



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, Vaga:
MC-053 – Setorização: Fronteiras na Imunologia: Vacinas e
imunoterapia; Imunologia clínica; Imunobiologia de tumores;
Imunometabolismo; Microbiota e imunologia de mucosas, do
Departamento de Imunologia – Instituto de Microbiologia Paulo
de Góes – CCS – UFRJ

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 381580

Tópico 12. Metabolismo de células do sistema imune

O estudo sobre o metabolismo de células do sistema imune ganhou força com a introdução do termo imunometabolismo em 2011.

Esse tópico aborda como alterações metabólicas podem influenciar a proliferação, fenótipo e função de células imunológicas. O metabolismo celular sob influência dos nutrientes disponíveis, do pH, do estado nutricional do indivíduo, estilo de vida como sedentarismo e dieta. Esses fatores podem atuar como forma de modular alterações metabólicas.

Atualmente a conexão entre metabolismo e resposta imunológica (RI) vêm crescendo em estudos que identificam o papel da resposta imune em doenças metabólicas, diabetes tipo 2 e obesidade.

Hoje é clara a associação de que o metabolismo ~~com~~ modula/altera a RI como diferentes citocinas podem alterar de forma distinta o metabolismo.

Destaca-se nesse tema algumas vias metabólicas importantes para gerar energia, biomassa que darão suporte para a divisão celular (~~metabol~~ ^{como} nucleotídeos e lipídios de membrana). Essas vias não são independentes ①

✶

e a ativação de uma pode gerar intermediários e cofatores importantes, que serão usados em outras vias distintas

Destaca-se as vias:

- ① Glicólise
- ② Ciclo do ácido Tricarboxílico (TCA)
- ③ Pentose - fosfato
- ④ Síntese de ácido graxos (FAS)
- ⑤ Oxidação de ácido graxos (FAO)
- ⑥ Metabolismo de Aminoácidos.

NO contexto de células imunológicas a Glicólise é uma importante via para ativação celular. Nesse sentido, linfócitos T e B, células NK, células dendríticas e macrófagos do fenótipo M1, utilizam da via glicolítica após receberem estímulos de ativação.

Nos macrófagos, o estímulo com LPS, aumenta o fator HIF1 α , sustentando a via glicolítica. Nessas células a ativação dessa via aumenta a produção de O_2 superóxido, ROS, estimula a fagocitose e amplia a produção de citocinas ^{quimiotáticas} inflamatórias (IL6, MCP-1, IL8). Também ocorre a ativação de inflamação, através da ativação da hexoquinase, ^{ativando} caspase 1 e a ^{levando} conversão de pró-IL1 β e IL18 em suas formas ativas.

Nos linfócitos T, a ativação via TCR/CD28 culmina com a ativação da via PI3K/AKT que ativa mTOR, sustentando o metabolismo de glicólise. O fator HIF1 α também é importante nessas células direcionando uma via metabólica.

A glicólise está associada ao desenvolvimento de ②

A S

linfócitos do Tipo $Th1$, $Th2$ e $Th17$ e de suas funções efetoras na produção de citocinas como IFN γ , IL4 e IL17. No contexto da produção de IFN γ , a ativação da glicólise impede a expressão do mRNA do IFN γ causada pelo GAPDH. O deslocamento do GAPDH do mRNA dessa citocina aumenta sua produção.

Em células NK a glicólise também é ativada após estímulo de citocinas como IL15 e IL2. Nessas células essa via suprte a atividade citotóxica através de granzima e perforina e também produção de IFN- γ .

É importante destacar, que a presença de AMPK (importante regulador^{ativador} de OXPHOS) em células NK, reduz sua função. Receptor KLRG1, que possui atividade inibitória, utiliza a fosforilação de AMPK em células NK diferenciadas para reduzir sua proliferação, sua atividade citotóxica e produção de IFN γ .

Células dendríticas também ativam a via glicolítica durante a apresentação de Ag, aumentando a expressão de MHC e CD80/CD86 na superfície.

