Celso Lisboa – Medicina Veterinária

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

Respostas Imunológicas em Animais Domésticos

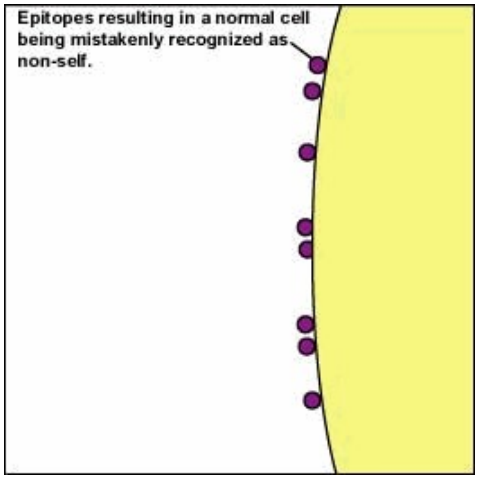
Aula 6

Antígenos

Antígenos biológicos

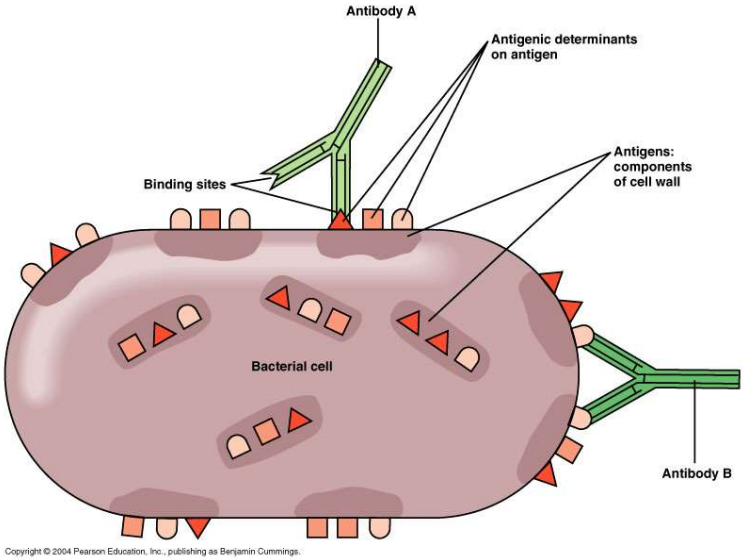
Um antígenos é qualquer substância que pode ser especificamente ligada a uma molécula de anticorpo ou receptor de linfócito T. Os anticorpos podem reconhecer como antígenos todos os tipos de moléculas biológicas, incluindo açúcares, lipídeos, hormônios, carboidratos, fosfolipídios, ácidos nucleicos e proteínas.

Os linfócitos T, por sua vez, reconhecem principalmente peptídeos



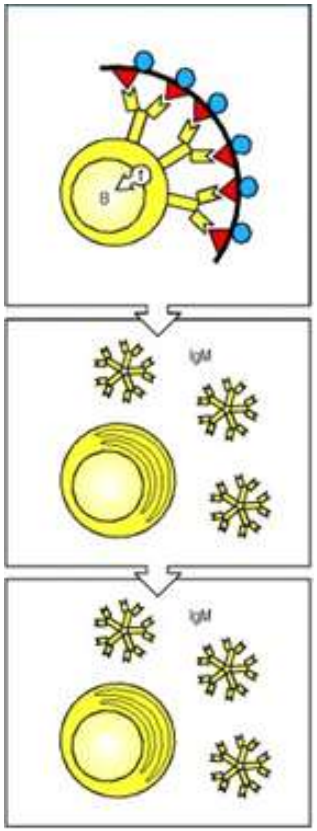
Antígenos biológicos

Embora todos os antígenos sejam reconhecidos por linfócitos ou anticorpos específicos, apenas alguns antígenos são capazes de ativar linfócitos. Moléculas que estimulam a resposta imune são chamados de **imunógenos**.



Antígenos biológicos

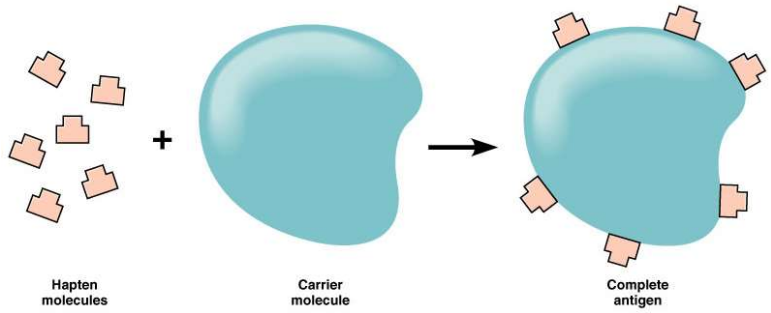
Somente macromoléculas são capazes de estimular linfócitos B, iniciando a resposta imune humoral (por anticorpos), uma vez que a ativação desta célula requer a ligação cruzada de múltiplos receptores de antígenos (**anticorpos ancorados na membrana citoplasmática de linfócitos B**) com seus respectivos antígenos.



Antígenos biológicos

Pequenas substâncias podem se ligar a anticorpos e são, portanto, antígenos, mas não são capazes de ativar, sozinhos os linfócitos B, ou seja, não são considerados imunógenos. Para geração de anticorpos específicos para tais substâncias, os imunologistas geralmente ligam diversas cópias desse pequeno composto a uma proteína ou polissacarídeo, de forma que sejam ativadores do sistema imune.

Neste caso, a molécula pequena é chamada de hapteno e a molécula grande chamada de carreador.

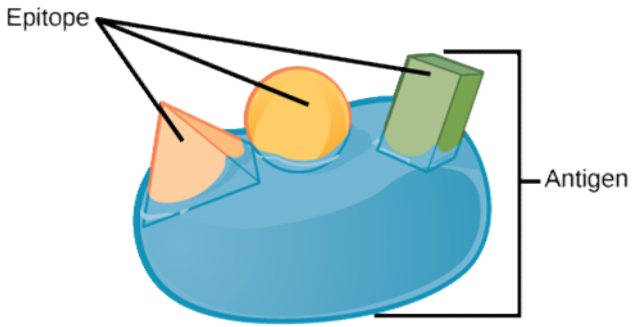


Antígenos biológicos

Macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos, são muito maiores do que os anticorpos, portanto, qualquer anticorpo se liga apenas a uma porção da macromolécula, que é chamada de **DETERMINANTE ANTIGÊNICO** ou **EPÍTOPO**.

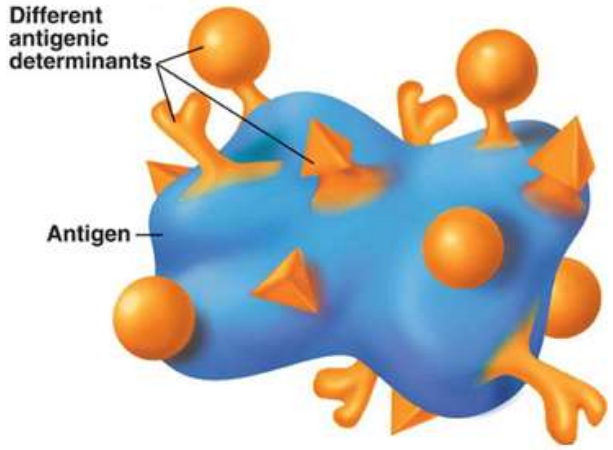
As macromoléculas geralmente contêm múltiplos epítopos, alguns dos quais podem ser repetidos , e cada um, por definição, pode se ligar a um anticorpo.

