

V SEMINÁRIO

Tema: RESPOSTA IMUNITÁRIA – PERSPECTIVAS BIOQUÍMICAS, FISIOPATOLÓGICAS E CLÍNICAS

Subtemas:

- Imunidade e disfunção do sistema imunitário
- Bases bioquímicas da resposta imunitária
 - I – Imunoglobulinas
 - II – Linfocitos B e T
- Alterações da imunidade celular

Intervenientes

- Docentes Convidados
 - Dr. Manuel Barbosa (Assistente de Medicina I/FML)
 - Dr. Luís Tavares (Interno do Serviço de Doenças Infecciosas/HSM)
 - Docentes do Instituto de Bioquímica/FML
 - Dra. Yolanda Pinto (Assistente Estagiária)
 - Dr. José Rodrigues Loureiro (Monitor do Instituto de Bioquímica e Interno do Internato Geral/HSM)
-

RESPOSTA IMUNITÁRIA NORMAL. DISFUNÇÕES DO SISTEMA IMUNITÁRIO – DOENÇA ALÉRGICA, DOENÇA AUTO-IMUNE

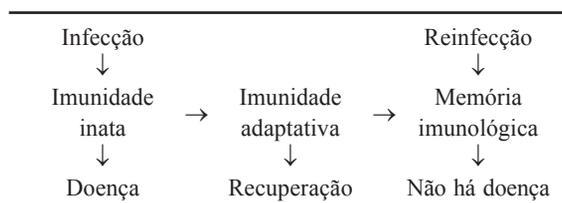
Manuel Barbosa

Introdução

Etimologicamente, o termo imune significa “isento de”. Imunes eram os patrícios romanos porque estavam “isentos” de pagar impostos. Extrapolando, poder-se-á dizer que, para estarmos isentos de doença, temos que ter um sistema “imune” que nos defenda da agressão *latu sensu* considerada (bactérias, vírus, células neoplásicas, parasitas, etc.).

A evolução das espécies permitiu o aperfeiçoamento deste sistema de defesa que, sumariamente, podemos dividir em “inato” (sem especificidade) e “adaptativo” (com especificidade e memória). O sistema imune vigia ainda o “desvio” das células do “self”, ou seja, reconhece o que é “próprio” do que é estranho ou, do que sendo “próprio”, se encontra alterado.

Em circunstâncias normais o equilíbrio entre a agressão e a resposta evita a doença, mas este equilíbrio pode romper-se porque o sistema falha, sendo incapaz de controlar o processo de agressão, ou porque o sistema perde capacidade de resposta (imunodeficiência), ou porque o sistema exagera a resposta (doença auto-imune, doença alérgica):



Sistema Imune Inato:

- **Factores solúveis** – Lizosima, complemento, proteínas de fase aguda, interferão, etc.
- **Células** – Fagocitos, células “natural killer” (N.K.).

Sistema Imune Adaptativo:

- **Anticorpos** – Linfócitos B – Imunidade humoral
- **Linfócitos** – Imunidade celular

Sistema Imune Inato:

- Defesas exteriores
 - Mucosas
 - Células ciliadas do aparelho respiratório
 - Secreções ácidas do estômago
 - Glândulas sebáceas
 - Lizosimas
 - Organismos comensais do tubo digestivo e vagina
- Fagocitos e N.K.
 - Fagocitos da linha monocito/macrofágica
 - N.K. citotoxicidade
- Proteínas de fase aguda e interferões
 - Proteína-C-reativa
 - Complemento, opsonização
 - Interferões

Imunidade adaptativa

A especificidade da resposta imune é baseada na especificidade dos anticorpos e linfócitos:

Não “self” Antigénio ↓	resposta não adaptativa	“self” resposta adaptativa
Primeiro contacto	+	+
Segundo contacto	+ (sem memória)	++++ (memória)

Disfunções do sistema imunitário:

- Diminuição da resposta
 - Imunodeficiências primárias
 - Imunodeficiências secundárias
- Exagero da resposta
 - Doenças auto-imunes
 - Doenças alérgicas

