



# A imunidade inata na defesa imunológica de suínos

Ana Paula Ravazzolo

Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Departamento de Patologia Clínica Veterinária,  
Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## 1 – INTRODUÇÃO

A resposta imune (RI) de vertebrados pode ser dividida em imunidade inata e imunidade adquirida. A resposta inata é considerada a primeira linha de defesa contra patógenos, seguida da resposta adquirida. Esta última tem sido objeto de intensas pesquisas em função de sua complexidade e de ser um processo mais lento mediado pelos linfócitos T e B através de receptores específicos – receptor dos linfócitos T (TCR) e Imunoglobulinas (Ig), respectivamente. Nos últimos anos, vários trabalhos demonstraram que a “inespecificidade” inicialmente atribuída à resposta inata é relativa. Esta breve revisão tem por principal objetivo, além de rever sucintamente a resposta imune inata como um todo, apresentar os dados mais recentes na descrição e funções dos receptores resposta inata – os receptores *Toll-like* (TLRs).

## 2 – RESPOSTA IMUNE

O surgimento da Imunologia como ciência está atrelado aos conceitos de vacinação e fagocitose, relacionados com a imunidade adquirida e a inata, respectivamente. Embora as respostas inata e adquirida sejam apresentadas como duas entidades com características distintas (Tabela 1), existe uma forte interação entre as duas. O fenômeno mais evidente é o processo de fagocitose pelos macrófagos, constituindo-se no processamento do antígeno (Ag), a fim de que o mesmo seja apresentado aos linfócitos T auxiliares (Th – *T helper*).

A capacidade de o sistema imune reconhecer uma grande variedade de antígenos, diferenciando o que é próprio (*self*) do que é estranho (*non-self*), é principalmente atribuída aos receptores específicos presentes na superfície dos linfócitos B (Ig) e linfócitos T (TCR). A enorme diversidade dos receptores de Ag é possível em função de os mesmos serem gerados através de recombinação (*rearrangement*) de DNA.

A resposta adquirida e os elementos que a compõe é observada somente em vertebrados, enquanto que elementos e mecanismos que compõem a imunidade inata estão presentes igualmente em plantas e insetos. Também denominada imunidade “específica”, a resposta adquirida é desencadeada pela presença do Ag que, ao interagir com os receptores específicos (TCR e Ig), induz a proliferação e diferenciação dos linfócitos. As atividades efetoras da resposta imune (RI), sejam elas de caráter humoral pela secreção de anticorpos (Ac) ou de caráter celular pela ação dos linfócitos T citotóxicos (Tc), aparecem após um certo período de tempo. Em contrapartida, a resposta inata é imediata. Outra diferença entre os dois tipos de resposta é a capacidade de induzir memória imunológica, a qual somente é gerada na resposta adquirida.

**Tabela 1.** Características das respostas inata e adquirida.

Resposta inata	Resposta adquirida
Independente da presença do Ag <sup>a</sup>	O Ag a desencadeia
A resposta é imediata	Há um período de tempo para que a resposta seja máxima
Não é específica para um único Ag	É gerada para um Ag determinado
Não resulta em memória imunológica	Induz resposta de memória

<sup>a</sup>antígeno.

Os linfócitos Th são os “maestros” da resposta imune, cuja “regência” (regulação, direcionamento) acontece através da secreção de proteínas – as citocinas – consideradas os mediadores da RI. São as citocinas secretadas pelos Th que determinarão quais as principais células que atuarão contra um determinado Ag e se a RI terá um predomínio da atividade de linfócitos Tc ou da ação de Ac. Assim, um predomínio da secreção de citocinas como interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e interleucina-12 (IL-12) indicam uma resposta do tipo celular ou citotóxica, igualmente denominada de resposta Th1. Por outro lado, um perfil de secreção de citocinas como IL-4, IL-5 e IL-10 são indicadoras de uma resposta predominantemente humoral ou Th2. Este direcionamento da resposta é, em parte, definido por características do próprio Ag e de sua interação com o hospedeiro. Além disso, a apresentação do Ag aos linfócitos Th pelas células apresentadoras de Ag (APCs – *Antigen Presenting Cells*) desempenham um papel importante. As principais APCs são as células dendríticas (DCs), os macrófagos e os linfócitos B.