Em relação a gerar energia, a via glicolítica é considerada ineficiente quando comparada com as demais já citadas. Essa via tem o rendimento de 1 glicose = 2 ATP. No entanto gera intermediários importantes para a demais via como pentose 6. fosfato que atua na via de pentose fosfato que gera nucleotídeos. Também gera piruvato que serve como precursor do TCA após ser convertido em acetil. CoA. Então, apesar de baixa energia produzida essa via direciona produtos que darão suporte a proliferação e atividade efetora das células.

A via da fosforilação oxidativa (OXPHOS) é associada ③

ao metabolismo de células quiescentes e um estado de homeostasia. A ativação de AMPK é um importante regulador dessa via metabólica. Essa via é ativada em células de memória e neur, não ativadas e superter longevidade.

Uma possibilidade pela escolha da glicólise durante a ativação celular é que essa via não depende da biogênese mitocondrial, sendo uma ativação mais rápida.

O ciclo do ácido tricarboxílico também tem importante papel para definir fenótipos de macrófagos. Nesse sentido, o ciclo TCA íntegro está associado a macrófagos M2 (ativação alternativa), que apresentam esse ciclo íntegro para geração de ATP e possuem atividades anti-inflamatórias e de reparo tecidual produzindo TGF β , ouginal e tendo papel importante na eliminação de corpos apoptóticos. Já o ciclo TCA "quebrado" que leva ao acúmulo de seus produtos intermediários como succinato e citato é observado em macrófagos M1 (ativação clássica) que apresentam $\uparrow$ fagocitose, $\uparrow$ ROS e produção de mediadores inflamatórios.

A síntese e oxidação de ácidos graxos (FAS e FAO) têm papel dicotômico na resposta. A síntese está associada a resposta inflamatória e ativação de células T e a oxidação ~~da~~ (FAO) está presente em células com função anti-inflamatória.

As células T reguladoras (CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Foxp3⁺) apresentam esse metabolismo celular.

Além disso, em ambientes imunoregulados a presença de FAO é observada. A molécula CPT1a é um importante marcador dessa via, pois realiza ~~o~~

transporte de ácidos graxos para mitocôndria, seguindo a oxidação dos mesmos. As células Tregs têm expressão elevada de CPT1a. Suportanto essa característica de FAO em ambientes reguladores; a ativação via PD-1/PDL-1 aumenta a expressão de CPT1a.

Em relação ao metabolismo de aminoácidos, a via de sinalização de mTOR é um importante regulador, e funciona como um sensor de nutrientes do ambiente. A glutamina é um importante metabólito usado nessa via durante a ativação de célula T.

Visto que o metabolismo de células imunológicas pode direcionar sua função e que de forma geral glicólise e FAS direcionam inflamação e que FAO pode direcionar respostas anti-inflamatórias, essas vias podem ser utilizadas para modular a resposta.

Nesse sentido, estudos em camundongos demonstraram que o bloqueio/inativação do receptor GLUT3 (responsável pela captação de glicose do meio, como também realizado pelo GLUT1, ~~e~~ GLUT4) reduziu os sinais patológicos da encefalomielite, o que está diretamente relacionado a redução da inflamação.

De forma oposta, no ambiente tumoral (microambiente tumoral) observamos que alterações no metabolismo direcionadas nesse ambiente, proporciona mecanismos imunoreguladores que prejudicam a imunovigilância, reduzindo mecanismos efetores. Nesse ambiente, as células tumorais com alta capacidade proliferativa, utilizam do fenômeno de Warburg, e mesmo na presença de O_2 essas células preferem o metabolismo de glicólise, suportando sua proliferação. Nesse contexto, a alta taxa de glicólise leva ao acúmulo de lactato, que acidifica o pH do microambiente e reduz a função (5)

de linfócitos. Além disso, ocorre uma competição pela glicose do meio, reduzindo sua captação pelas células efectoras, diminuindo a ativação/proliferação de linfócitos TCD8 e NK, principalmente. Nesse ambiente também ocorre o aumento da expressão de CTLA em células T reguladoras. As células mielóides supressoras produtoras de IDO, contribuem para redução de metabólitos, como o triptofano, que é essencial no metabolismo de aminoácidos dos linfócitos.

