

Celso Lisboa – Medicina Veterinária



Professor Flávio Gimenis Fernandes
flaviogimenis@micro.ufrj.br
www.flaviogimenis.com

Respostas Imunológicas em Animais Domésticos

Aula 3



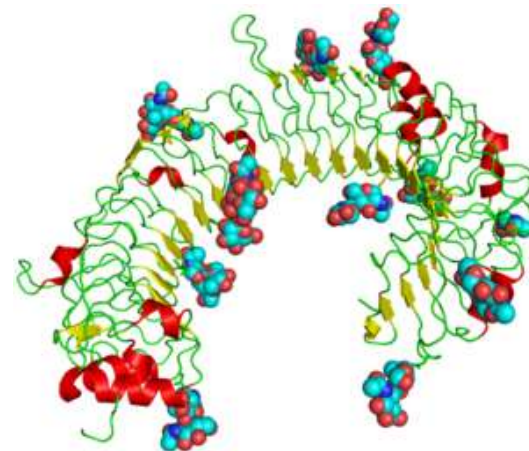
Resposta Imune Inata

-

Resposta imune inata

Reconhecimento de micro-organismos e estruturas orgânicas danificadas

O sistema imune inato reconhece estruturas moleculares que são características de patógenos microbianos, mas não de células de mamíferos. As substâncias microbianas que estimulam a imunidade inata são denominadas **Padrões Moleculares Associados aos Patógenos (PAMP)**.



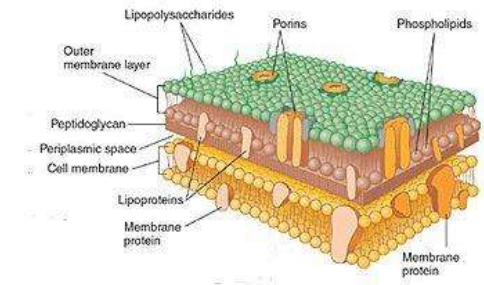
RNA dupla fita

Resposta imune inata

Reconhecimento de micro-organismos e estruturas orgânicas danificadas

Diferentes classes de micro-organismos expressam diferentes PAMPs. Estas estruturas incluem:

- Ácidos nucleicos presentes exclusivamente em micro-organismos
 - RNA dupla fita viral e DNA bacteriano
- Proteínas exclusivamente bacterianas
 - Proteína iniciada por N-formilmetionina
- Lipídeos e carboidratos complexos exclusivos de micro-organismos
 - LPS (bactérias gram negativas), ácido lipoteicoico bactérias gram positivas e oligossacarídeos ricos em manose

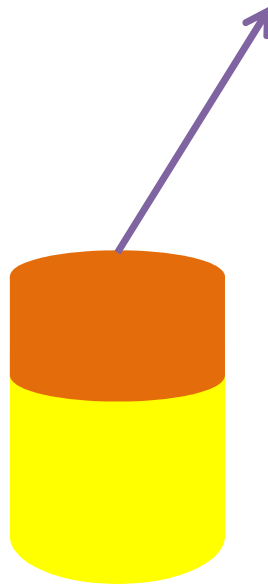


Resposta imune inata

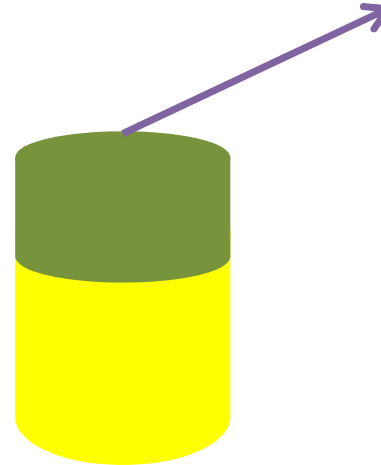
Reconhecimento de micro-organismos e estruturas orgânicas danificadas

O sistema imune inato reconhece produtos microbianos que são essenciais à sobrevivência de micro-organismos.

Glicoproteína bacteriana (final manose)

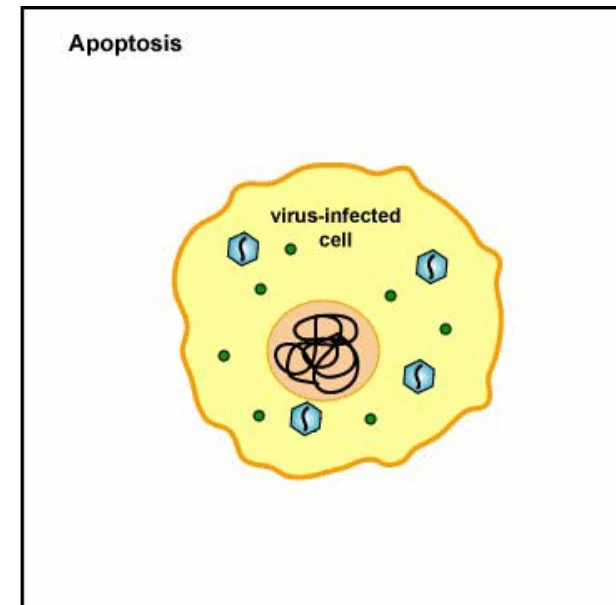


Glicoproteína celular normal (ácido siálico)



Resposta imune inata

O sistema imune inato também reconhece moléculas endógenas que são produzidas ou liberadas por células danificadas ou mortas. Essas substâncias são denominadas **Padrões Moleculares Associados a Danos (DAMP)**.



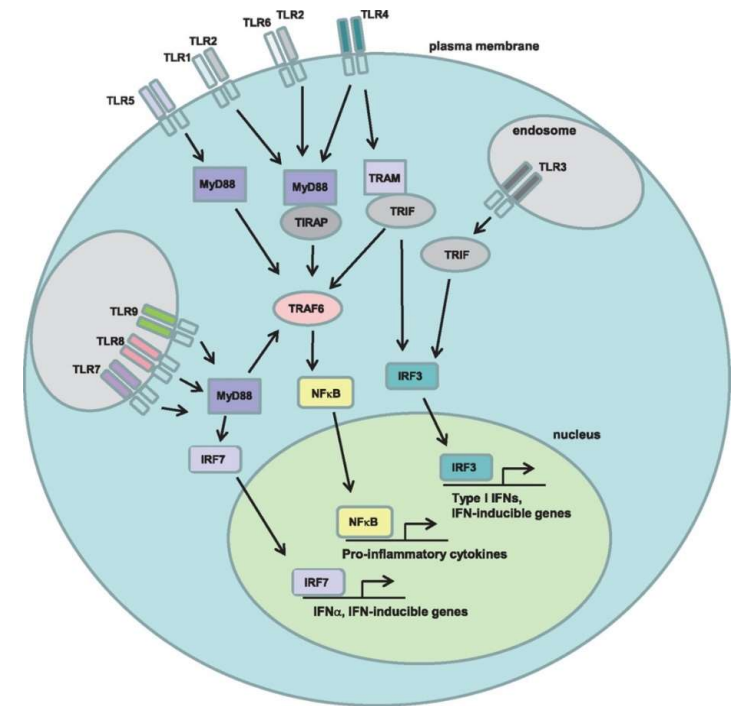
Resposta imune inata

Os DAMPs podem ser produzidos como **resultado de danos celulares provocados por infecções**, mas também podem **indicar a ocorrência de lesões celulares assépticas causadas por diversos mecanismos**, como produtos químicos, queimaduras, traumas ou redução do suprimento sanguíneo. Os DAMPs geralmente não são liberados por células mortas por apoptose.



Resposta imune inata

O sistema imune inato usa diversos tipos de receptores celulares, presentes em diversas localizações nas células, e moléculas solúveis no sangue e nas secreções mucosas para **reconhecer PAMP e DAMP**.

