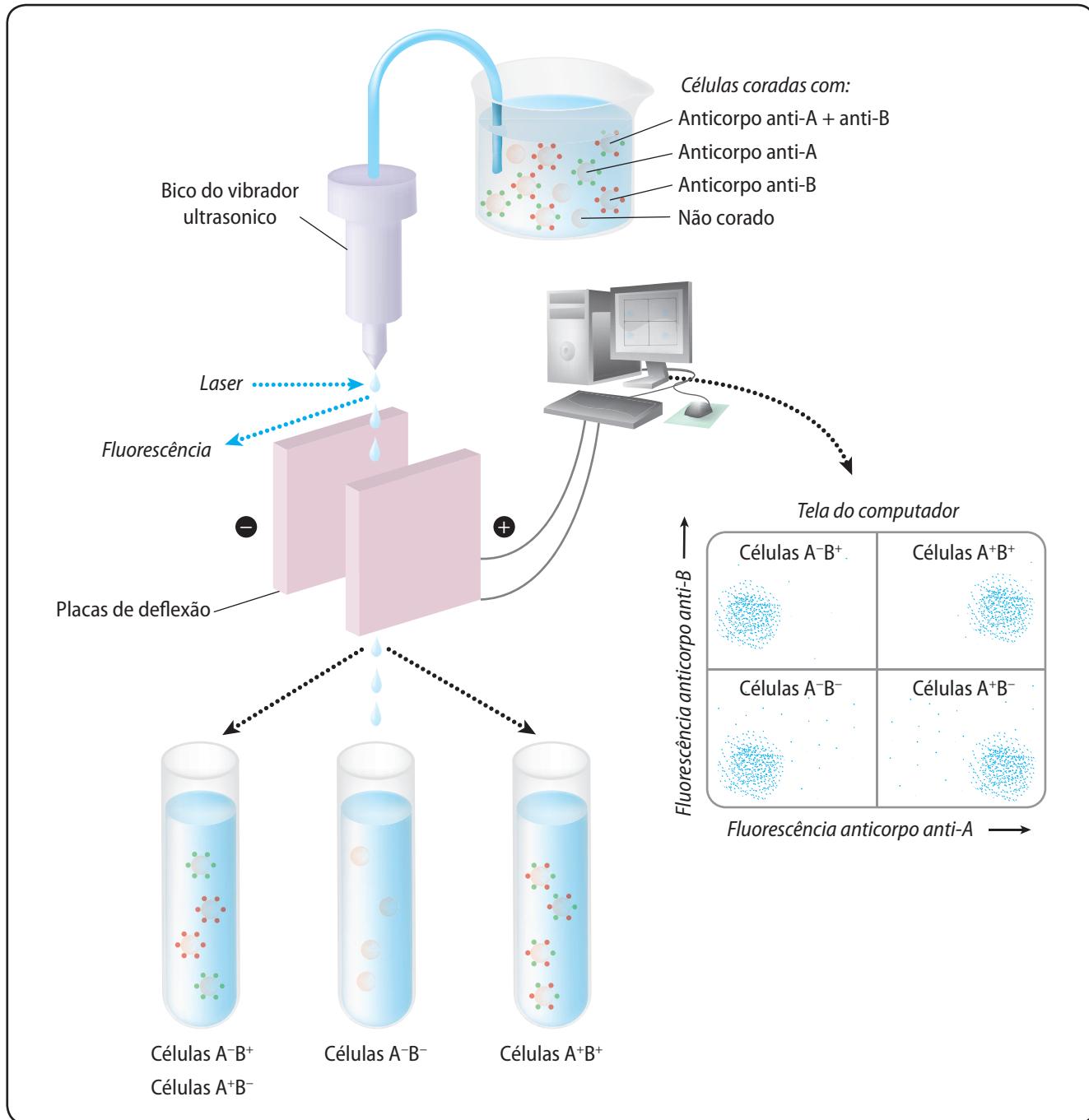
Os parâmetros possíveis de medir são o volume e a complexidade morfológica das células e dos pigmentos celulares como clorofila, DNA (análise de tipo de células, cinética celular, proliferação etc.) e RNA; e a análise e a classificação de cromossomas, proteínas,抗原s à superfície celular (marcadores CD),抗原s intracelulares (várias citocinas, mediadores secundários etc.),抗原s nucleares, atividade enzimática, pH, cálcio ionizado intracelular, magnésio, potencial de membrana, fluidez da