### 3 – RESPOSTA INATA

A resposta inata tem como atores as barreiras físicas, como a pele, bem como células e proteínas. As principais células são os neutrófilos, os macrófagos, as células dendríticas (DCs) e as células NK (*Natural Killer*). Entre as proteínas podemos citar as proteínas do complemento (C'), a proteína C reativa e as citocinas.

Os neutrófilos são as principais células envolvidas no processo inflamatório agudo, sendo as primeiras células a migrarem para os locais de infecção e seguidas pelos monócitos. Estas células são atraídas por substâncias quimiotáticas (quimiocinas, fator de necrose tumoral – TNF, interleucina 1 – IL-1) secretadas pelos macrófagos teciduais e, através de receptores específicos expressos nas células endoteliais, atravessam os vasos sanguíneos para chegar ao sítio da inflamação. As principais funções efetoras de neutrófilos e macrófagos são a fagocitose e destruição do microrganismo, além da secreção de citocinas que atuam na resposta inata. Ainda, os macrófagos secretam citocinas, como a IL-12, que estimula a secreção de interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) pelas células NK e pelos linfócitos T (LT). As células NK atuam na destruição de células infectadas e ativam macrófagos na destruição de Ag fagocitados.

Além da rede de interações entre as respostas inata e adquirida que ocorre através da secreção de citocinas, os macrófagos e as DCs são as principais células apresentadoras de Ag aos LTh. Ambas APCs reconhecem os Ag através de moléculas presentes na superfície, como os receptores de manose, os receptores de opsoninas (Ac, C') e os receptores *Toll-like* (TLRs).

#### 3.1 – Receptores da resposta inata: *Toll-like receptors* ou TLRs

Estudos recentes têm demonstrado que a resposta inata possui mecanismos capazes de diferenciar o que é próprio do que é estranho, característica inicialmente atribuída somente à resposta adquirida. Esta capacidade discriminatória é, em grande parte, intermediada por receptores denominados *Toll-like* ou TLRs.

A descrição da família de proteínas TLR iniciou com a identificação de uma proteína de insetos, a proteína Toll, essencial para o estabelecimento da polaridade dorso-ventral durante a embriogênese. Estudos subseqüentes demonstraram que Toll desempenhava igualmente um papel importante na defesa contra infecções fúngicas em insetos. Através de buscas em banco de dados, foi possível identificar proteínas homólogas em mamíferos. Os TLRs são glicoproteínas de membrana que apresentam, na sua porção citoplasmática, homologia significativa com a super-família dos receptores de IL-1. A porção extra-celular apresenta diferenças significativas entre os TLRs e difere dos receptores de IL-1. Os dados mais recentes descrevem 11 TLRs em mamíferos com capacidade de identificar patógenos, de acordo com a estrutura ou padrão molecular dos mesmos (Tabela 2). Estão presentes nas células do sistema imune, mas são igualmente expressos em outras células do organismo, como células epiteliais da pele e de mucosas do trato respiratório, intestinal e gênito-urinário e, ainda, em células endoteliais e musculares.

Os padrões de reconhecimento dos TLRs baseia-se em componentes característicos de patógenos, que não estão presentes em células de mamíferos. Em geral, os ligantes dos TLRs são estruturas essenciais à sobrevivência do microrganismo. Ao associar-se ao ligante, o TLR desencadeia uma série de reações intracelulares em cascata (transdução de sinais) que levam à mobilização de fatores de transcrição e conseqüente síntese protéica. Desta forma, a ativação dos TLRs leva à ativação da resposta inata através da indução da secreção de interferon (IFN) do tipo I e citocinas pró-inflamatórias.

A mobilização dos linfócitos e o predomínio de citocinas determinantes do tipo de resposta, Th1 ou Th2, parece ser induzida através da ativação dos diferentes TLRs. Alguns TLRs provavelmente reconhecem seus ligantes associados a outros TLRs ou moléculas, formando um grupo complexo de moléculas na membrana celular.