BASES BIOQUÍMICAS DE RESPOSTA IMUNITÁRIA. I – IMUNOGLOBULINAS

Yolanda Pinto

As imunoglobulinas são proteínas (globulinas) com pesos moleculares variáveis entre 150.000 a 900.000 daltons, constituindo cerca de 20% das proteínas plasmáticas. Também conhecidas por anticorpos, são produzidas pelo organismo em resposta à presença de substâncias estranhas (antígenos). O anticorpo associa-se ao antígeno de forma não-covalente, iniciando o processo de destruição funcional do antígeno.

A unidade básica de todas as imunoglobulinas consiste em quatro cadeias polipeptídicas unidas por ligações bissulfito (Fig 1). Existem duas cadeias pesadas (cadeias H) e duas cadeias leves (cadeias L) distintas entre si pelo número sequência de aminoácidos. Também existem resíduos de carboidratos ligados à cadeia H pelo que as imunoglobulinas podem ser classificadas como glicoproteínas. Os resíduos de carboidratos identificados incluem D-manose, D-galactose, L-frutose, glicosamina e ácido D-acetilneuramínico.

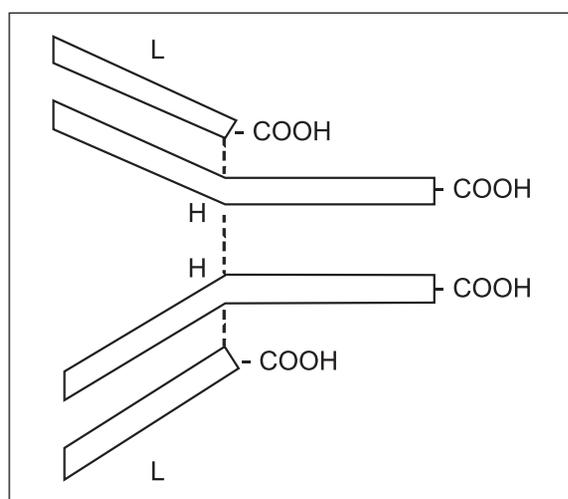


Fig. 1 – Estrutura básica de uma imunoglobulina, em que L e H representam respectivamente cadeias leves e pesadas. O tracejado indica ligações bissulfito.

A cadeia L de uma imunoglobulina (Fig 2) consiste numa região variável – V (resíduos de aminoácidos 1 a 108) e numa região constante – C (resíduos de aminoácidos 109 a 214) que contém, respectivamente, as extremidades amina (NH_2) e carboxila (COOH). Existem dois tipos principais de cadeias L: κ e λ . Ambas apresentam um resíduo de cisteína na extremidade carboxila, que irá formar a ligação bissulfito com a cadeia H na molécula de imunoglobulina. Todas as κ têm a mesma região constante com exceção do resíduo de aminoácido 191, que pode ser a leucina ou a valina. As cadeias λ apresentam variabilidade apenas na posição 191, que pode ser a lisina ou a arginina. Existe um predomínio do tipo κ sobre o tipo λ , de tal modo que aproximadamente cerca de 70% das imunoglobulinas humanas possuem cadeias leves e 30% cadeias do tipo λ . Cada tipo de cadeia L pode estar associada com qualquer uma das classes de cadeia pesada.

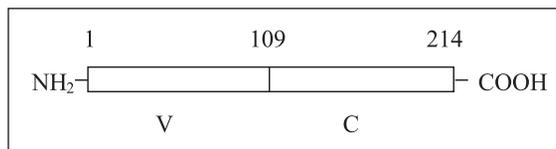


Fig. 2 – Representação esquemática da cadeia leve de uma imunoglobulina, em que V e C representam respectivamente as regiões variável e constante.