A presença de múltiplos epítopos em um antígenos é referida como polivalência ou multivalência e o contrário monovalência.



Antígenos biológicos

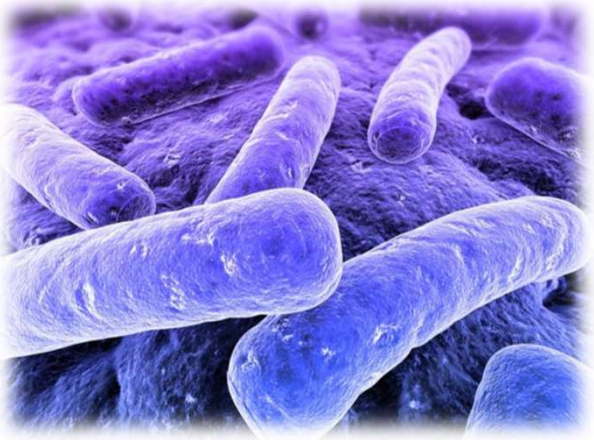
Os antígenos podem possuir dezenas ou centenas de epítopos, dependendo da sua natureza e complexidade. Dessa forma teremos dezenas ou centenas de clones de linfócitos que reconhecem e agem contra um determinado antígeno e da mesma forma, dezenas ou centenas de tipos diferentes de anticorpos vão agir contra o mesmo.



Características de um bom antígeno

Uma molécula para ser reconhecida pelo sistema imune têm que ter **características diferentes daquelas presentes no hospedeiro**. Se a molécula for idêntica a alguma outra, presente no hospedeiro, será mais difícil induzir uma resposta. Este reconhecimento depende, inclusive, da distância filogenética entre o hospedeiro e a molécula estranha.

Por exemplo, os seres humanos reconhecem bem antígenos bacterianos e virais porque na escala filogenética existe uma grande distância entre estas espécies, aumentando as diferenças presentes nas suas moléculas.



Características de um bom antígeno

As moléculas para serem reconhecidas precisam ter um tamanho que permita que após o processamento, por células fagocíticas, ainda apresentem um tamanho mínimo para serem apresentadas para os linfócitos T. Moléculas de baixo peso molecular tais como a insulina (5.700 daltons) e as histonas (6.000 daltons) atuam como háptenos enquanto que a toxina ou o toxóide tetânico possuem peso molecular aproximado de 10.500 daltons e atuam como ótimos antígenos.

Bons antígenos normalmente são proteicos e pesam acima de 10.000 daltons

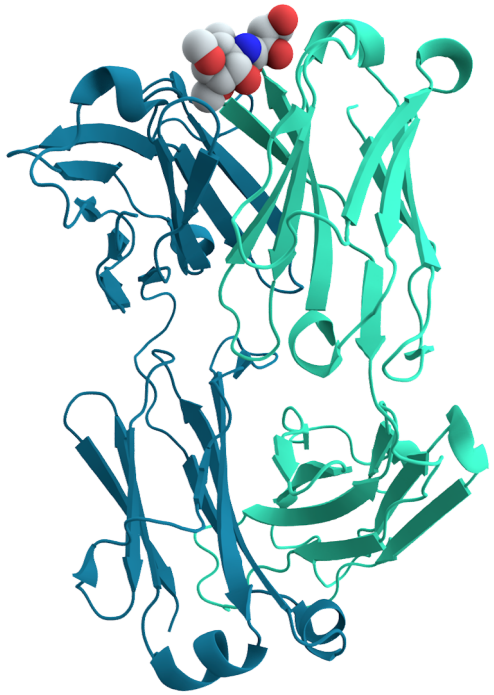
Características de um bom antígeno

Além do tamanho, a molécula para ser imunogênica precisa ter uma estrutura primária que permita um melhor reconhecimento e isso depende da complexidade da sua estrutura básica. Uma proteína é formada por aminoácidos que de acordo com a sua sequência formam diferentes determinantes antigênicos propiciando uma resposta mais ampla. Os polissacarídeos complexos podem ter uma estrutura que também propicia uma boa resposta.

As proteínas quando se associam a açúcares, lipídeos ou ácidos nucleicos formando, respectivamente, glicoproteínas, lipoproteínas ou ribonucleoproteínas também propiciam uma boa ativação dos linfócitos.

Características de um bom antígeno

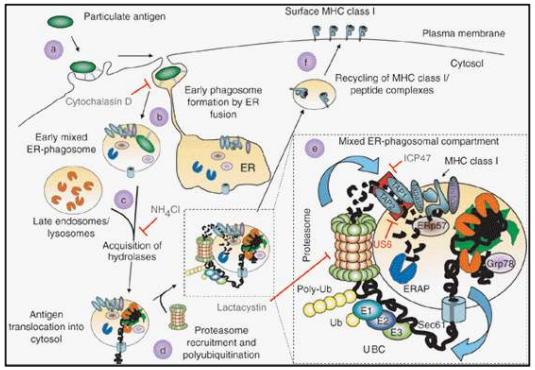
A configuração espacial de uma molécula é importante porque um anticorpo reconhece não apenas a sequência de aminoácidos mas também a sua configuração espacial.



Apresentação antigênica

As principais funções dos linfócitos T consistem em erradicar as infecções por micro-organismos intracelulares e em ativar outras células, como os macrófagos e os linfócitos B.

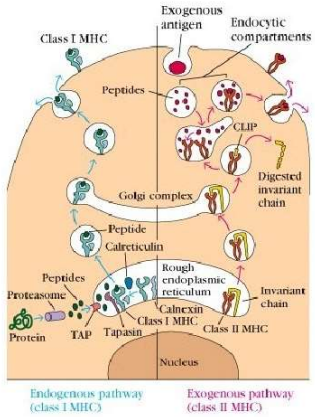
Linfócitos T: erradicação direta contra células infectadas por micro-organismos intracelulares (linfócito TCD8) e ativação de macrófagos e linfócitos B (linfócitos TCD4).



Apresentação antigênica

Existe um número muito pequeno de células T virgens específicas para qualquer antígeno determinado, e esse pequeno número deve ser capaz de localizar o antígeno estranho, reagir contra ele e eliminá-lo. A resolução desse problema exige um sistema especializado para a captura do antígeno e seu transporte até os órgãos onde as respostas das células T podem ser iniciadas.

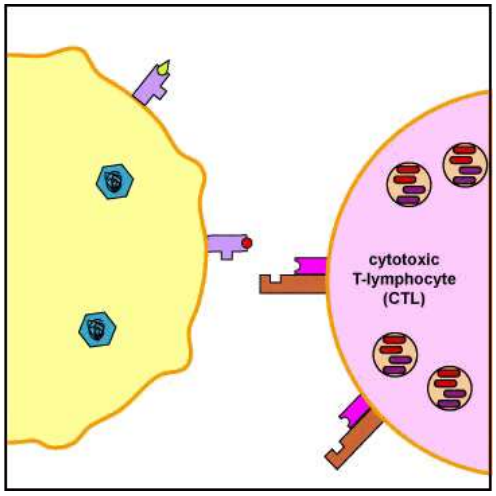
Células apresentadoras de antígenos:
- Células dendríticas
- Macrófagos
- Linfócitos B



Apresentação antigênica

As funções de alguns tipos de linfócitos T **(CD4)** exigem a sua interação com outras células do sistema imune, que podem incluir células dendríticas, macrófagos e linfócitos B. Outros tipos de linfócitos T **(CD8)** devem ser capazes de interagir com qualquer célula infectada do hospedeiro.