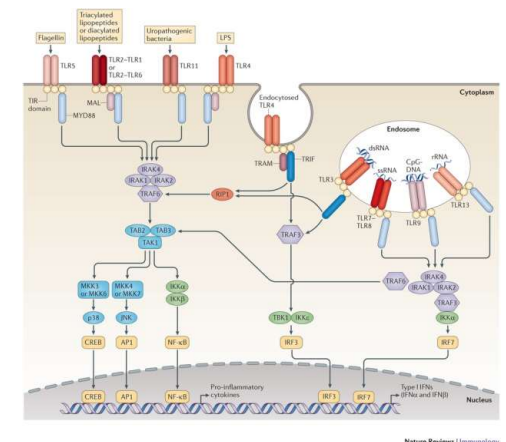


Resposta imune inata

Moléculas de reconhecimento (ancoradas na membrana celular) associadas a células do sistema imune inato são expressas por macrófagos, neutrófilos e células dendríticas

principalmente. Porém, são expressas por outros grupos celulares como células epiteliais e muitas outras células de vários tecidos e órgãos. Estes receptores celulares que reconhecem patógenos e moléculas associadas a lesões são chamados de **RECEPTORES DE**

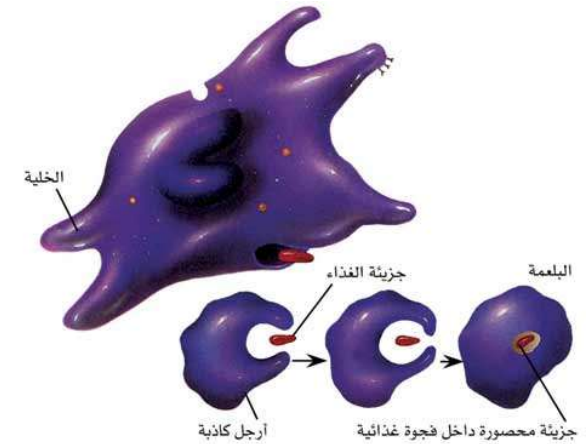
RECONHECIMENTO DE PADRÕES.



Resposta imune inata

RECEPTORES DE RECONHECIMENTO DE PADRÕES são encontrados:

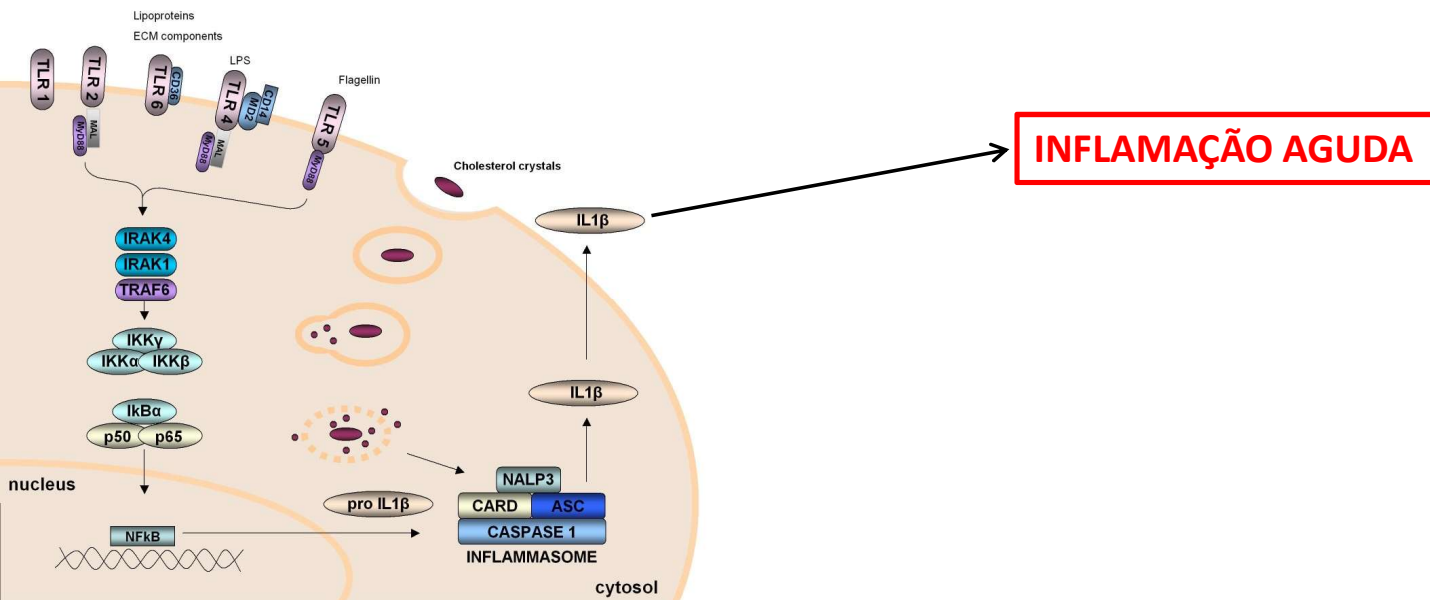
- **Membrana plasmática**
- **Membrana endossômica**
- **Citoplasma**



Com essas localizações o sistema imune inato está apto a reconhecer micro-organismos presentes fora da célula, no interior de vesículas endossômicas ou até mesmo livres no citoplasma.

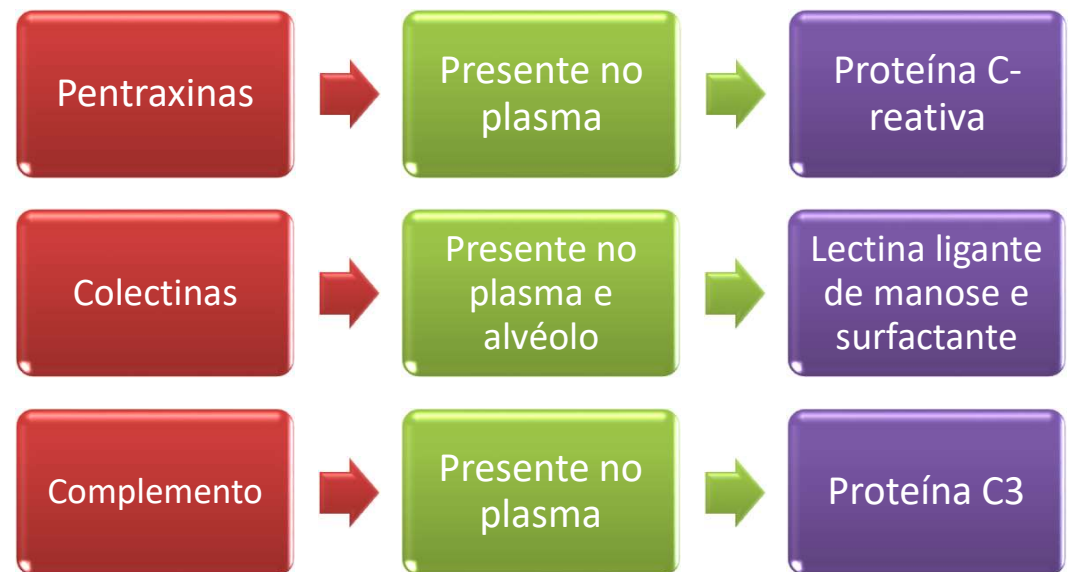
Resposta imune inata

Quando essas moléculas de reconhecimento de padrões associadas às células se ligam a PAMP e DAMP ativam eventos de transdução de sinal que promovem funções antimicrobianas e pró-inflamatórias dessas células.