A cadeia H é constituída por 446 resíduos de aminoácidos, apresentando, tal como a cadeia leve, uma região variável e uma constante (Fig 3). Todas as diferenças na sequência peptídica localizam-se no resíduo do aminoácido 108. A região variável da cadeia H apresenta igual comprimento à da cadeia L, mas a região constante é cerca de três vezes maior

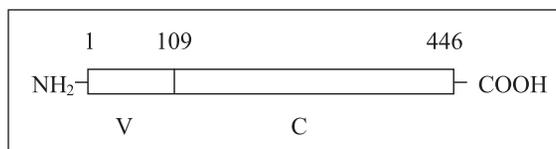


Fig. 3 – Representação esquemática da cadeia pesada de uma imunoglobulina, em que V e C representam respectivamente as regiões variável e constante.

As diversas proporções ou domínios (regiões constante e variável) da molécula permitem a classificação das imunoglobulinas e induzem propriedades características.

Existem cinco classes de imunoglobulinas (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM) cujas características químicas e estruturais são conhecidas (Quadro I). A cada classe corresponde determinado tipo de cadeia pesada: α para a IgA, δ para a IgD, ϵ para IgE, γ para a IgG e μ para a IgM. Na mesma imunoglobulina existe sempre um par de cadeias pesadas do mesmo tipo. A fórmula molecular de cada imunoglobulina é representada pela associação das cadeias L e H. Como exemplo, descrevem-se a IgA por $\alpha_2\kappa_2$, $\kappa_2\lambda_2$, e a IgG por $\gamma_2\kappa_2$, $\gamma_2\lambda_2$.

Variações na estrutura molecular da cadeia pesada dentro de uma classe originam diferentes subclasses. Para a IgG humana descrevem-se quatro subclasses – IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄ – cujas cadeias pesadas se designam respectivamente por γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 .

A imunoglobulina IgM, em geral, forma um pentâmero de cinco monómeros de L₂H₂.

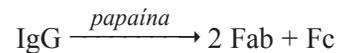
O polímero da IgA plasmática corresponde às formas de monómero, dímero ou trímero, em que para além das duas cadeias L e duas cadeias H se encontra ainda uma cadeia J, ou de junção, que une as outras (esta também existe na IgM).

Enzimas, como a papaína e a pepsina, permitem a clivagem das cadeias de imunoglobulinas em fragmentos com propriedades imunológicas e funcionais distintas.

A papaína cliva as cadeias H na extremidade carboxilo próximo da ligação bissulfito que une

as cadeias H e L. O fragmento Fab resultante é composto pela cadeia L inteira e pelo domínio da cadeia H que contém a extremidade amina, enquanto o Fc engloba os segmentos de ambas as cadeias H em que estão as extremidades carboxilo.

A papaína cliva a IgG em três fragmentos: dois Fab (PM=52.000) e um Fc (PM=48.000):



Os fragmentos Fab contêm todos os centros de ligação dos anticorpos ao antígeno. Apenas porções restritas das moléculas antigénicas estão envolvidas na ligação efectiva ao anticorpo. Essas áreas são determinantes antigénicos (ou epitopo) e responsáveis pela especificidade das reacções antígeno-anticorpo.

O Fc não está envolvido na especificidade do anticorpo ao antígeno, mas exerce funções de efector, tais como a fixação a proteínas do sistema de complemento.

Existem três tipos de variantes genéticas para os anticorpos: isotípicas, alotípicas e idiotípicas. A primeira corresponde às diferentes classes e subclasses de imunoglobulinas. A variante alotípica ocorre principalmente na região constante das cadeias pesadas, enquanto a idiotípica existe apenas nos domínios variáveis.

Os idiotipos são específicos para cada molécula de anticorpo, o que lhe permite reagir apenas com uma substância antigénica.