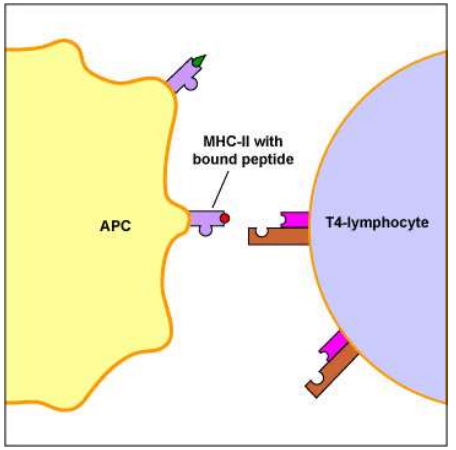
Linfócito TCD4 $^{+}$
Linfócito TCD8^{+}



Apresentação antigênica

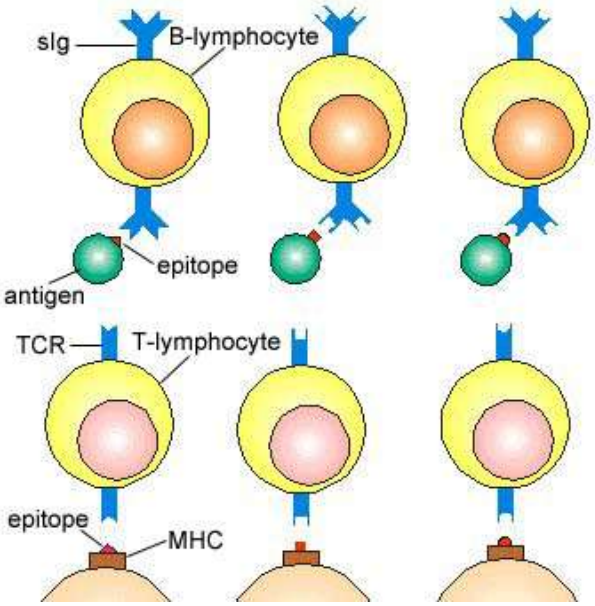
Para assegurar a interação das células T apenas com outras células do hospedeiro, e não diretamente com micro-organismos, os receptores de antígenos de células T são desenhados para reconhecer antígenos apresentados por moléculas de superfície das células do hospedeiro (célula apresentadora de antígeno-MHC-II) e não diretamente antígenos presentes nos micro-organismos ou antígenos que estão livres na circulação ou nos líquidos extracelulares.

Célula apresentadora de antígenos expressam epítopos microbianos em sua superfície ancorados em moléculas de MHC de classe II.



Apresentação antigênica

Já os linfócitos B, pela característica de seus receptores de superfície (anticorpos), são capazes de reconhecer antígenos presentes nas superfícies microbianas e antígenos solúveis, bem como antígenos associados a células.



Apresentação antigênica

Diferentes células T devem ser capazes de responder a diferentes antígenos microbianos em diferentes compartimentos celulares. Por exemplo, a defesa contra vírus na circulação deve ser mediada por anticorpos, e a produção dos anticorpos mais efetivos requer a participação de células $TCD4^+$ (linfócitos T auxiliares ou *helper*).

Antígeno extracelular – Capturado por célula apresentadora de antígeno – Apresentado para linfócitos $TCD4^+$ – Ativação de linfócitos B – Produção de anticorpos (plasmócitos).

Apresentação antigênica

Entretanto, se o mesmo vírus infectar uma célula tecidual, ele se tornará inacessível ao anticorpo, e sua erradicação exige que os linfócitos T citotóxicos ($CD8^+$) matem as células infectadas para eliminar o reservatório da infecção.

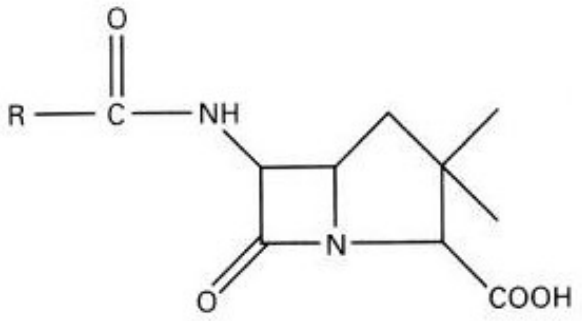
MHC-I – Linfócito TCD8
MHC-II – Linfócito TCD4

Apresentação antigênica

A maioria dos linfócitos T reconhece apenas peptídeos lineares curtos, e, com efeito, essas células são específicas para sequências de aminoácidos de peptídeos complexos, enquanto as células B são capazes de reconhecer proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos, lipídeos e pequenas substâncias químicas (haptenos).

β-lactâmicos

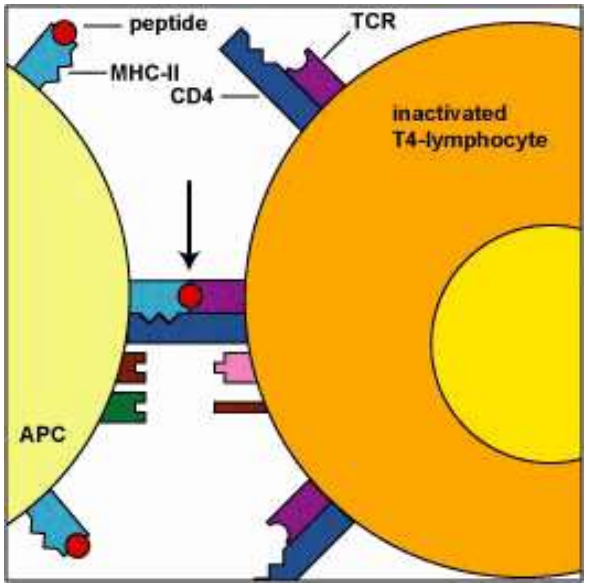
Penicilinas



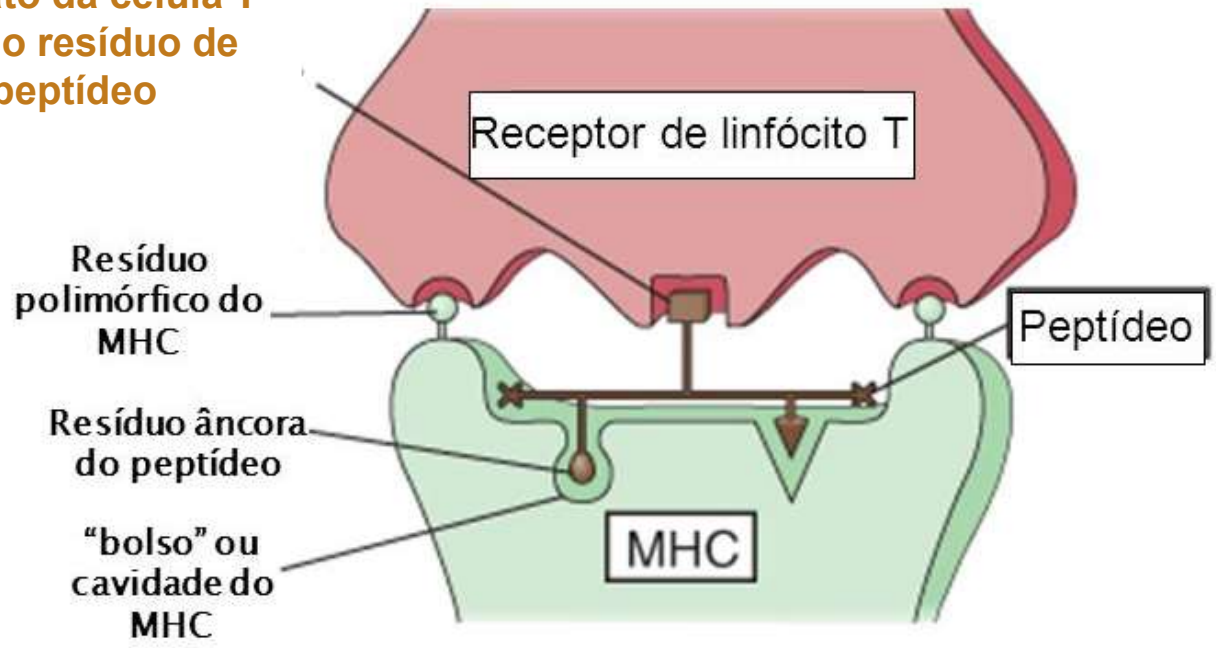
Apresentação antigênica

O motivo pela qual as células T só reconhecem peptídeos deve-se ao fato de que os receptores de antígenos das células TCD4 e TCD8 são específicos para antígenos apresentados por MHC, e essas moléculas só carreiam peptídeos e não outras estruturas químicas.