Resposta imune inata

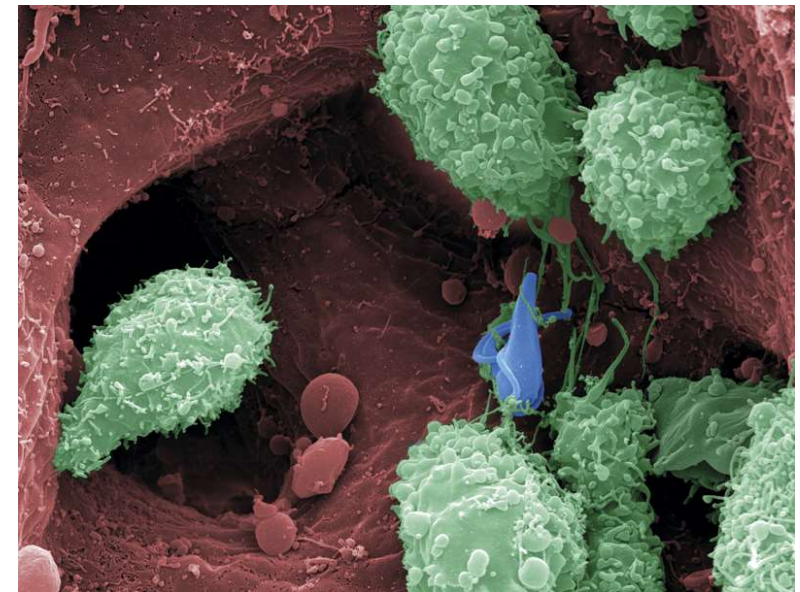
Existem muitas proteínas presentes no sangue e nos fluidos extracelulares que reconhecem PAMP. Essas moléculas solúveis são capazes de facilitar a eliminação de micro-organismos do sangue e de fluidos extracelulares por facilitar sua eliminação por fagócitos ou promover sua eliminação por dano direto.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

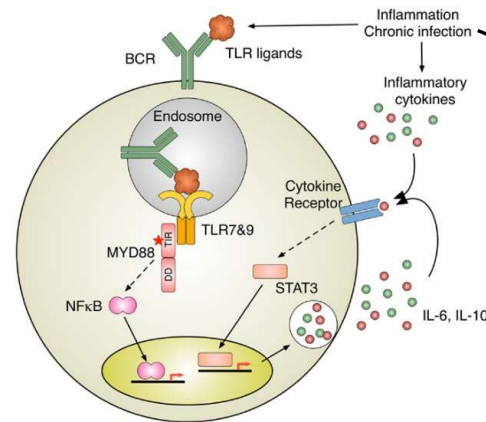
A maioria dos tipos celulares expressam receptores de reconhecimento de padrões e, portanto, é capaz de participar de respostas imunes inatas.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Células como neutrófilos, macrófagos e células dendríticas expressam as maiores variedades e quantidades destes receptores, o que é condizente com seu papel na detecção de micro-organismos e células danificadas para posterior ingestão objetivando sua eliminação, ou na indução de uma reação tendo como meta estimular a inflamação.



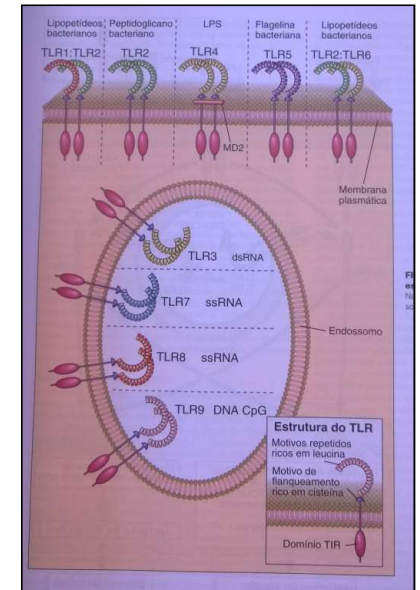
INFLAMAÇÃO CRÔNICA

Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Os receptores semelhantes a Toll (*Toll Like Receptors* – TLR), são expressos em muitos tipos celulares e reconhecem substâncias de uma ampla variedade de micro-organismos.

Atualmente, existem nove TLRs descritos em humanos (TLR1 ao 9).

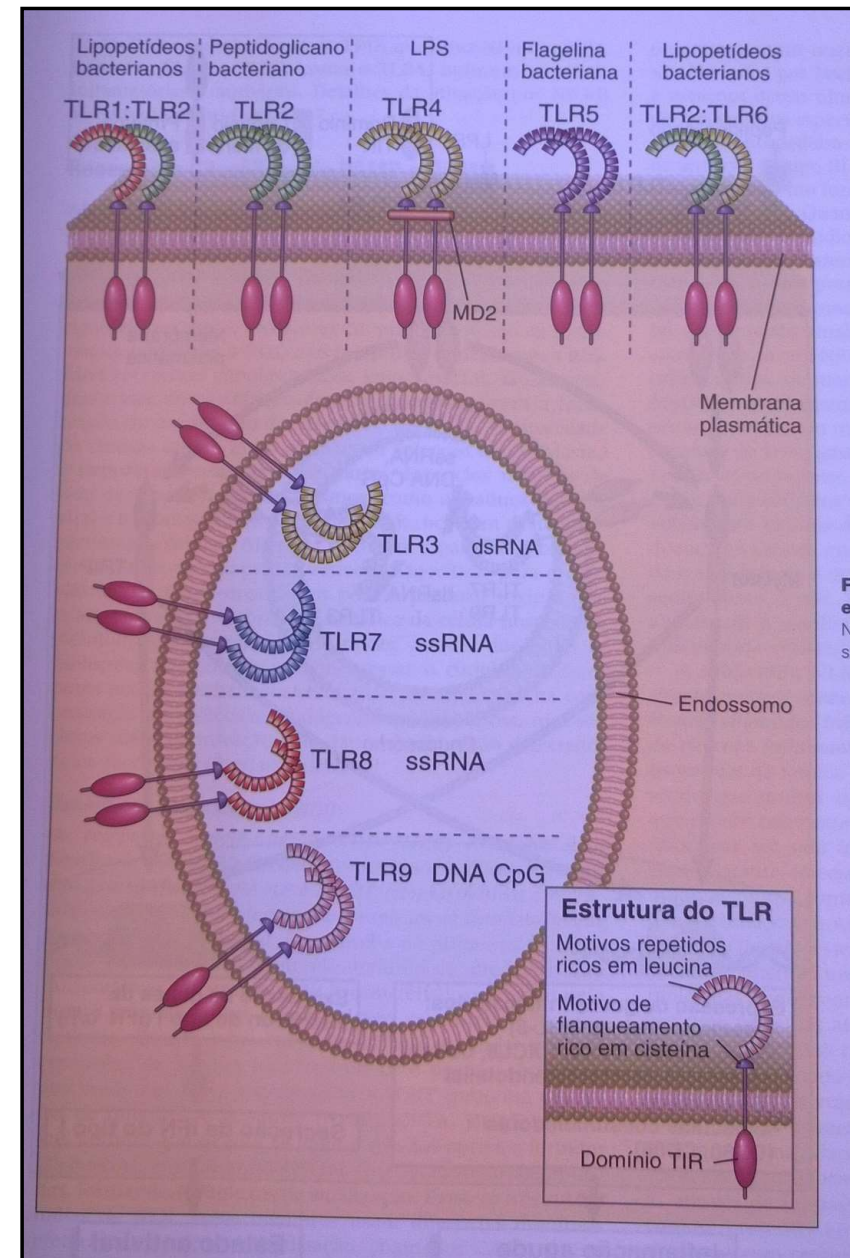


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Estrutura, localização e especificidade dos TLR mamíferos

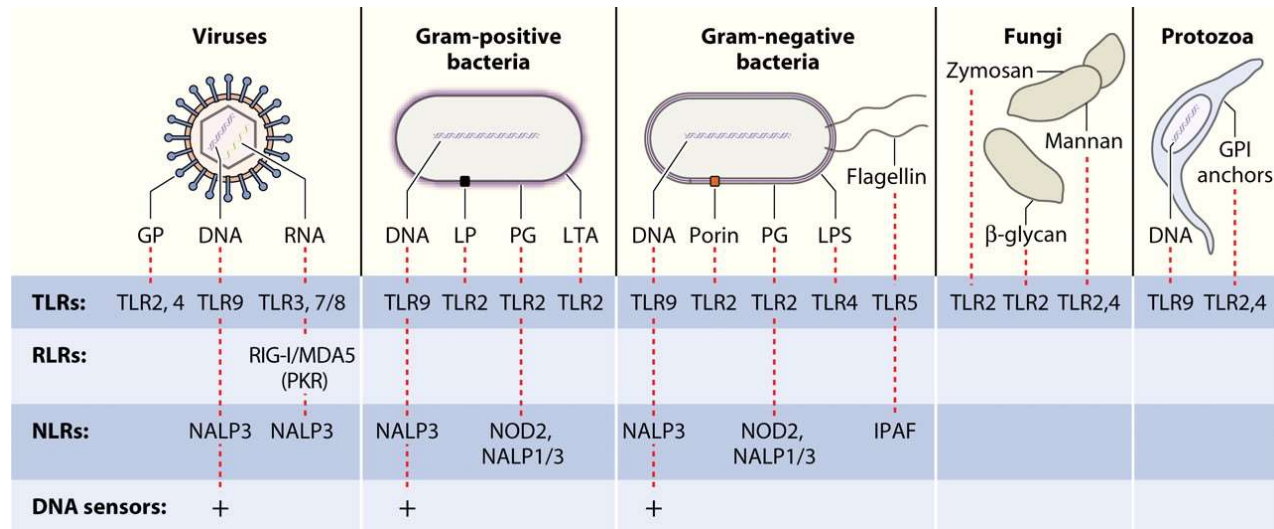
- TLR 1
- TLR 2
- TLR 3
- TLR 4
- TLR 5
- TLR 6
- TLR 7
- TLR 8
- TLR 9



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Os TLRs de mamíferos participam de respostas a uma grande variedade de moléculas expressas por micro-organismos, mas não por células saudáveis. A resposta imune inata é incapaz de promover resposta auto-imune.