Quadro I – Características químicas e estruturais das classes de imunoglobulinas

Classe	Peso molecular × 10 ³ (daltons)	Tipo de cadeias		Estrutura molecular	Carboidratos %
		(L)	(H)		
IgA	180-500	κ ou λ	α	(L ₂ H ₂)n*	7-12
IgD	175	κ ou λ	δ	L ₂ H ₂	–
IgE	190	κ ou λ	ϵ	L ₂ H ₂	10-12
IgG	140-170	κ ou λ	γ	L ₂ H ₂	2-4
IgM	950	κ ou λ	μ	L ₂ H ₂	10-12

* n = 1, 2 ou 3

BASES BIOQUÍMICAS DE RESPOSTA IMUNITÁRIA. II – LINFOCITOS B E T

José Rodrigues Loureiro

Quando no organismo humano há introdução de antígenos (substâncias capazes de desencadear a síntese de anticorpos), ocorre uma série de fenómenos que consistem no reconhecimento dessa substância como estranha e no seu processamento e apresentação a células imuno-competentes, capazes de desencadear reações conducentes à neutralização e/ou eliminação desse antígeno.

Essas reacções podem ser mediadas por anticorpos (produzidos pelos plasmócitos que são células derivadas dos linfócitos B) – imunidade humoral – ou por células, entre as quais os linfócitos T desempenham funções importantes – imunidade celular.

Reconhecimento do antígeno pelo linfócito B

Anticorpos específicos para determinado antígeno são detectáveis no soro pouco tempo depois da exposição do organismo a um determinante antígeno estranho. Para explicar este facto, foram propostas diferentes teorias. Em 1940 Pauling propunha que a molécula de antígeno actuaría como padrão, segundo o que uma cadeia primitiva de anticorpo seria “moldada” de modo a expor os locais de combinação que lhe confeririam especificidade para esse antígeno. Mais tarde (1950), M. Burnet, N. Jerne, D. Talmage e J. Ledelberg defendiam uma teoria radicalmente diferente – teoria da selecção clonal. Esta teoria, com forte sustentação experimental, é hoje firmemente aceite e caracteriza-se por:

- Cada célula produtora de anticorpos sintetiza um só tipo específico de anticorpos;
- A função de síntese de um tipo específico de anticorpo é-lhe atribuída antes da exposição ao antígeno;

- A especificidade do anticorpo é determinada pela sua sequência de aminoácidos;
- A sequência de aminoácidos das cadeias de imunoglobulina é determinada pelo código genético da célula que as produz;
- Uma célula produtora de anticorpos é activada quando fixa o antígeno para o qual tem especificidade, ou seja, inicia a produção de grandes quantidades de anticorpos e é estimulada a dividir-se, constituindo um clone (conjunto de células derivadas de uma mesma célula-mãe, possuindo o mesmo código genético e produzindo portanto moléculas – anticorpos – com a mesma especificidade);
- O clone tende a persistir após o desaparecimento do antígeno e as células que o constituem mantêm a capacidade de serem estimuladas pelo antígeno se este reaparecer, o que permite dotar o organismo de uma memória imunológica e uma resposta rápida a uma eventual re-infecção – esta é a base da vacinação.

O linfócito B, como qualquer célula, é separado do meio exterior por uma membrana organizada segundo o modelo do mosaico fluido. No caso do linfócito B, sabe-se que as alterações induzidas pelo antígeno se processam através de receptores para esses antígenos que estão situados ao nível da membrana celular; esses receptores não são mais do que moléculas de imunoglobulinas. Os anticorpos ligados à membrana têm a mesma especificidade que os anticorpos solúveis que serão lançados para o meio exterior pela célula, uma vez activada. Os anticorpos ligados à membrana têm a mesma constituição em aminoácidos que as formas livres, com excepção da extremidade carboxilo terminal das cadeias pesadas onde se encontra ligada uma sequência hidrofóbica que é responsável pela fixação de moléculas à membrana (Fig. 4).

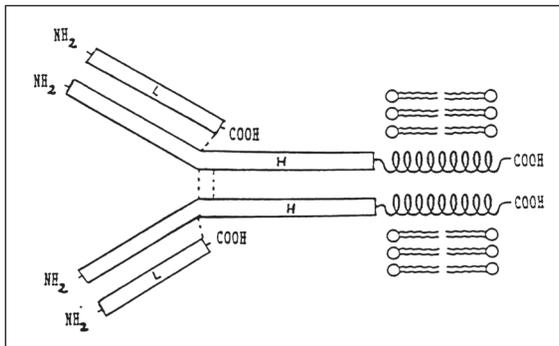


Fig. 4 – Representação esquemática da estrutura de uma imunoglobulina ligada à membrana.