Toda célula T é específica para uma combinação de resíduos de aminoácidos de um antígeno peptídico com porções da molécula do MHC.

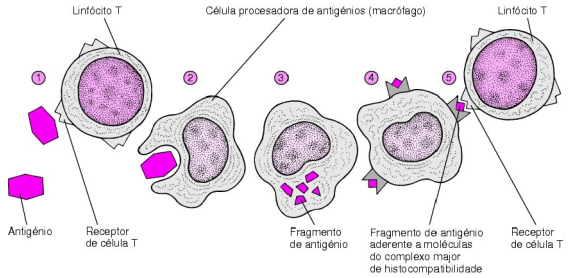


Contato da célula T com o resíduo de peptídeo



Apresentação antigênica

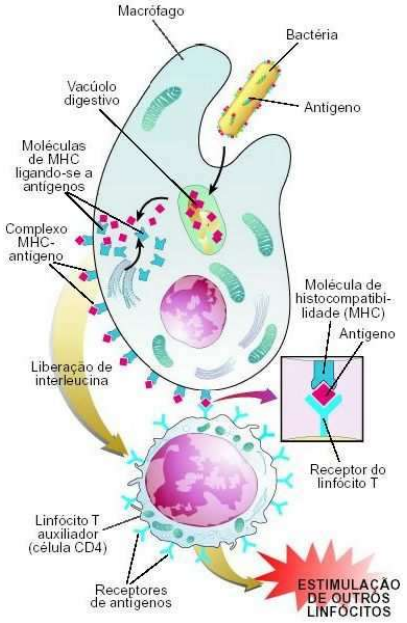
Diferentes tipos de células atuam como células apresentadoras de antígenos (*Antigen Presenting Cells* - APC) para ativar células T virgens e células T de memória previamente diferenciadas. **As células dendríticas constituem as APC mais efetivas para ativar as células T virgens**. **Os macrófagos e os linfócitos B também atuam como APC, porém principalmente para células TCD4 auxiliares previamente ativadas** , e não para células T virgens.



Células dendríticas: ativação de células T virgens
Macrófagos e os linfócitos B: ativação de células de memória.

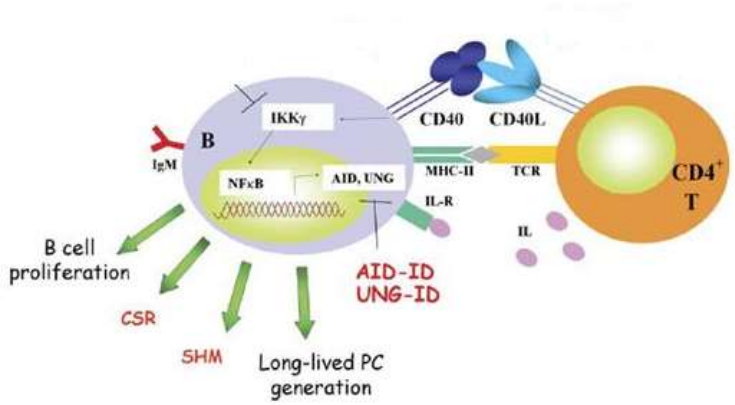
Apresentação antigênica

As APC apresentam complexos peptídeo-MHC para reconhecimento pelas células T e também fornecem estímulos adicionais às células T, que são necessários para as respostas completas das células T.



Apresentação antigênica

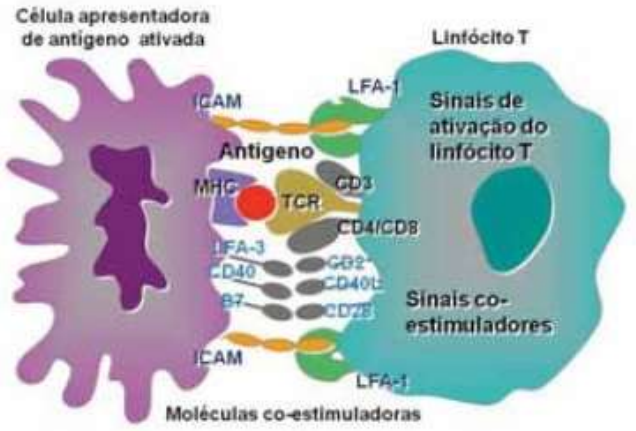
A função de apresentação do antígeno das APC é intensificada pela exposição a produtos microbianos. Esta é uma razão pela qual o sistema imune responde melhor a micro-organismos do que a substâncias não microbianas. A expressão do MHC-II é intensificada pela ligação a produtos microbianos pelos TLRs.



Apresentação antigênica

As APC que apresentam antígenos às células TCD4 também recebem sinais desses linfócitos que intensificam a sua função de apresentação de antígenos. Linfócitos TCD4 expressam moléculas de superfície (CD40L) que se liga ao receptor CD40 ancorados na superfície de células dendríticas e macrófagos.

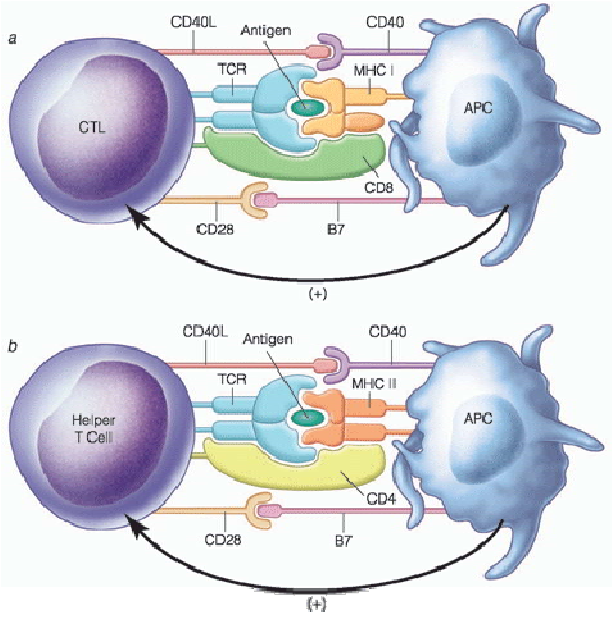
Linfócitos TCD4 se ligam através dos receptores de células T (RCT/TCR) a moléculas de MHC-Peptídeo antigênico e CD40L-CD40, células T também secretam citocinas (interferon gama – IFN-Y) que promovem ativação das células fagocíticas (aumento da capacidade fagocítica e aumento da capacidade de processar e apresentar antígenos).