Além disso, infecções virais, como o que ocorre pelo SARS-COV-2, pode modular ~~as~~^{vias} metabólicas para favorecer sua infecção. Nesse sentido, a infecção com o vírus aumenta perfil glicolítico em macrófagos, favorecendo sua replicação viral.

Assim, o metabolismo de células imunológicas é uma importante área de estudo na imunologia e traz conhecimentos emergentes de como essas vias podem ser utilizadas para direcionar uma resposta de interesse.

10. Imunodeficiências.

Imunodeficiências são alterações no padrão de resposta imunológica que levam a deficiência dos mecanismos efetores desse sistema. As imunodeficiências podem ser primárias ou congênitas ou secundárias ou adquiridas.

Na forma qual as deficiências primárias ocorrem por mutações genéticas em genes alvos, importantes para a resposta imunológica (RI) e as adquiridas podem ocorrer por uso de fármacos ou infecção como HIV e HTLV.

As deficiências congênitas levam a infecções recorrentes na infância e até mesmo problemas e atrasos no desenvolvimento fisiológico. Um importante método para diagnóstico é o "teste do pezinho" em crianças (apenas na rede privada). Crianças com uma deficiência ~~de~~ não podem ser vacinadas com vacinas cuja formulação utilize vírus vivo ou atenuado.

O sintoma final das imunodeficiências são ^{principalmente} aumento² nas infecções e perda da imunovigilância.

A severidade da doença está diretamente relacionada ao tipo de gene afetado, ou seja ao tipo de gene que foi afetado a função do sistema imune. A deficiência pode ocorrer no sistema inato ou adaptativo, e pode acometer apenas linfócitos T ou B isoladamente ou os dois subconjuntos, de forma combinada.

Destaco como exemplo de imunodeficiências:

- A doença granulomatosa crônica, que afeta os fagócitos, reduzindo a produção de ROS, importante mediador para atividade microbicida. Indivíduos com essa doença apresentam infecções bacterianas recorrentes.

- ~~Doenças~~ ~~que~~ mutações que levam a redução na expressão de CD18 e CD62L, impactando o processo de

(7)

migração leucocitária. Importante mecanismo na resposta inflamatória.

- Síndrome de DiGeorge: que leva a problemas na formação do timo, impacta o desenvolvimento e maturação dos linfócitos T.

- Alterações genéticas que reduzem a expressão de CD40 nas células B, reduzindo assim de co-estímulo dos linfócitos T nos centros germinativos e impactando a produção de anticorpos específicos, visto a redução da hipermutação somática e troca de uso fixo.

- Alteração na formação da cadeia γ do receptor de IL2, reduzindo estímulos para proliferação e sobrevivência de linfócitos T. Nesse sentido a sinalização via IL15 também pode ser prejudicada, o que tem um impacto significativo na resposta de células T citotóxicas.

- Alterações nos genes da RAG1 e 2 geram um impacto significativo para deficiência imunológica a falha na função de RAG1/2 impacta a formação dos receptores de células B e T, prejudicando o reconhecimento das regiões sinalizadoras e a seleção dessas regiões durante a recombinação aleatória de genes da recombinação V(D)J que ~~de~~ leva a ~~geração~~ ^{formação} desses receptores. Nessa forma, indivíduos com essa doença, não apresentam BCR e nem TCR e possuem uma deficiência imunológica combinada, onde não há ativação e nem reconhecimento por esses linfócitos.

Outras deficiências podem ocorrer acometendo a função de células NKs, via de ativação do TCR como falha na ZAP70, dificultando na troca de isotipos de imunoglobulinas. Essas falhas não levam a severidades diferentes e são alvos de terapia para restaurar a resposta

8

imunológica desejada.

Em relação a imunodeficiência adquirida, gostaria de ressaltar a infecção pelo vírus HIV. No contexto dessa imunodeficiência, o próprio sistema imunológico é responsável pela patogênese da doença.