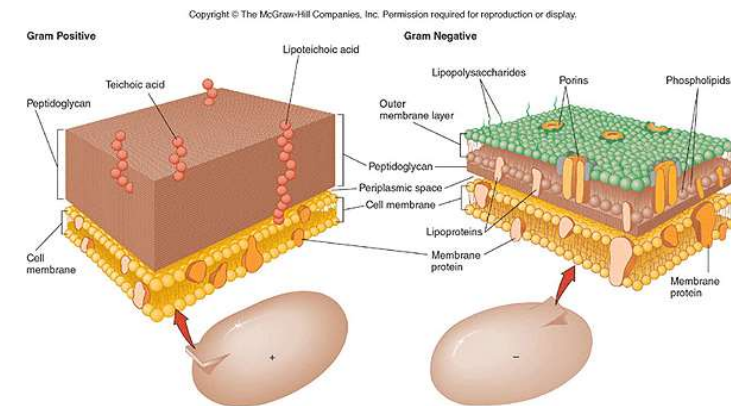


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Exemplos de produtos bacterianos que se ligam a TLRs:

- Lipopolissacarídeo (parede bactérias gram negativas)
- Ácido lipoteicoico (parede bactérias gram positivas)
- Flagelina (presente em bactérias móveis)

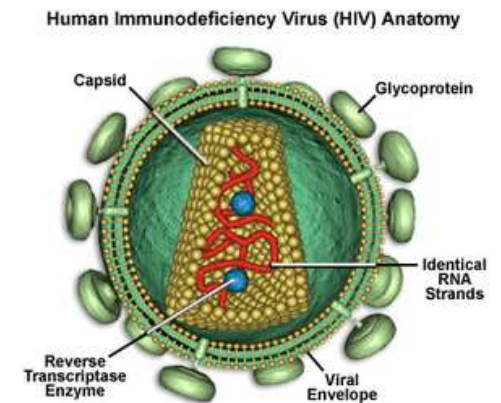


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Exemplos de estruturas virais que se ligam a TLRs:

- RNA de fita dupla (só é encontrado em vírus)
- RNA de fita simples (devido a sua localização em endossomos)

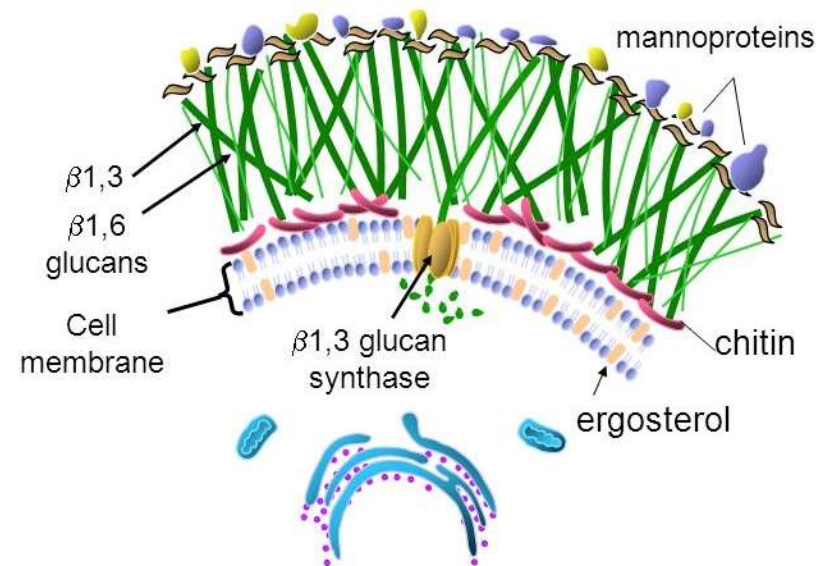


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Exemplos de estruturas fúngicas que se ligam a TLRs:

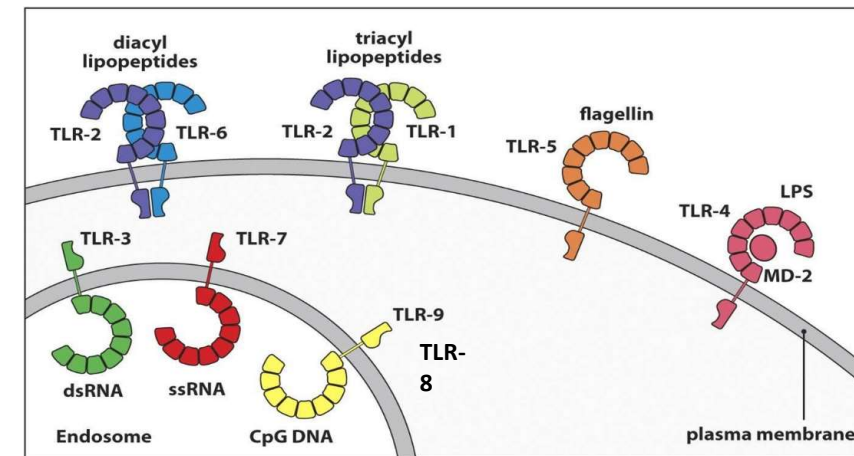
- Polissacarídeos ricos em manose (mananas)



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Os TLRs são encontrados na superfície celular (**TLR-1, 2, 4, 5 e 6**) e em membranas intracelulares (**TLR-3, 7, 8 e 9**) e, assim, são capazes de reconhecer micro-organismos em diferentes localizações celulares.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Localização dos TLRs:

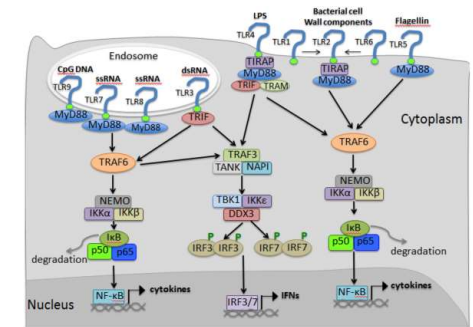
- Superfície celular: **TLR 1, TLR-2, TLR-4, TLR-5 e TLR6**

- Micro-organismos extracelulares (LPS e Ácido lipoteicoico)

- Membranas intracelulares: **TLR-3, TLR-7, TLR-8 e TLR-9**

- Presentes principalmente no retículo plasmático e nas membranas

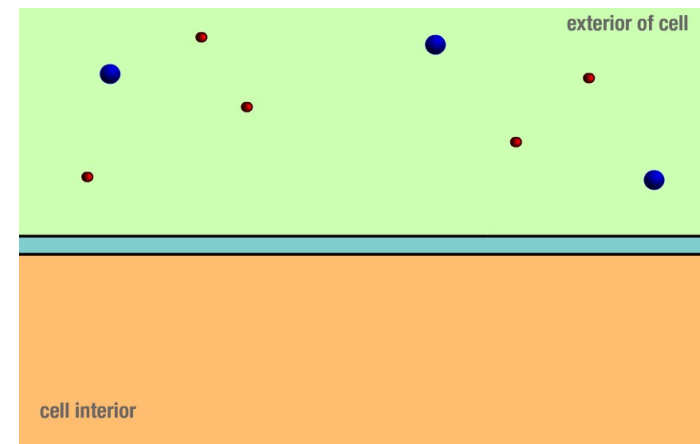
endossômicas (resposta a vírus e micro-organismos intracelulares).