Apresentação antigênica

Essa interação bidirecional entre APC que apresenta antígeno e linfócito TCD4 que o reconhece atua como alça de retroalimentação positiva, que desempenham um importante papel na maximização da resposta imune (fagocitose X fagócitos ativados).

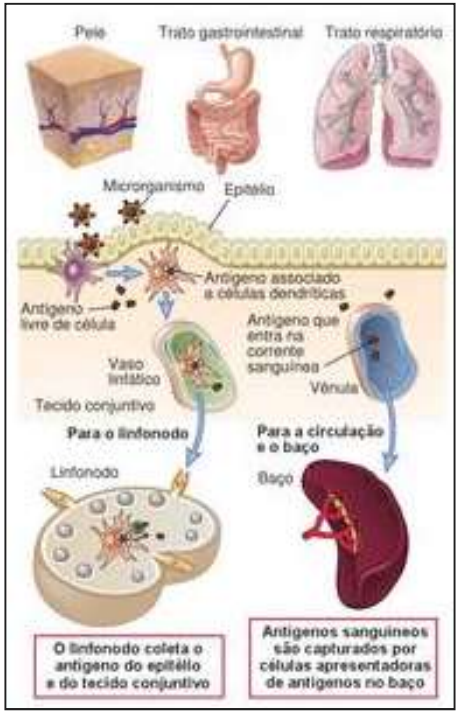
Linfócitos TCD4 TCR - MHC-Peptídeo
CD40L - CD40
Linfócitos TCD4 produzem IFN-Ɣ



Apresentação antigênica

Os antígenos proteicos dos patógenos que entram no corpo são capturados pelas APC profissionais e concentrados nos órgãos linfoides periféricos, onde a resposta imune é iniciada.

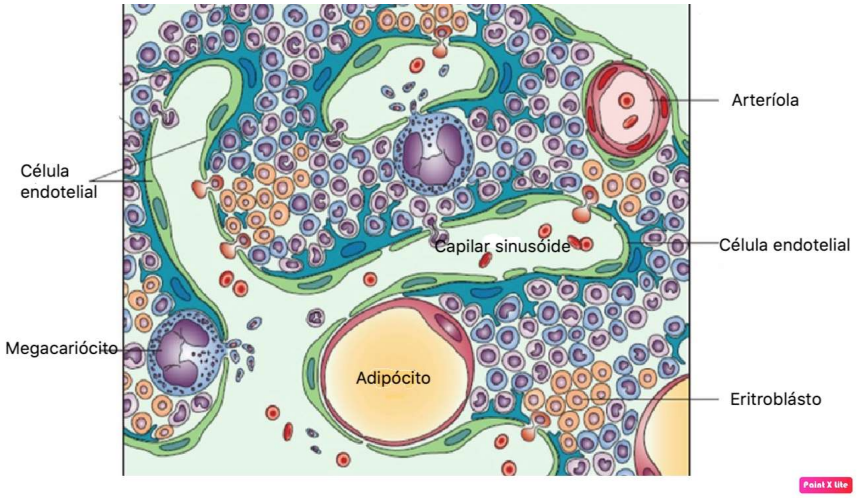
Os micro-organismos entram no corpo principalmente pela pele, pelo trato gastrintestinal e trato respiratório. Alguns micro-organismos transmitidos por insetos são injetados na corrente sanguínea e são capturados no baço.



Apresentação antigênica

Todas as interfaces entre o corpo e o ambiente externo são revestidas por um epitélio contínuo, cuja principal função é fornecer uma barreira física à infecção. Os epitélios contêm uma população de APC profissionais prontas para estabelecer contato com micro-organismos invasores.

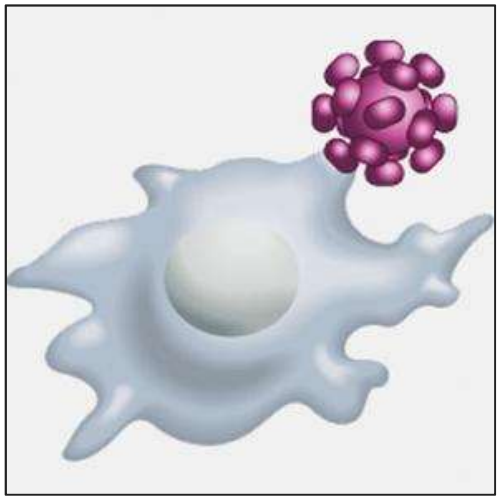
Na pele por exemplo, as células dendríticas epidérmicas são chamadas de células de Langerhans. Essas células se ligam a micro-organismos via TLRs



Apresentação antigênica

Após ligação aos micro-organismos via TLRs (R.I. inata), células dendríticas e macrófagos liberam citocinas pró-inflamatórias (Fator de Necrose Tumoral – TNF e interleucina-1 – IL-1). A combinação de citocinas e sinalização direta do TLR ativam as células apresentadoras resultando em diversas alterações fenotípicas.

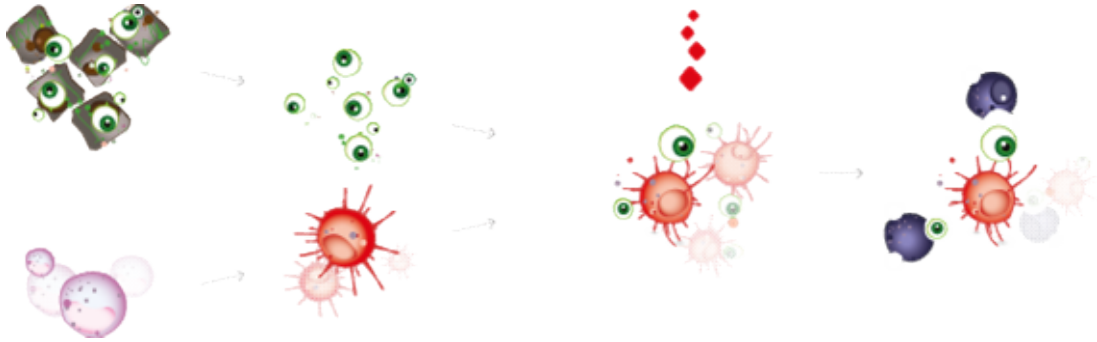
As células dendríticas, por exemplo, perdem sua adesividade para o epitélio e passam a expressar receptores de superfície que são específicos para as citocinas quimioatrativas produzidas nas zonas de célula T dos linfonodos.



Apresentação antigênica

Os antígenos proteicos dos micro-organismos que entram no corpo são transportados para as regiões dos linfonodos onde é mais provável que os antígenos encontrem os linfócitos T.

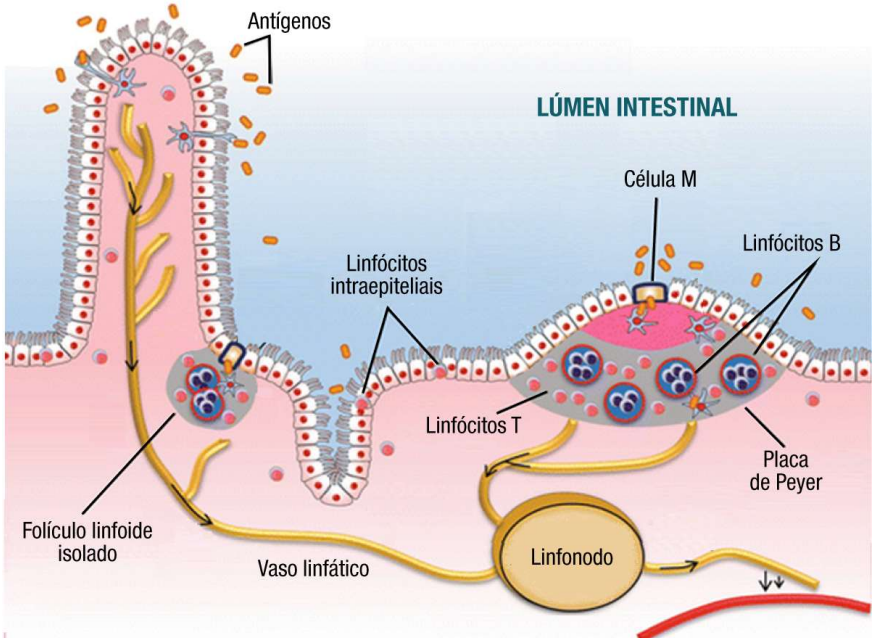
Os linfócitos T virgens circulam continuamente através dos linfonodos , sendo estimado que cada célula T virgem pode circular através dos linfonodos pelo menos uma vez ao dia.