O HIV é um lentivírus que possui em seu envelope genes alvo para a produção de proteínas estruturais e imunogênicas. Nestas, pol, env e gag. Esse vírus infecta células do sistema imunológico através da expressão das proteínas gp120 e gp41, que ~~se ligam~~ ^{utilizam} os receptores imunológicos CCR5 (vírus T tropico) e CXCR4 (m tropico) para ligar nas células do hospedeiro e iniciar sua infecção. Após a infecção o vírus integra seu material genético na célula do hospedeiro, utilizando essa maquinaria celular para gerar novas partículas virais que são liberadas da célula infectada por brotamento.

O vírus tem como ~~reservatório~~^{reservatório} de ~~transmissão~~^{transmissão} fluidos do hospedeiro infectado e pode ser transmitido por contato sexual, transfusão de sangue, aleitamento materno.

Em relação a resposta imata protitorica destaca-se as células NKs com capacidade de lise de células infectadas e as células dendríticas plasmocitoides (CD133+) que produzem interferons IFN α e β após sinalização por receptores RIG e via ~~uma~~ STING com os fatores de transcrição IRFs.

Essas citocinas ativam o estado antiviral que reduzem a replicação viral.

No entanto, o vírus tem tropismo para células imunitárias como linfócitos T e macrófagos. As primeiras células $CD4^+$ infectadas encontram-se no GALT, ~~com a~~ infecção dessas células é seguida por uma redução na



presença de $CD4^+$ nesse órgão, principalmente $CD4^+ CD45RO^+$ ($Th17$) produtores de $IL22$ e $IL17$, importantes para defesa da barreira intestinal. A depleção dessas células é associada a redução da resposta protetora e translocação microbiana no intestino.

Células dendríticas que expressam DC-sign ~~also~~ participam da disseminação do vírus para linfonodos e subsequente para demais órgãos e circulação. Alcançando essas disseminações os vírus continuam seu processo de infecção.

Existe uma fase inicial: onde ocorre um pico de viremia e depleção de algumas células $CD4^+$. Uma fase de latência: onde há controle da viremia, mas não eliminação e a medida que a resposta adaptativa vai se intensificando, aumento o número de linfócitos $CD8^+$ citotóxicos espaciais e número de linfócitos $CD4^+$ diminuem.

Os mecanismos que levam a redução no número de $CD4^+$ são: lise direta pelos linfócitos infectados por células $CD8^+$ através da liberação de granzima e perforina, e da via FAS/FASL que induzem apoptose na célula alvo via ativação de caspases.

Lise de $CD4^+$ por efeitos citopáticos do vírus durante o seu processo de replicação.

Morte "bystander" de $CD4^+$ que não replicam o vírus mas que após infecção ativaram o inflamassoma via reconhecimento NLRP3 do material genético viral e induziram caspase 1 e a ativação de gsdmína D levando a morte inflamatória piroptose.

Esses mecanismos levam a uma depleção do número de $CD4^+$ na circulação atingindo menos 200 $cells/mm^3$ o que identifica a síndrome da

§

Imunodeficiência adquirida (AIDS).

Nesses indivíduos a resposta auxiliar dos linfócitos $CD4^+$ está ~~com~~ prejudicada o que favorece infecções recorrentes e oportunistas, além da redução da imunovigilância com desenvolvimento de SARCOMA e acometimento do sistema nervoso.

Um outro fator que favorece a redução da resposta imune efetora é o desenvolvimento do fenotipo de exaustão alutar nesses indivíduos. O estímulo viral persistente (antígenos persistentes) faz com que linfócitos $CD8^+$ e $CD4^+$ expressem na superfície receptores inibitórios como PD1, TIM3, LAG3, CTLA4, VISTA.

A medida que aumenta o número desses receptores aumenta a capacidade de sinalização inibitória nos linfócitos com redução de sua proliferação e produção de citocinas como o IFN γ .

Nessa doença, mecanismos imunológicos como produção de RANTES e MCP-1 ~~que bloqueiam~~ ligantes de CCR5 podem ser via para bloquear a infecção.

Além disso, indivíduos infectados que apresentam mutações no gene CCR5 e possuem baixa expressão desse receptor são controladores de elite da infecção e não avançam para AIDS.