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

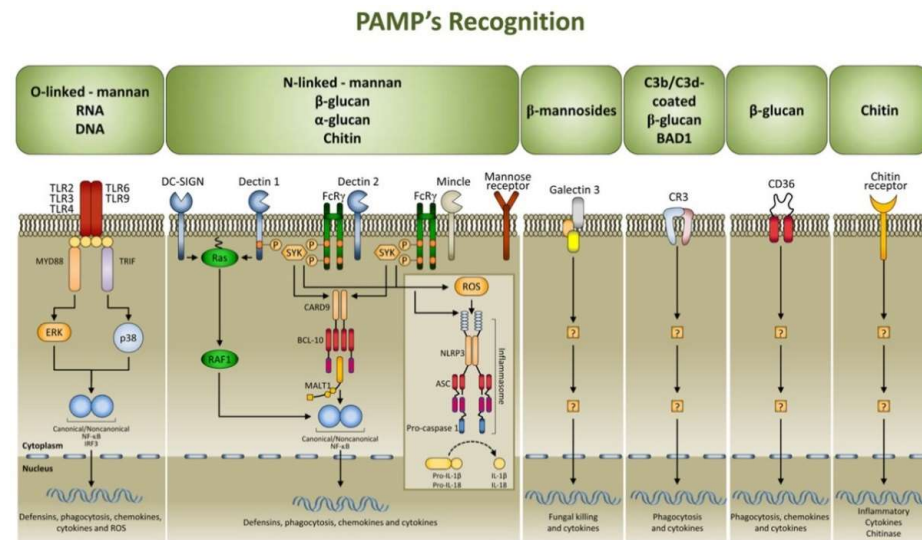
O RNA de fita simples, que se liga ao TLR-9, e o DNA de fita simples ou dupla, que se liga ao TLR-9, não são unicamente expressos por micro-organismos, mas a relativa especificidade destas moléculas a produtos microbianos é associada a sua localização endossômica.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

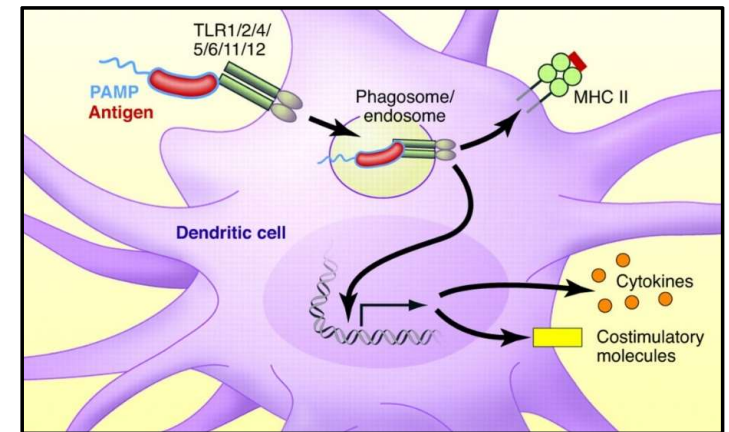
O RNA e o DNA das células do hospedeiro não são normalmente encontrados em endossomos, mas os RNA e DNA microbianos podem terminar em endossomos de neutrófilos, macrófagos ou células dendríticas quando os micro-organismos são fagocitados por estas células.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

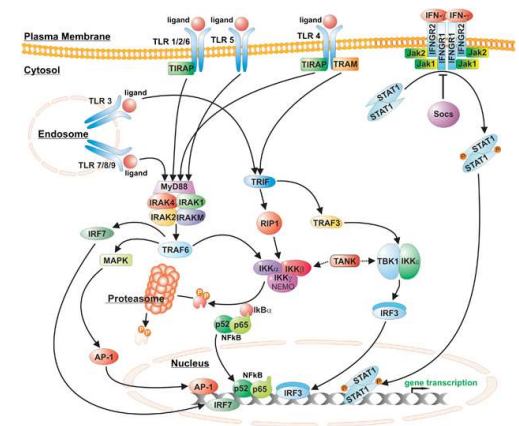
O DNA do hospedeiro, vindo de células mortas devido à infecção ou por outras causas, podem terminar em endossomos dos fagócitos. Em outras palavras, os TLR-3, TLR-7, TLR-8 e TLR-9 podem diferenciar componentes próprios saudáveis de moléculas estranhas ou próprias que só são detectados quando as células são danificadas.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

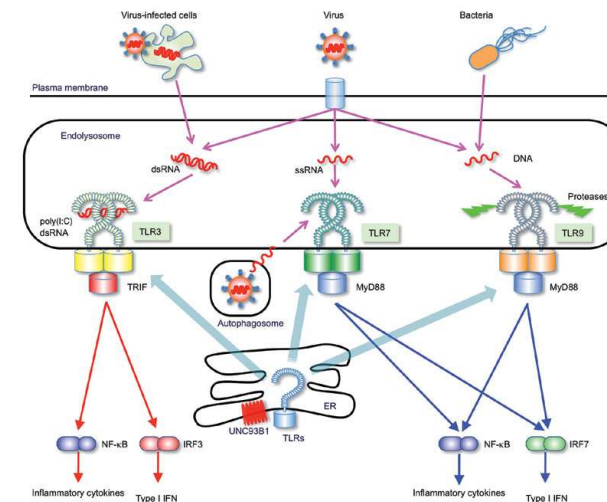
O reconhecimento de ligantes microbianos por TLRs leva à ativação de diversas vias de sinalização e, por fim, de fatores de transcrição, que induzem a expressão de genes cujos produtos são importantes para o desenvolvimento de respostas inflamatórias.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

As vias de sinalização são iniciadas pela interação entre ligante (PAMP/DAMP) e o TLR na **superfície celular**, no **retículo endoplasmático** ou nos **endossomos**, levando a dimerização dos TLR (dimerização proteica) o que possibilita a transcrição, principalmente, do fator nuclear e a proteína ativadora 1 (AP-1).

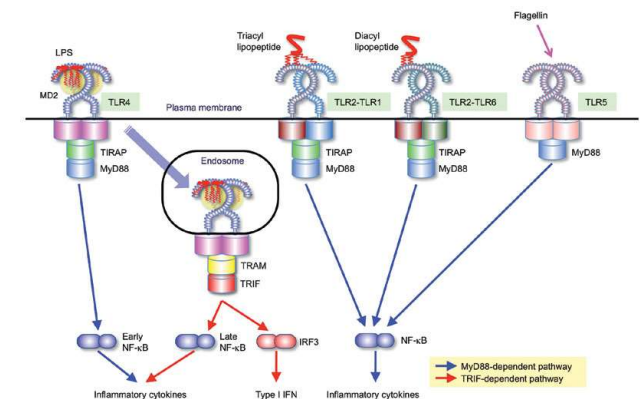


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

O fator nuclear e a proteína ativadora 1 (AP-1) estimulam a expressão de genes que codificam muitas das moléculas necessárias às respostas inflamatórias:

- **TNF**
- **IL-1**
- **Molécula de adesão endotelial (E-selectina)**



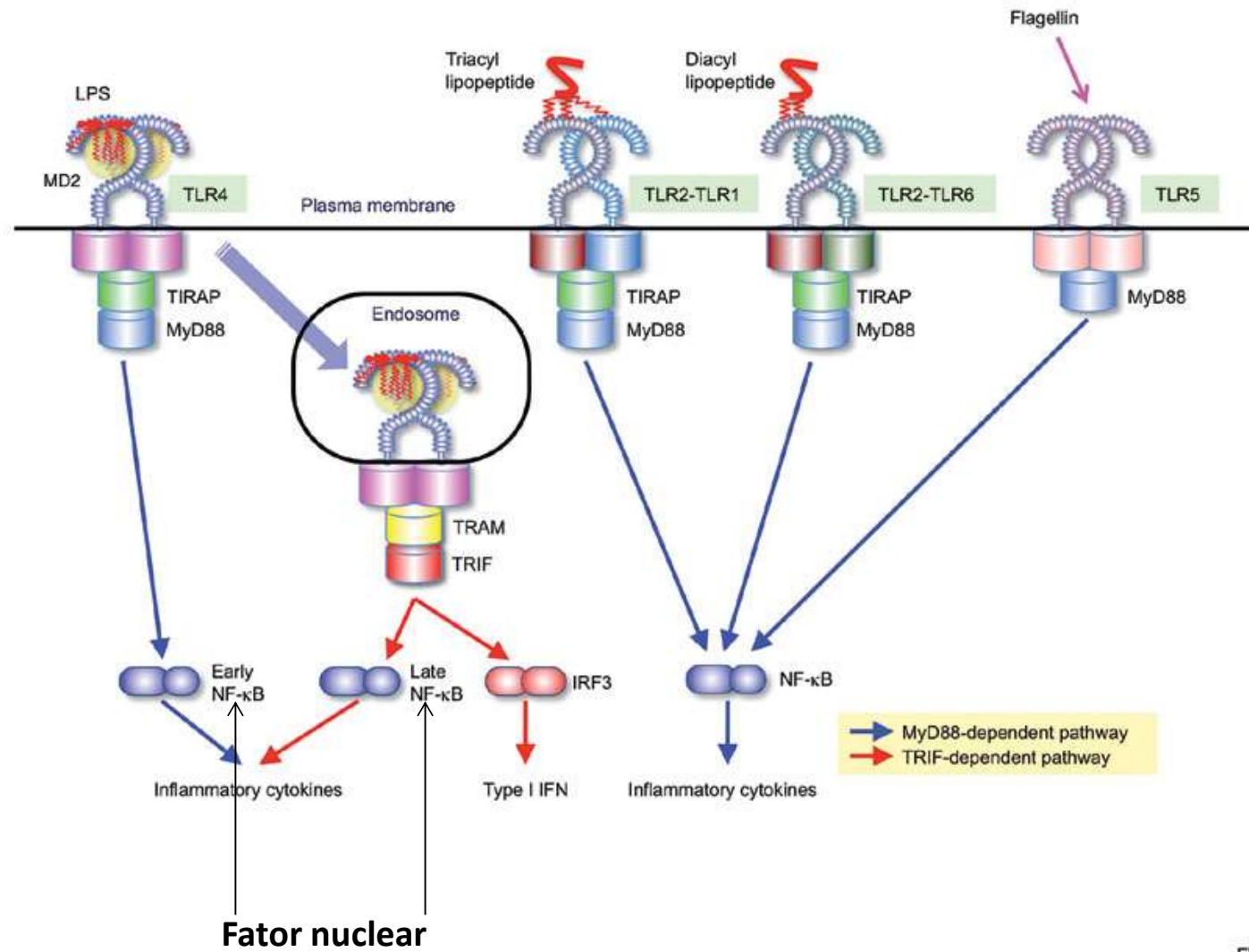


Fig 1

Resposta Imune Inata

-

Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Os TLRs são adaptados a reconhecimento de padrão em vesículas ou membranas, contudo, se PAMP/DAMP estiverem livres no citoplasma, os TLRs serão ineficazes, sendo necessário outro grupo de receptores (RECEPTORES CITOSÓLICOS).

- RECEPTORES SEMELHANTES AO NOD

- RECEPTORES SEMELHANTES AO RIG

DETECTAM INFECÇÕES OU DANOS
CELULARES NO CITOPLASMA

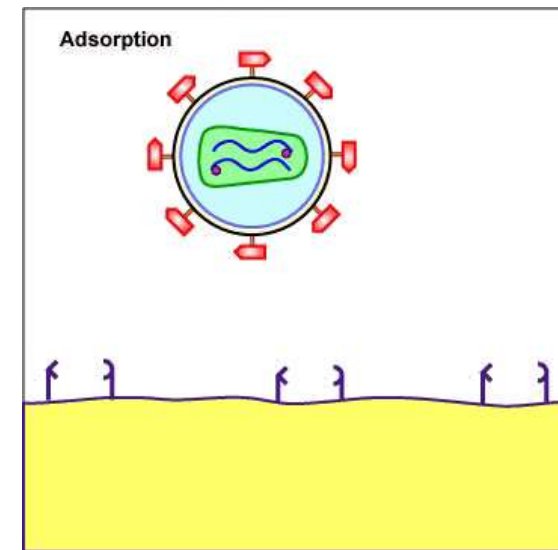
- NOD: *NOD LIKE RECEPTORS* (NLR) Nucleotídica Oligomerização Domínio

- RIG: *RIG LIKE RECEPTORS* (RLR) Gene Indutível por ácido Retinóico

Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

A capacidade do sistema imune inato de detectar infecção no citoplasma é importante, uma vez que partes dos ciclos normais de vida de alguns micro-organismos, como a tradução gênica viral e a montagem de partículas virais, ocorrem neste compartimento celular.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

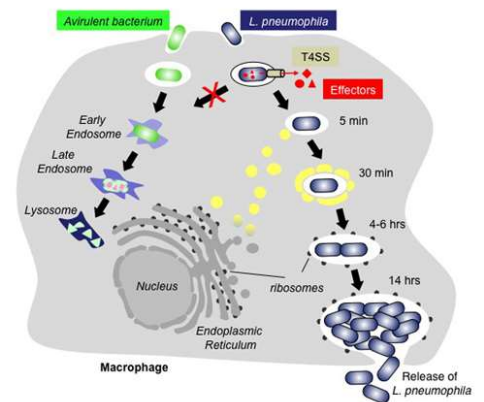
Algumas bactérias e protozoários possuem mecanismos de escape das vesículas fagocíticas

para o citoplasma. Além disso, alguns micro-organismos podem produzir toxinas que criam

poros na membrana plasmática da célula hospedeira, incluindo membrana endossômica,

através dos quais as moléculas microbianas podem acessar o citoplasma.

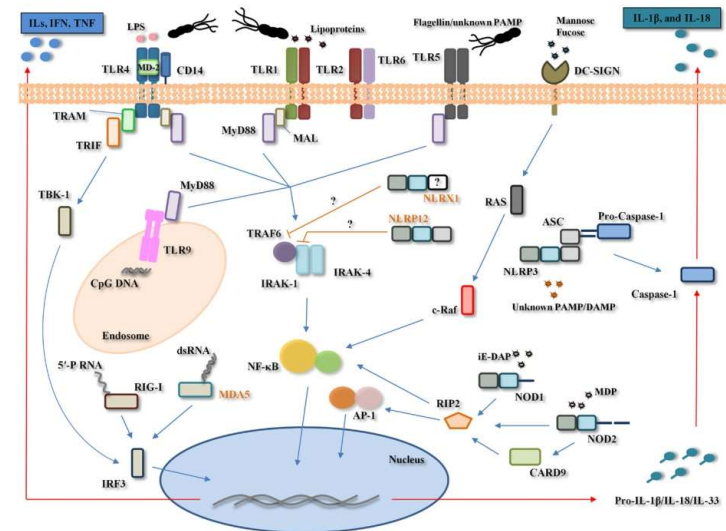
- *Leishmania* sp
- *Listeria monocytogenes* - Listeriolisina
- *Corynebacterium pseudotuberculosis* - Fosfolipase D



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

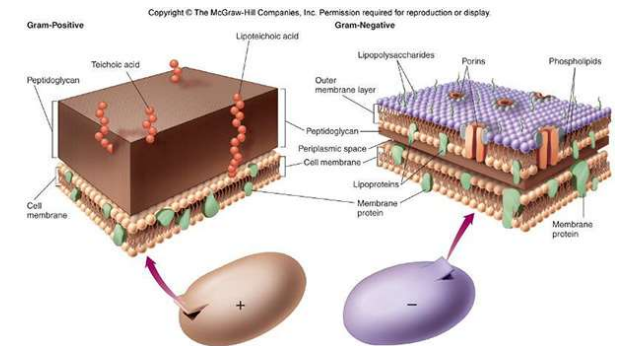
Os receptores NOD compõem uma família de mais de 20 diferentes proteínas citosólicas, algumas das quais percebem PAMP e DAMP citoplasmáticos e recrutam outras proteínas, formando complexos de sinalização que promovem inflamação. São expressas no citoplasma de diversos tipos celulares (NOD 1 e NOD 2).