Apresentação antigênica

Tipos diferentes de APC desempenham funções distintas nas respostas imunológicas dependentes das células T.

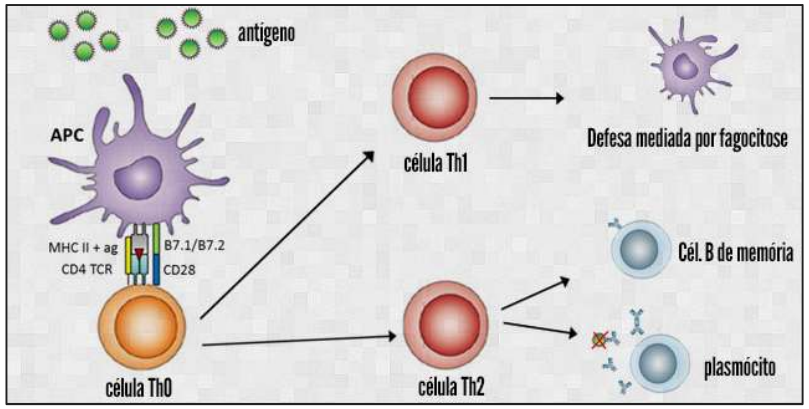
Se antígenos microbianos são introduzidos em qualquer lugar do corpo, estima-se que em 12 a 18 horas se inicie, nos linfonodos que drenam aquela região, uma resposta das células T a eles.



Apresentação antigênica

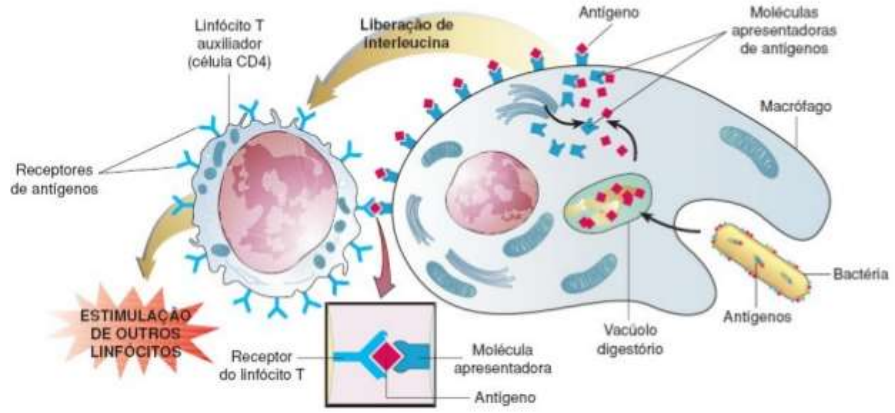
As células dendríticas são as principais indutoras da resposta imune adaptativa, porque são as APC mais potentes na ativação dos linfócitos T virgens. Elas não só iniciam as respostas das células T como também podem influenciar a natureza da resposta.

Existem grupos de células dendríticas que podem direcionar a diferenciação das células TCD4 virgens em populações distintas que atuam na defesa contra os diversos de tipos de micro-organismos.



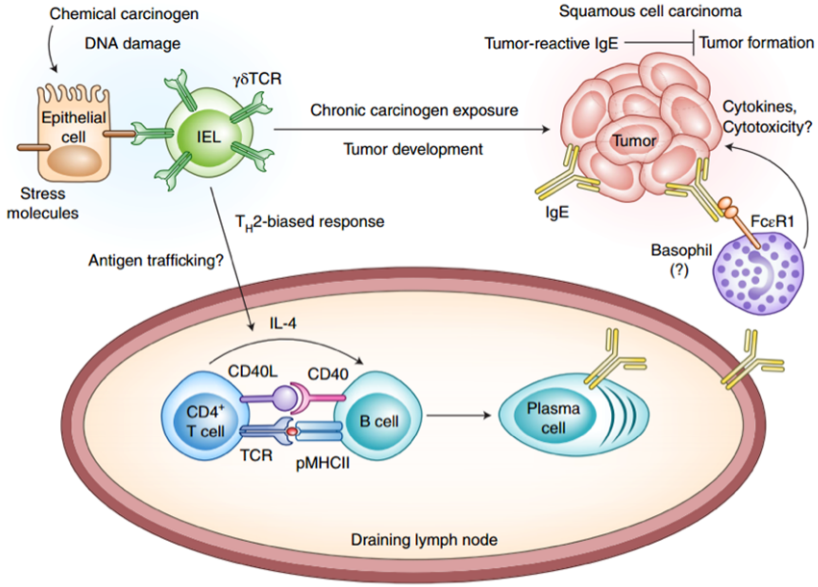
Apresentação antigênica

O macrófago, que está presente em grande quantidade em todos os tecidos, é outro tipo importante de APC. Na resposta imune mediada por células, os macrófagos fagocitam os patógenos e apresentam seus antígenos às células T que, por sua vez, ativam macrófagos para que destruam os micro-organismos.



Apresentação antigênica

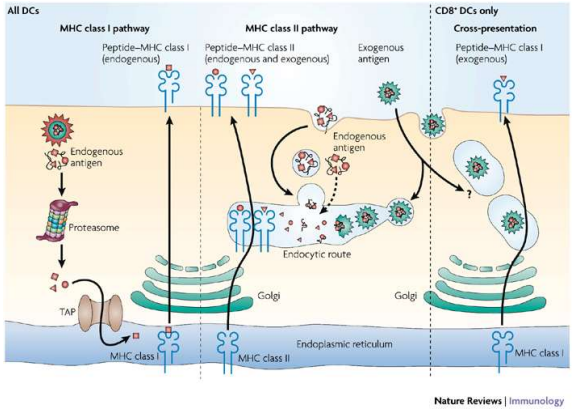
Os linfócitos B ingerem os antígenos proteicos, apresentando-os às células T auxiliares (produção de anticorpo).



Apresentação antigênica

As moléculas do MHC são proteínas presentes na membrana das APCs que apresentam antígenos peptídicos para o reconhecimento pelos linfócitos T.

MHC é a principal proteína de superfície celular (marcador) determinante de aceitação ou rejeição de enxertos de tecidos trocados entre indivíduos. Ou seja, os indivíduos que possuem MHC idênticos (animais cosanguíneos ou gêmeos idênticos) aceitam enxertos uns dos outros, enquanto indivíduos com MHC diferentes rejeitam tais enxertos.



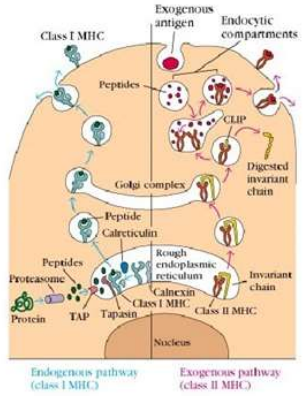
Apresentação antigênica

Uma outra função das moléculas do MHC é a apresentação de peptídeos derivados de antígenos proteicos microbianos e cancerígenos.