Mecanismos para modular a resposta imune e aumentar sua função são importantes ferramentas no tratamento de imunodeficiências.

15. Imunoterapia.

Imunoterapia são formas de ^{tratamento para} regular a resposta imunológica. Essa terapia pode modular a resposta no sentido de ativação ou regulação negativa, reduzindo a resposta de interesse.

A imunoterapia pode ser passiva ou ativa.

A forma passiva mais conhecida é a passoterapia onde são de indivíduos previamente sensibilizados ao Ag, quando anticorpos específicos são administrados ^{como receptor} ~~no corpo do doador~~. Esses anticorpos específicos têm funções de neutralizar infecções, ~~neutralizar~~ neutralizar patógenos ou toxinas. Essa abordagem foi utilizada durante a COVID-19 para neutralizar a ^{infecção} viral.

Um marco no avanço da imunoterapia foi o desenvolvimento da técnica de ^{produção} anticorpos monoclonais (hibridoma) e também a produção de anticorpos humanizados em camundongos que possuem o gene da imunoglobulina humana.

Além disso, o uso da imunoterapia no câncer com o bloqueio de receptores inibitórios PD-1 e CTLA-4, que potencializaram a resposta imunológica efetora nessa doença, também ~~foi~~ ^{foi} um marco histórico da ~~atuação~~ ^{atuação} uso da imunoterapia, rendendo em 2018 o prêmio nobel para Jim. Allison e outro pesquisador pelo avanço no tratamento de tumores.

A imunoterapia pode ser empregada em doenças como imunodeficiências, para ampliar a resposta imune efetora, no contexto de doenças autoimunes e inflamatórias, reduzindo o dano causado pela resposta, doenças infecciosas e tumores, etc..

No contexto de cada doença, ~~é importante o contexto~~ ^{é importante o contexto} (12)

de cada doença é necessário o conhecimento básico das células e ~~moléculas~~ moléculas e vias celulares que desejam ser moduladas.

~~Exemplos~~ Destaco agora exemplos de imunoterapias.

• Celular: utilizando transferência aditiva de células, como:

- Transferência de leucócitos infiltrantes de Tumor (TILs)
- Células NK
- Células gamma-delta
- Linfócitos

Nessa técnica, essas células são removidas do doador ativadas *in vitro* como por exemplo usando IL2, IL15, citocinas que potencializam a resposta efetora e inoculadas novamente no indivíduo. A aplicação dessa forma de imunoterapia já ocorre em Tumor, como forma de aumentar a capacidade citotóxica, produção de granzima e perforina e aumentar a eliminação de células tumorais.

Se a intenção é reduzir a resposta inflamatória pode-se usar a transferência de células T reguladoras ou células mielóides supressoras. Que através de mecanismos como liberação de IDO, produção de IL10 e TGF β , expressão de CD39 e CD73 que vão gerar adenosina, ~~mas~~ além de receptores inibitórios como CTLA4 vão reduzir a resposta inflamatória ~~correto~~.

A transferência de células denominadas CART cells também são exemplo de imunoterapia celular. Essas células expressam um receptor quimérico de reconhecimento Antígeno específico. Esse receptor é constituído por engenharia genética e é formado por uma única cadeia pesada e leve da imunoglobulina, responsável pelo reconhecimento do Antígeno associado a receptores

que servem para sinalização intracelular como a cadeia zeta do receptor CD3, receptores de estímulo como CD28, OX40, 4BB1, além de receptores de sinalização de citocinas como IL2, ou receptores de ativação como NKG2D.

Essas moléculas de ativação são direcionadas vias intracelulares como LAT, PLC γ e ZAP70 culminando com ativação das CART cells. Essa ativação aumenta a proliferação, reduz sinais pró-apoptóticos e aumenta função efetora dessas células. O uso dessa tecnologia já vem sendo empregado em tumores.

~~transfusão de células~~ A transferência de células dendríticas é uma técnica usada na vacina Provenge, para tratamento de câncer de próstata. Células dendríticas são incubadas com Antígenos do tumor e são transplantadas para o doador aumentando a apresentação de Ag e resposta efetora.