**Tabela 2.** Receptores *Toll-like* e seus ligantes<sup>a</sup>.

Receptor	Ligante/Origem	Descrição em suínos (referência)
TLR1 <sup>b</sup>	Lipopeptídeos/bactérias	Shinkai et al., 2006a
TLR2 <sup>b</sup>	Peptídeoglicanos, glicolipídeos, zymosan/bactérias, fungos	Tohno et al., 2005
TLR3	RNA dupla fita/vírus	Bautista et al., 2007
TLR4 <sup>b</sup>	Lipopolissacarídeos(LPS)/bactérias Gram -	Shinkai et al., 2006b
TLR5	Flagelina/bactérias	Shinkai et al., 2006b
TLR6 <sup>b</sup>	Lipopeptídeos, zymosan/ bactérias, fungos	Shinkai et al., 2006a
TLR7	RNA fita simples/vírus	Vincent et al., 2006
TLR8 <sup>b</sup>	RNA fita simples/vírus	–
TLR9 <sup>b</sup>	DNA com motivos CpG/bactérias, vírus	Shimosato et al., 2005
TLR10 <sup>b</sup>	ND <sup>c</sup>	Shinkai et al., 2006a
TLR11	ND	?

<sup>a</sup>Adaptada de Akira, S. e Takeda, K. (2004).

<sup>b</sup>A seqüência de nucleotídeos do gene (suínos) encontra-se no GenBank.

<sup>c</sup>Não determinado.

Os TLRs expressos na superfície celular – TLR1, 2, 4, 5, 6 e 10 – têm como ligantes, predominantemente, componentes de origem bacteriana. O TLR2 age em associação com o TLR1 ou com TLR6 no reconhecimento das lipoproteínas de bactérias Gram positivas. O TLR10 parece interagir com o TLR1 e com o TLR2. O TLR4 desempenha importante papel no reconhecimento de bactérias Gram negativas, através dos lipopolissacarídeos (LPS), mas reconhece igualmente algumas proteínas virais. O TLR5 reconhece uma proteína comum às bactérias Gram negativas e positivas, a flagelina.

Em contrapartida, os TLRs principalmente intracelulares – TLR3, 7, 8 e 9 – estão relacionados com a detecção de vírus e ácidos nucléicos. O TLR3 reconhece RNA dupla fita, enquanto que os TLRs 7 e 8 reconhecem RNA fita simples – ambos de origem viral. Motivos CpG ou dinucleotídeos CG não metilados são ligantes do TLR9, podendo ser de origem bacteriana ou viral.

Há evidências de que os TLRs também possuam ligantes “endógenos”, ou seja, componentes da própria célula. Foi demonstrado que o TLR3 é capaz de se associar a moléculas de RNA mensageiro (mRNA), o TLR2 a defensinas e o TLR4 ao fibrinogênio, entre outras moléculas.

Os principais mediadores da resposta inata induzida pela ativação dos TLRs são o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e a IL-6. Além das citocinas pró-inflamatórias citadas, a produção de um painel de quimiocinas também favorece a atividade de recrutamento de neutrófilos (quimiotaxia) e o processo inflamatório como um todo.

Embora a inflamação seja considerada o ponto de partida da resposta inata, este processo e a ativação dos TLRs têm conseqüências mais amplas e colaboram na indução da resposta adquirida através da secreção de IFN de tipo I. Atualmente, atribui-se muito mais funções aos IFN  $\alpha/\beta$  do que a atividade antiviral. Estas outras funções incluem a proliferação dos linfócitos T de memória, a inibição da apoptose dos linfócitos T, o aumento na secreção de IFN- $\gamma$ , a troca de classes de imunoglobulinas, a diferenciação dos plasmócitos e a ativação de células NK.