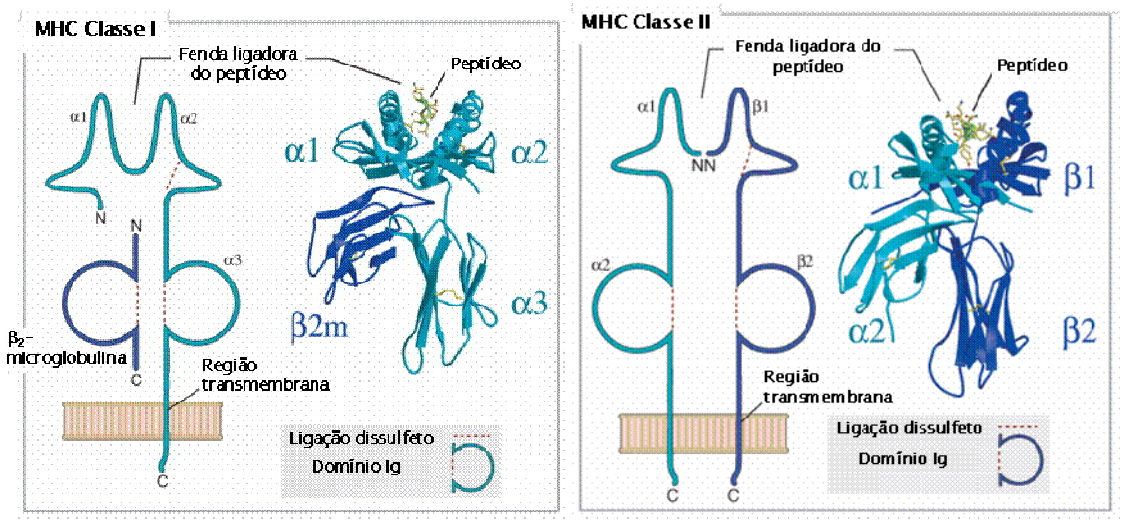
MHC de classe I (MHC-I): presente em todas as células nucleadas

MHC de classe II (MHC-II): presente em células apresentadoras de antígenos

As moléculas do MHC das classes I e II são proteínas de membrana que contêm, na sua porção amino terminal, uma fenda que se liga a peptídeos



Cada molécula do MHC pode apresentar apenas um peptídeo de cada vez, porque possui apenas uma fenda, mas cada molécula do MHC é capaz de apresentar diversos tipos de epítopos.



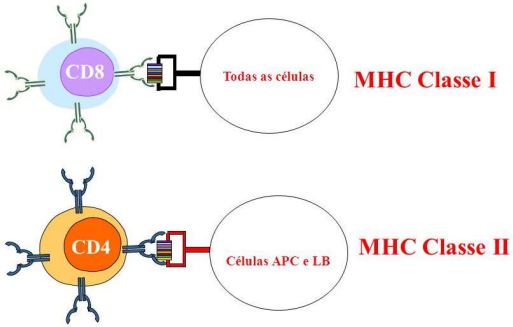
Processamento dos antígenos proteicos

As proteínas extracelulares que são internalizadas em vesículas pelas APCs são processadas e apresentadas por moléculas do MHC-II, enquanto as proteínas livres no citoplasma de células nucleadas (inclusive APCs) são processadas e apresentadas por moléculas do MHC-I.

MHC-I: presente em todas as células nucleadas inclusive APCs

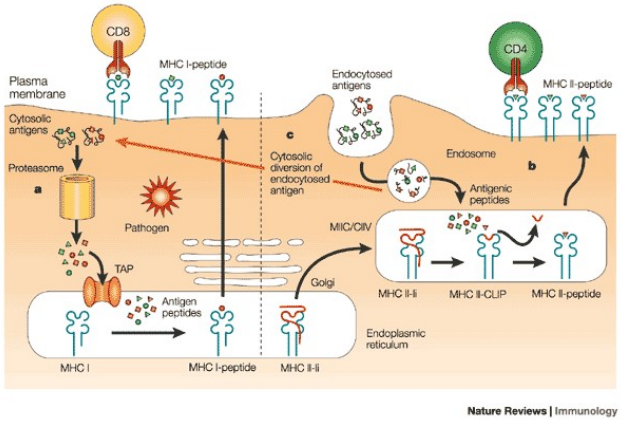
MHC de classe II (MHC-II): somente APCs

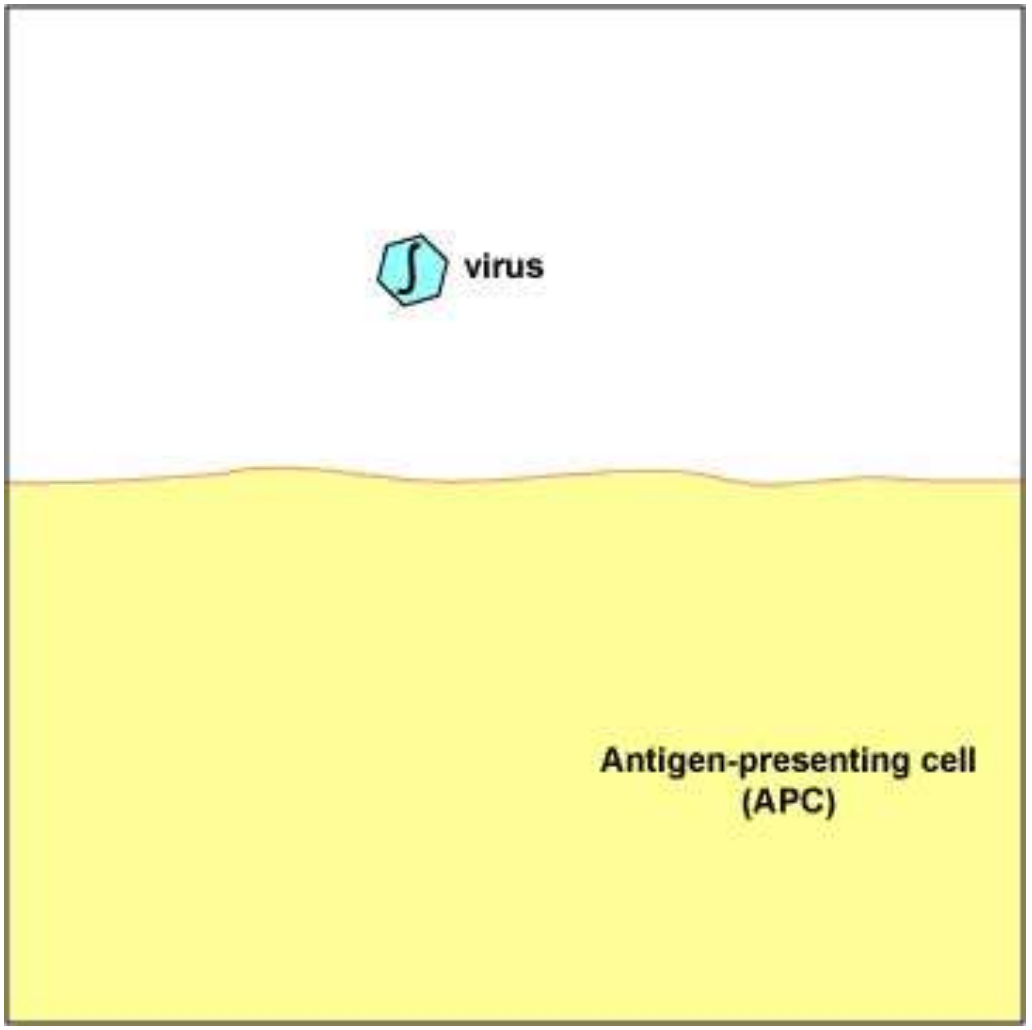
MHC-I – Linfócito TCD8^{+}
MHC-II – Linfócito TCD4^{+}



Processamento dos antígenos proteicos via MHC-II

As APCs podem internalizar micro-organismos ou proteínas microbianas através de diversos mecanismos de reconhecimento. Após a internalização (fagocitose) as vesículas fagocíticas se fundem a lisossomos (fagolisossomos). Nessas vesículas, os micro-organismos são mortos e degradados por enzimas, gerando diversos peptídeos de comprimentos e sequências variáveis.