membrana, apoptose (quantificação, medidas da degradação do DNA, potencial da membrana mitocondrial, alterações na permeabilidade, atividade da caspase), viabilidade celular, monitorização da electroporeabilização das células, caracterização da multirresistência a fármacos em células tumorais, glutationa e várias combinações (DNA/抗原s de superfície etc.). Essa lista é muito longa e está em constante expansão.

(Disponível em: Wikipédia, a enclopédia livre; 2009).

Figura 8.6 – Citometria de fluxo.
(Adaptado de GOLDSBY et al., 2003, p. 155).

rugosidade da membrana. Com esse sistema, cada célula é “esquadrinhada” de forma individual. Cada partícula suspensa que passa através do feixe dispersa a luz de uma forma, e os corantes fluorescentes encontrados na partícula ou juntos à partícula podem ser excitados e emitir luz. Os sinais ópticos gerados são convertidos em sinais eletrônicos e, por fim, digitalizados para posterior análise em computador (Figura 8.6).



Resumo

Ao final deste aprendizado, você será capaz de realizar e interpretar os testes que envolvem reações de aglutinação, imunofluorescência, ELISA, Western-blotting e citometria de fluxo.

Nas reações de aglutinação, a natureza do antígeno envolvido na reação antígeno–anticorpo é particulada ou insolúvel. Como exemplo citamos as reações que envolvem a determinação dos grupos sanguíneos do sistema ABO e Rh.

Os métodos de imunofluorescência são de dois tipos: o direto e o indireto. O método direto é utilizado para a detecção de antígeno ou de moléculas de anticorpos. Nesse método, os fluorocromos são conjugados ao anticorpo específico para a visualização do antígeno. No método indireto ou em duas etapas, o anticorpo específico para a molécula antigênica não é marcado com a substância fluorescente. A detecção do anticorpo é obtida pela adição de antianticorpo marcado com o fluorocromo. A avaliação dessas reações é feita em microscópios de imunofluorescência.

Os princípios metodológicos que regem os ensaios imunoenzimáticos são muito semelhantes aos observados nas reações de imunofluorescência, exceto pela marcação das moléculas, que não é feita pelo uso de substâncias fluorescentes, mas sim pela conjugação de enzimas e pela adição de substrato enzimático e cromógeno. O sistema de leitura é feito por espectrofotometria.

O Western-blotting é uma técnica utilizada para identificar uma proteína em uma mistura complexa de proteínas, para isso as bandas proteicas são transferidas por eletroforese para uma membrana de nitrocelulose (eletrotransferência). A detecção pode ser feita pela adição de anticorpos monoclonal ou policlonal marcado com substâncias radioativas, com enzimas, em conjunção ou não, com agentes quimioluminescentes.

A citometria de fluxo permite a identificação, a caracterização, a quantificação e a seleção de células.

Referências

CITOMETRIA DE FLUXO. Wikipédia. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/citometria_de_fluxo>. Acesso em: 19 dez. 2009.

MUNDO VESTIBULAR. Disponível em: <http://www.mundovestibular.com.br/content_images/1/Biologia/sanguineo/45.jpg>. Acesso em: 10 mar. 2010.

GOLDSBY, R. A.; KINTDT, T. J.; OSBORNE, B. A.; KUBY, J. *Immunology*. 5. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2003. p. 149; 151; 153 e 155.

MURPHY, Kenneth; TRAVERS, Paul; WALPORT, Mark. *Janeway's immunobiology*. 7. ed. New York: Garland Science, 2008. p. 744 e 749.

VAZ, A. J., TAKEI, K.; BUENO, E. C. *Imunoensaios: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.