O linfócito B é, portanto, activado pela ligação do antígeno à imunoglobulina de membrana. Os processos moleculares responsáveis pela transdução do sinal, resultante da ligação do antígeno, não são ainda completamente compreendidos, mas a activação da fosfolipase C (enzima ligada à membrana que hidrolisa o fosfatidilinositolpirofosfato (PIP₂)) parece participar nesse mecanismo. A activação do linfócito B traduz-se na proliferação do retículo endoplasmático rugoso, estimulação da síntese de anticorpos e multiplicação celular.

Reconhecimento do antígeno pelo linfócito T

A resposta imune humoral (linfócitos B/ anticorpos) é mais eficaz no combate a bactérias e vírus em meio extracelular. A resposta imune celular, pelo contrário, destrói principalmente células infectadas por vírus, parasitas e células anormais, nomeadamente as cancerosas.

Existem vários sub-tipos de linfócito T. De entre estes, destacam-se os T auxiliares (ou T helper) e os T citotóxicos. Os primeiros interagem com os linfócitos B, estimulando-os, e os segundos destroem directamente as células estranhas ou anormais (Fig 5).

Tal como os linfócitos B, também os T estão dotados de receptores de membrana capazes de reconhecerem moléculas estranhas na superfície

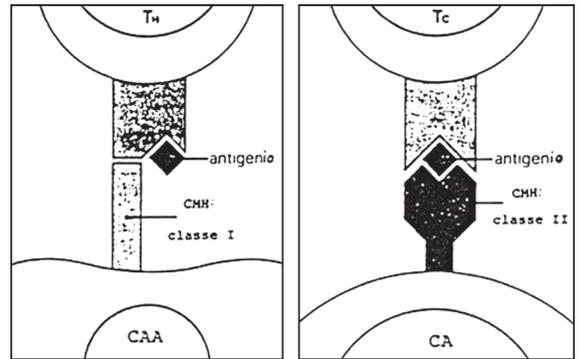


Fig. 5 – Representação esquemática da ligação entre os linfócitos T auxiliares (TH) e as células apresentadoras de antígenos (CAA) e entre os linfócitos T citotóxicos (Tc) e as células alvo (CA).

(adaptado de Roitt, Immunology, 1989)

de outras células. Os receptores de células T são também proteínas de estrutura idêntica à molécula de anticorpo, embora com algumas diferenças importantes:

- Não são segregados, encontrando-se exclusivamente à superfície da membrana do linfócito;
- Não reconhecem as macromoléculas inteiras mas sim fragmentos os quais devem estar à superfície da célula (célula-alvo ou célula apresentadora do antígeno) que tem que expressar também uma proteína do complexo *major* de histocompatibilidade. O complexo *major* de histocompatibilidade (CMH) é uma zona cromossómica que codifica proteínas transmembrana. Essas proteínas constituem como que um marcador das células que pertencem ao organismo. São estas proteínas que estão envolvidas no desencadear de processos de rejeição de órgão, quando um órgão ou tecido de um organismo é transplantado para outro com um código genético diferente ao nível do CMH.

Dividem-se em três classes, das quais se destacam aqui duas:

- Classe I – encontram-se em quase todas as células do organismo e são determinantes

na apresentação de moléculas estranhas às células citotóxicas;

- Classe II – encontram-se apenas nas células do sistema imunitário e nas células dotadas de capacidade fagocítica.