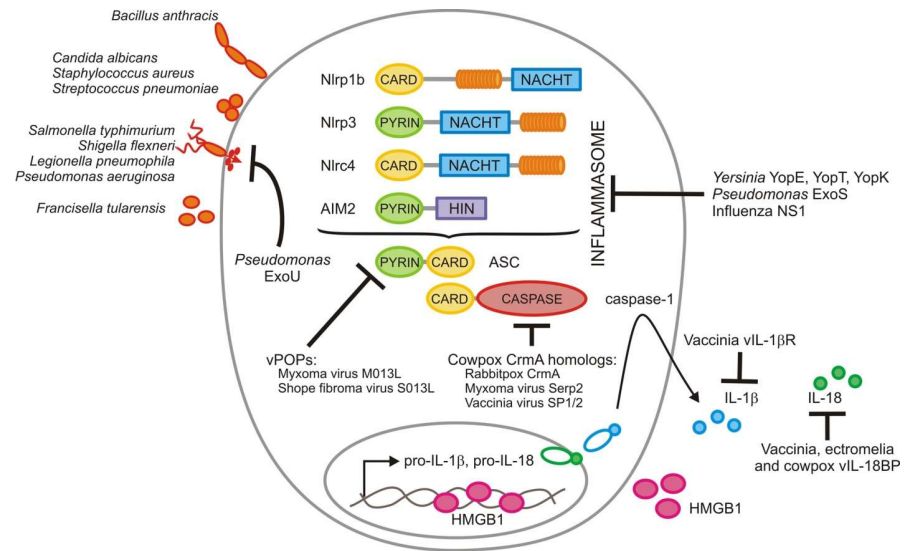


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

NOD 2 é particularmente expresso em grandes quantidades nas células intestinais, onde estimula a expressão de substâncias antimicrobianas chamadas de **defensinas**, em resposta a patógenos. NOD 1 reconhece substâncias derivadas, principalmente, de bactérias gram negativas, enquanto NOD 2 reconhece uma molécula distinta chamada de dipeptídeo muramil, presente em bactérias gram positivas e negativas.

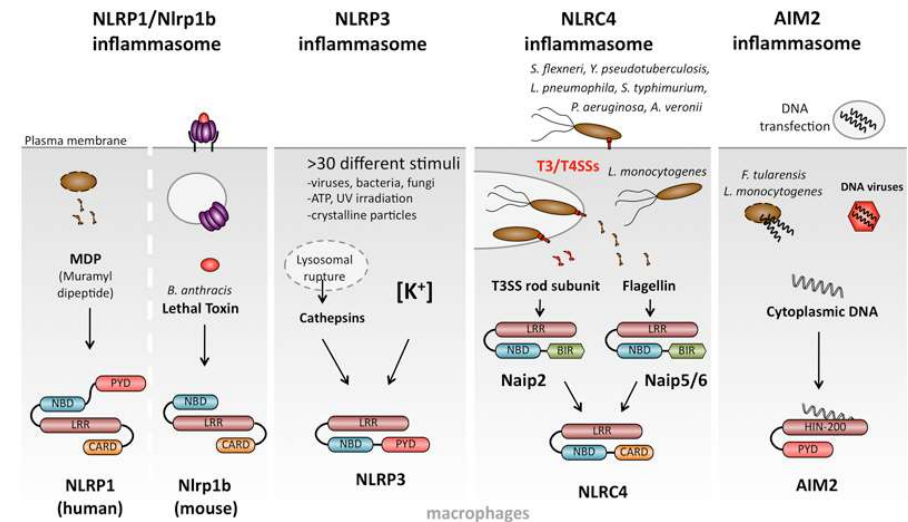




Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

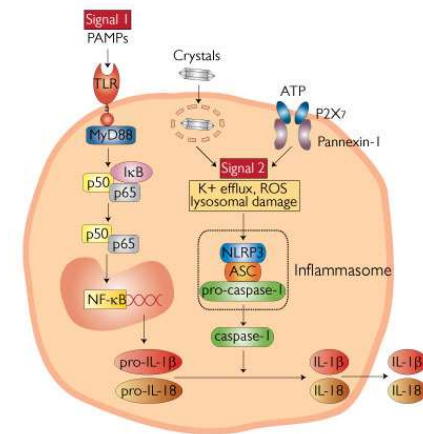
Quando a atividade do inflamassomo é anormalmente estimulada, há a produção elevada de IL-1, que pode provocar dano tecidual (síndrome autoinflamatória).



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

As respostas do NLR-Inflamassomo são induzidas por uma grande variedade de estímulos citoplasmáticos, incluindo produtos microbianos, toxinas e redução nas concentrações do íon potássio, que são frequentemente associados a infecções e estresse celular.

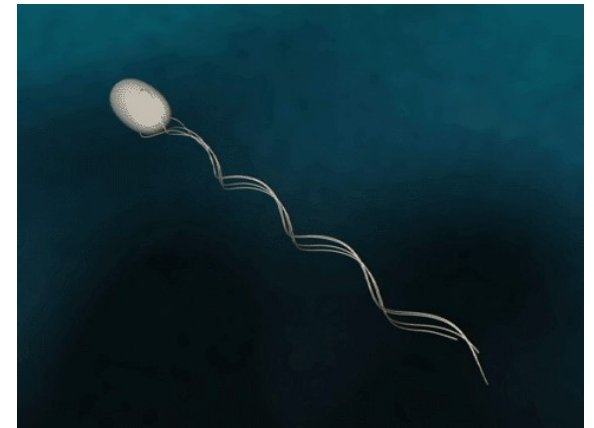


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Produtos microbianos que ativam NLR-inflamassomos

- **Flagelina (proteína que promove movimento flagelar)**
- **Dipeptídeo muramil (componente da parede celular G+ e G-)**
- **Lipopolissacarídeo (componente da parede celular G-)**
- **Toxina formadora de poro**
- **RNA bacteriano**
- **RNA viral**

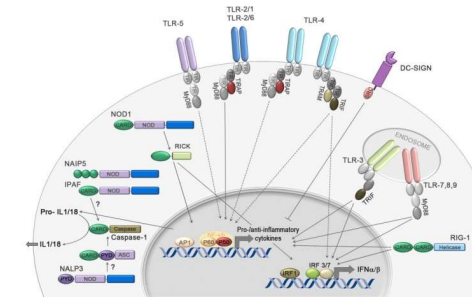


Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

Outras substâncias podem ativar NLR-inflamassomos

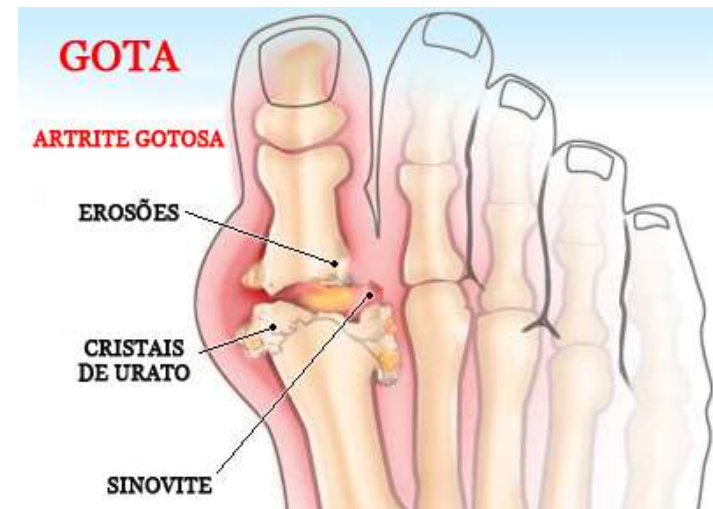
- Amianto (ambiente)
 - Sílica (ambiente)
 - Urato monossódico (derivado de células mortas)
 - Pirofosfato desidratado de cálcio (derivado de células mortas)
- Substâncias cristalinas**



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

A descoberta de que algumas substâncias cristalinas são potentes ativadores de inflamassomos, mudou nosso entendimento de certas doenças inflamatórias. A gota é uma doença inflamatória dolorosa há muito conhecida por provocar a deposição de cristais de urato monossódico nas articulações.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