No contexto de transferência de células é importante destacar a via de reconhecimento do MHC e ~~processos~~ ^{processos} de replicação que são ultrapassados pelo uso de transfusão autóloga, ou CART cells as quais não necessitam do reconhecimento via TCR-MHC e apresentação de antígenos.

Além disso, transferência de células T $\gamma\delta$ gamma delta também podem ser uma importante forma já que não reconhece antígenos no contexto do MHC.

Anticorpos monoclonais também são importantes terapias usadas para modular a resposta imune.

Podem ser Bispesquias: contendo sítio de reconhecimento no tumor e na célula efetora formando uma sinapse imunológica de ativação.

Podem ter função de neutralização de reguladores ou aumentar ADCC ~~em~~ citotoxicidade

~~10.7 Imunodeficiência~~

mediada por anticorpo em células alvo).

O bloqueio de ~~receptores~~ ^{receptores} inibitórios (imuno "check points") foi uma revolução no tratamento de tumores utilizando anticorpos monoclonais para inibir a via PD1-PD21, foi possível aumentar a sinalização TCR em células T. Além disso, o bloqueio da sinalização do receptor CTLA4 também aumentou a ~~sinalização~~ ^{ativação} dos linfócitos no ambiente tumoral. O receptor CTLA4 é um receptor competitivo com o CD28, onde o engajamento de CD28 envia sinais de co-estímulo importantes para ativar linfócitos T e o CTLA4, pelo contrário, inibe a ativação dessas células favorecendo a permanência tumoral.

O anticorpo monoclonal CTLA4 utiliza a porção Fc da imunoglobulina IgG associada ao sítio de reconhecimento do CTLA4. A utilização dessa fração Fc aumenta a permanência do anticorpo monoclonal no corpo usando o mecanismo fisiológico do Receptor neonatal da IgG que protege a sítio de degradação lisossômica.

A utilização do ~~receptor~~ ^{anticorpo} monoclonal anti-TNF α ~~que~~ também foi uma importante ferramenta no tratamento da artrite reumatóide, reduzindo a inflamação excessiva, características desses pacientes.

Proteínas recombinantes também podem ser usadas na imunoterapia como a administração de citocinas IL2, IL6 e IFN γ que ativam e potencializam a resposta inflamatória em casos de deficiência imunológica.

Vírus oncolíticos também podem ser usados na imunoterapia. Esses vírus têm como direcionamento a infecção de células alvo de interesse levando a sua lise.

§

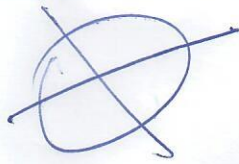
(15)

Anticorpos monoclonais também podem ser usados para carrear toxinas ou drogas e direcioná-las para alvos específicos.

Alguns autores descrevem as vacinas como forma de imunoterapia, já que essas formulações têm como objetivo modular a resposta imune, formando células de memória através de um pré-exposição ao antígeno de interesse. A formação dessas células garante uma resposta mais rápida e eficaz numa segunda exposição ~~novas~~.

Nesse sentido, a imunoterapia utiliza do controle da resposta imune para tratamento de doenças. O avanço dessa área só é possível pelo conhecimento básico das vias moleculares, receptores e funções do sistema imune.

O avanço nas técnicas moleculares, de bioinformática, ^{o estudo de} biologia de sistemas, metabolismo celular e outras áreas emergentes como transcriptômica, proteômica e metabolômica podem fazer novos avanços nessa área com a inclusão de novos alvos terapêuticos, que possam estabelecer o balanço entre as respostas de ativação / inibição no contexto das doenças e que possam auxiliar a imunoterapia a alcançar o estabelecimento de uma resposta imune usando a manutenção da homeostase fisiológica do corpo, papel ~~par~~ principal do sistema imunológico.



Rascunho



Rascunho:

glicólise - não precisa mitocôndria baçoquer.

~~Resposta~~ inflamação leva resistência a glicólise

Somatória: ↑ infecção.

Falta adequada:

Exaustão.

Importância ciência básica.