Estas proteínas de classe II e II, tal como os receptores das células T, ligam péptidos derivados de proteínas estranhas e não as próprias proteínas integrais. O processo desenrola-se nas seguintes fases:

- A célula contém no seu interior proteínas estranhas resultantes (i) da fagocitose (é o caso de algumas células apresentadoras de antígenos), (ii) da infecção por vírus que sintetizam as suas próprias proteínas no interior da célula que parasitam, (iii) de alterações do metabolismo, com síntese de proteínas anormais (é o caso das células cancerosas);
- As proteínas estranhas ou anormais são hidrolisadas a nível dos lisossomas
- Alguns dos péptidos resultantes da hidrólise são transportados para a membrana plasmática em associação com proteínas de classe I ou II, ocorrendo então a ligação com o linfócito T.

Existem várias células com funções de apresentação de antígenos, como, por exemplo, os macrófagos (que se distribuem por todo o organismo e que têm capacidade de fagocitose e apresentação do antígeno aos linfócitos T e B) e as células de Langerhans (que se localizam na pele, não são fagocíticas e apresentam o antígeno aos linfócitos T). A activação dos linfócitos não passa só pela ligação mediada por receptores, acima descrita, envolvendo também a transmissão de sinais através de mediadores químicos designados genericamente por interleucinas (tipo de citocinas – ver mais à frente).

A activação dos linfócitos T desencadeia reacções diversas. No caso dos T citotóxicos vários mecanismos podem levar à destruição da célula alvo:

- A célula T possui grânulos que contêm perforina, a proteína monomérica que, juntamente com várias enzimas, é libertada junto à membrana celular da célula alvo; na presença de cálcio, as enzimas catalisam a polimerização da perforina que se liga à célula alvo, constituindo canais transmembrana; seguidamente enzimas lisossómicas da célula citotóxica são lançadas no espaço extracelular, penetrando na célula-alvo através dos poros pré-formados. A célula citotóxica parece estar protegida da acção da perforina por proteoglicanos dos grânulos, que se podem ligar à perforina;
- A célula citotóxica pode segregar mediadores químicos que, actuando localmente sobre receptores da célula alvo, vão alterar o seu metabolismo causando lesão celular.

A activação dos linfócitos T auxiliares desencadeia a produção de mediadores que vão actuar sobre outros elementos do sistema imunitário. Estes mediadores designam-se por linfocinas e, embora possam também ser produzidas por linfócitos B, são principalmente sintetizados pelo T.

As linfocinas, juntamente com mediadores semelhantes produzidos pelos macrófagos e outras células não pertencentes ao sistema imune, constituem o grupo das citocinas. Actuam sobre os linfócitos B e T, sobre os macrófagos, sobre células precursoras de células do sangue, sobre células do fígado, do osso, do músculo, do endotélio, activando, estimulando a divisão e a diferenciação celular, induzindo a expressão de proteínas do complexo *major* de histocompatibilidade.

As linfocinas são proteínas com 100 a 200 aminoácidos, entre os quais se incluem resíduos de cisteína que formam ligações bissulfito intramoleculares, importantes para as acções fisiológicas. As linfocinas actuam sobre as células-alvo através de receptores. Estes receptores, que estão habitualmente ausentes ou presentes em pequenas quantidades nas células, aumentam de

número durante a activação celular, voltando depois aos valores basais. Vários estudos apontam para que o mecanismo de acção sobre a célula-alvo envolva a endocitose do complexo linfocina-receptor.

O sistema imunitário engloba ainda outros elementos celulares, outros mediadores, outros tipos de reacções. É um sistema altamente complexo em que todos os elementos se interrelacionam, completando-se, potenciando-se e suprimindo-se, na tentativa de cumprir a função de defesa do organismo contra os agentes infecciosos.

ALTERAÇÕES DA IMUNIDADE CELULAR

Luís Tavares

As doenças que causam imunodeficiência podem envolver primariamente qualquer (ou vários, simultaneamente) componentes do sistema imunitário, incluindo os linfócitos, as células fagocitárias e os factores do complemento.

Apesar de alguns progressos no conhecimento do mecanismo íntimo e etiologia de algumas imunodeficiências, existem ainda várias lacunas em áreas de estudo das alterações, quer a nível celular quer a nível molecular.