#### 4 – CONCLUSÕES

A importância da imunidade inata vem sendo reavaliada em função da interação com a resposta adquirida e, mais recentemente, pela descrição de receptores capazes de reconhecer patógenos – os TLRs. Estes estão fortemente associados ao início da resposta imune e, conseqüentemente, com as células que realizam a captura de Ag e o apresentam aos LTh. A ativação de APCs (macrófagos, DCs) é, em parte, dependente da interação dos ligantes (patógenos) com os respectivos TLRs. É possível transpor os conhecimentos de mecanismos dos TLRs para o

desenho de vacinas, bem como avaliar a capacidade de microrganismos que, durante seu processo evolutivo, desenvolveram mecanismos para escapar da resposta inata.

Foi descrito recentemente um dos mecanismos que poderia estar envolvido na indução de imunodepressão pelo circovírus suíno tipo 2 (PCV2). A produção de IFN- $\alpha$  pelas DCs infectadas por PCV2 é inibida, provavelmente através da inibição dos TLRs 7 e 9. Assim, a capacidade imunomoduladora do PCV2 estaria relacionada com o reconhecimento do Ag na RI inata.

A utilização de ligantes de TLRs na formulação de vacinas para aumentar sua eficácia é um aspecto promissor. Algumas vacinas provavelmente já contém na sua formulação elementos que seriam ligantes de TLRs e funcionariam como adjuvantes. Principalmente, considerando que as DCs são as principais APCs e a sua ativação via TLR é crucial na ativação da resposta adquirida.

## 5 – REFERÊNCIAS

- 1 **Abbas, A.K., Lichtman, A.H. 2005.** Innate immunity. Cap. 12, p. 275-297. In: Cellular and Molecular Immunology, Editora Elsevier Saunders, 5 ed., 2005.
- 2 **Akira, S., Takeda, K. 2004.** Toll-like receptor signaling. *Nature Reviews Immunology*, 4: 499-511.
- 3 **Bautista, E.M., Nfon, C., Ferman, G.S., Golde, W.T. 2007.** IL-13 replaces IL-4 in development of monocyte derived dendritic cells (MoDC) of swine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 115: 56-67.
- 4 **Parker, L.C., Prince, L.R., Sabroe, I. 2007.** Translational mini-review series on toll-like receptors: networks regulated by toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clinical and Experimental Immunology*, 147: 199-207.
- 5 **Shimosato, T., Tohno, M., Kitasawa, H., Katoh, S., Watanabe, K., Kawai, Y., Aso, H., Yamaguchi, T., Saito, T. 2005.** Toll-like receptor 9 is expressed on follicle-associated epithelia containing M cells in swine Peyer's patches. *Immunology Letters*, 98: 83-89.
- 6 **Shinkai, H., Tanaka, M., Morozumi, T., Eguchi-Ogawa, T., Okumura, M., Muneta, Y., Awata, T., Uenishi, H. 2006a.** Biased distribution of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in porcine Toll-like receptor 1 (*TLR1*), *TLR2*, *TLR4*, *TLR5* and *TLR6* genes. *Immunogenetics*, 58: 324-330.
- 7 **Shinkai, H., Muneta, Y., Suzuki, K., Eguchi-Ogawa, T., Awata, T., Uenishi, H. 2006b.** Porcine Toll-like receptor 1, 6, and 10 genes: Complete sequencing of genomic region and expression analysis. *Molecular Immunology*, 43: 1474-1480.
- 8 **Tohno, M., Shimosato, T., Kitasawa, H., Katoh, S., Iliev, I.D., Kimura, T., Kawai, Y., Watanabe, K., Aso, H., Yamaguchi, T., Saito, T. 2005.** Toll-like receptor 2 is expressed on the intestinal M cells in swine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 330: 547-554.
- 9 **Van Duin, D., Medzhitov, R., Shaw, A.C. 2006.** Triggering TLR signaling in vaccination. *TRENDS in Immunology*, 27: 49-55.
- 10 **Vincent, I.E., Balmelli, C., Meehan, B., Allan, G., Summerfield, A., Mccollough, K.C. 2006.** Silencing of natural interferon producing cell activation by porcine circovirus type 2 DNA. *Immunology*, 120: 47-56.