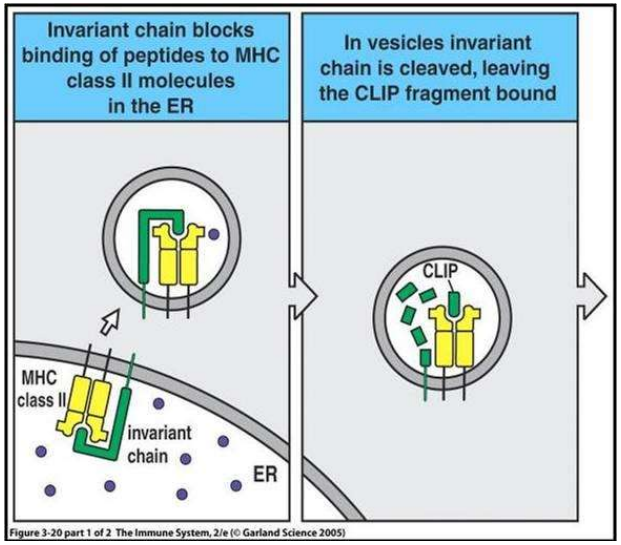



virus
Antigen-presenting cell
(APC)

Processamento dos antígenos proteicos via MHC-II

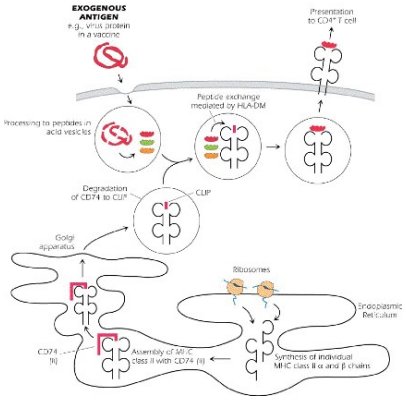
As APCs sintetizam moléculas do MHC-II constantemente no retículo endoplasmático. Cada nova molécula de MHC-II transporta com ela uma proteína chamada de cadeia constante (ou cadeia invariante), que se liga fortemente a fenda de reconhecimento antigênico.

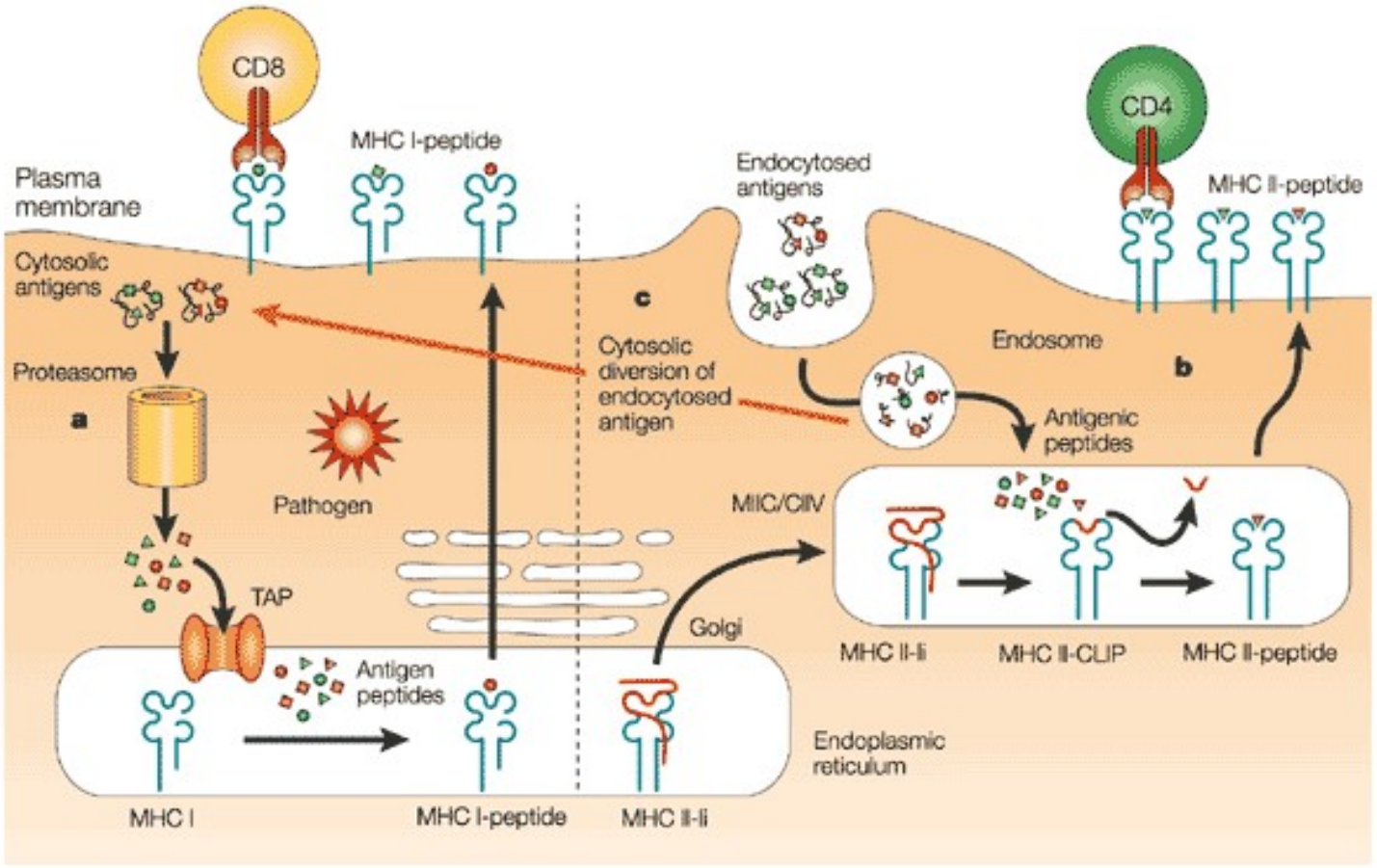
Dessa forma a fenda do MHC-II estará ocupada até a chegada em vesículas fagocíticas.



Processamento dos antígenos proteicos via MHC-II

As moléculas do MHC-II saem do retículo endoplasmático através de vesículas e se direcionam para o complexo de golgi. No caminho do complexo de golgi até a vesícula fagocítica, a cadeia invariante vai sofrendo proteólise, permanecendo somente um pequeno peptídeo na fenda (CLIP). Após a fusão da vesícula exocítica (vinda do complexo de golgi com MHC-II + cadeia invariante) a vesícula fagolisossômica, ocorre a ação das proteínas DM, que digerem o CLIP, tornando a fenda livre para a ligação aos peptídeos antigênicos.





Nature Reviews | Immunology

CELSO
LISBOA
Centro Universitário