Existem múltiplas síndromas de imunodeficiência, correspondentes a alterações mais acentuadas ao nível da imunidade celular (linfócitos T).

Podem classificar-se como síndromas de imunodeficiência (celular) primária, as seguintes: S. DiGeorge, S. Wiskott-Aldrich, Ataxia-telangiectasia e a imunodeficiência associada a timoma. Estas doenças são congénitas (daí a designação de primária) e muito raras.

As imunodeficiências adquiridas são, pelo contrário, muito frequentes. Na verdade, a quase totalidade dos fármacos imunossuppressores utilizados no tratamento de diversas doenças, pode conduzir a graus variáveis de imunodeficiência por alteração da imunidade humoral e, sobretudo, da imunidade celular.

A síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) constitui o paradigma das imunodeficiências por alteração da imunidade celular, razão pela qual pode constituir um bom modelo para ilustrar as alterações imunológicas de tipo celular.

A SIDA é causada por um vírus RNA (retroviridade) designado HIV*. Este vírus infecta primariamente as células do grupo CD4-positivo, ou seja, a maioria dos linfócitos T e alguns monocitos. Os linfócitos CD4+, aqueles que possuem na sua superfície um receptor (é o próprio CD4) para o HIV, são na quase totalidade os também designados T helper.

Muito embora estejam esclarecidos poucos dados em relação à patogénese da infecção pelo HIV é um facto que existe, ao longo do curso de doença, uma diminuição gradual dos linfócitos CD4 (ou T. helper).

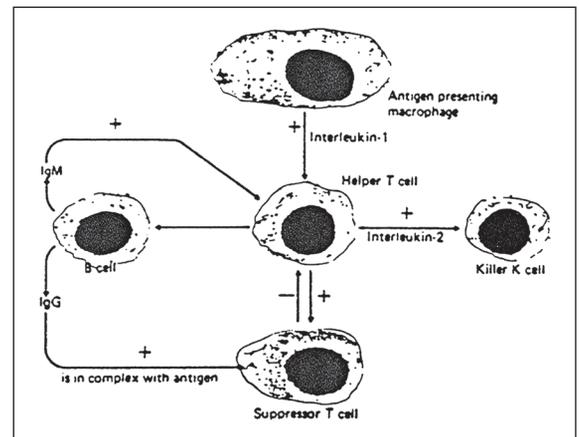


Fig. 6 – Relações celulares do sistema imunitário (adaptado de Wigzell H. 1988)

Foram propostos, como veremos mais pormenorizadamente, diversos mecanismos que conduzem à depleção (diminuição) do número de linfócitos T4.

A Figura 6 ilustra o papel dos linfócitos T helper. Não é difícil admitir que a infecção pelo HIV se traduza por alteração acentuada na regulação do sistema imunitário a vários níveis.

* HIV é o acrónimo da designação anglosaxónica Human Immunodeficiency Virus

Os linfócitos T helper também produzem factores que activam os macrófagos e a respectiva acção fagocitária. Os linfócitos T helper estimulam a multiplicação e a diferenciação dos linfócitos B, os quais são responsáveis pela produção de imunoglobulinas (anticorpos).

Estes factos conduzem a uma diminuição das defesas imunitárias em relação a algumas infecções. A consequência mais visível da infecção pelo HIV (e talvez a mais importante, pois é responsável pela evolução) é a ocorrência de múltiplas infecções “tornadas” possíveis dada a grave perturbação, sobretudo, da imunidade celular.

Bibliografia específica

1. ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. *Imunology*. Churchill Livingstone, 1989
2. HAMBLIN AS. *Lymphokines*. IRL Press, 1988
3. MITCHINSON NA. T cell recognition and interaction in the immune system. In: *Receptors, Antibodies and Disease*, Ciba Foundation Symposium, 1982
4. STRYER L. *Biochemistry*. WH Freeman and Company, 1987
5. DEVLIN TM. *Textbook of Biochemistry*. John Wiley & Sons, 1986