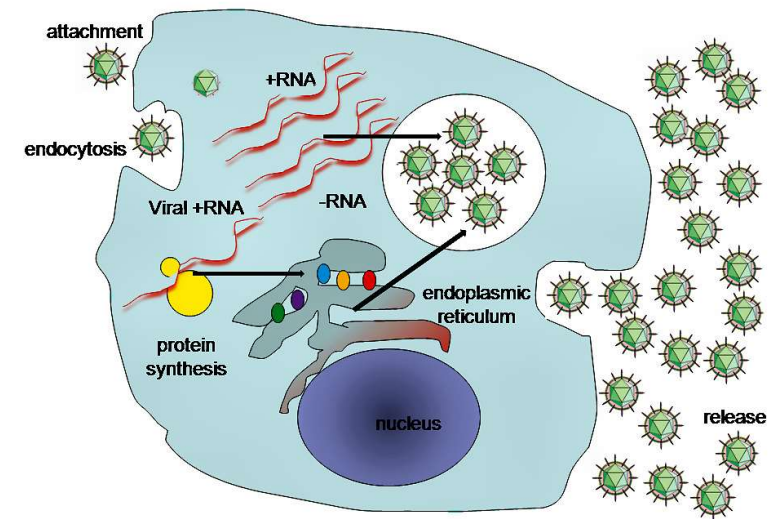
Com base no conhecimento de que cristais de urato monossódico ativam inflamassomo, há interesse em usar antagonistas de IL-1 no tratamento de casos graves de gota , que são resistentes aos fármacos anti-inflamatórios convencionais.



Resposta imune inata

Receptores celulares de reconhecimento de padrões

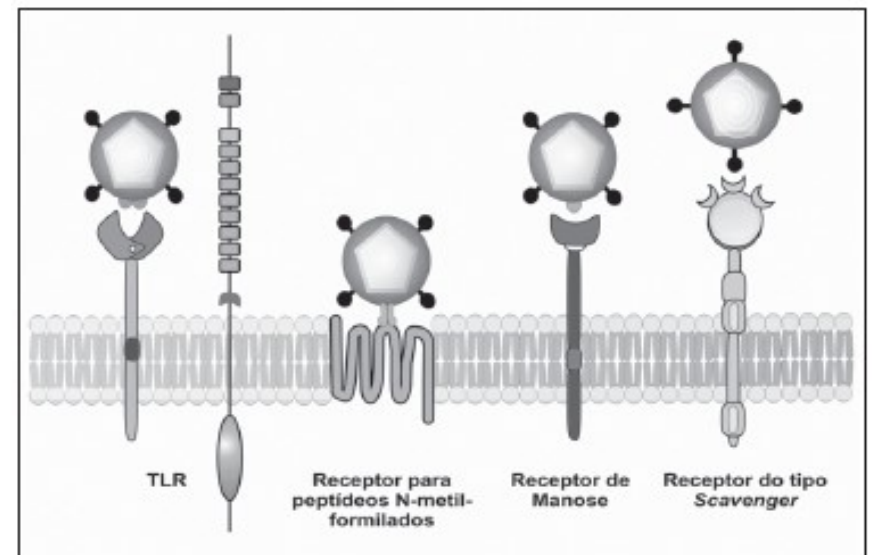
Os *RIG Like Receptors* (RLR) são sensores citosólicos de RNA viral que respondem a ácidos nucleicos virais através da indução da produção de interferons antivirais do tipo I.



Resposta imune inata

Outros receptores celulares de reconhecimento de padrões

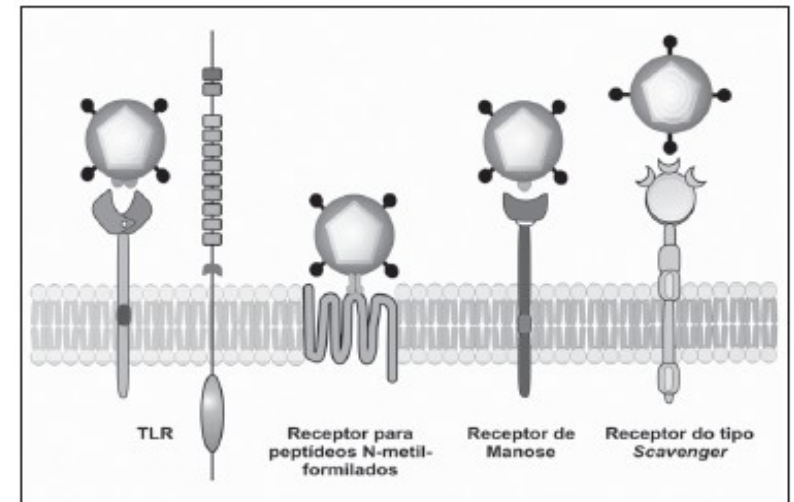
Diversos tipos de receptores citoplasmáticos e de membrana plasmática (que não os anteriormente descritos) são expressos em várias população celulares e reconhecem moléculas microbianas.



Resposta imune inata

Outros receptores celulares de reconhecimento de padrões

Alguns desses receptores transmitem sinais de ativação, como os TLRs, que promovem respostas inflamatórias e aumentam a morte de micro-organismos. Outros receptores participam principalmente da ingestão de micro-organismos por fagócitos.



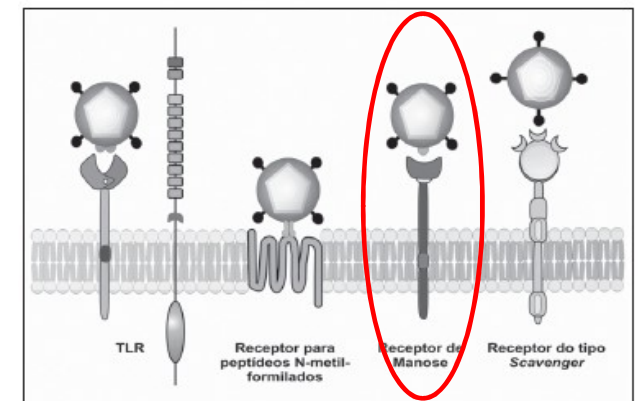
Resposta imune inata

Outros receptores celulares de reconhecimento de padrões

Receptores de carboidratos

Os receptores que reconhecem carboidratos na superfície de micro-organismos facilitam a fagocitose destes patógenos.

- Receptor de manose (macrófagos e células dendríticas)
- Dectinas (células dendríticas)
- DC-SIGN (células dendríticas)



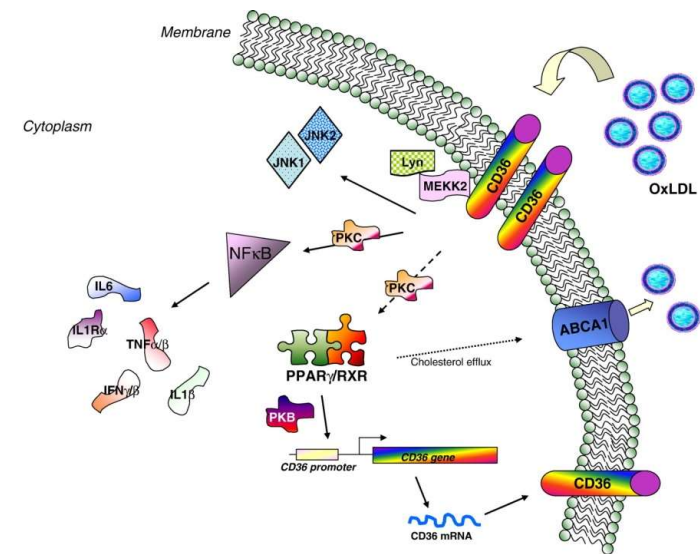
Resposta imune inata

Outros receptores celulares de reconhecimento de padrões

Receptores *Scavenger*

Os receptores *scavenger* formam um grupo de proteínas de membrana celular (SR-A e CD36) presentes principalmente em macrófagos, que facilitam a ligação e consequentemente fagocitose de micro-organismos.

- Lipopolissacarídeo
- Ácido lipoteicoico
- Glucanas
- Proteínas microbianas



Resposta imune inata

Outros receptores celulares de reconhecimento de padrões

Receptores *N*-formil Met-Leu-Phe

- FPR- Presente em neutrófilo
- FPR1- Presente em macrófagos

Reconhecem peptídeos bacterianos contendo resíduos de metionida *N*-formilados (*N*-formilmetionil).

