

NATUREZA DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA

PAULO JACONI SARAIVA *

Revisão, de forma sucinta, sobre as bases da imunologia, abordando aspectos sobre a resposta de uma economia a invasão por bactérias, vírus e outros complexos patológicos.

O sistema linfo-reticular foi estudado, dando-se ênfase à atuação dos linfócitos B, formadores de anticorpos, e os linfócitos T, responsáveis pela imunidade celular, suas determinações *in vitro* e respostas *in vivo*.

Antígenos de várias espécies foram relacionados, conforme sua forma de ação e potencialidade, responsáveis diretos pelas respostas humoral e celular.

No aspecto humoral, os anticorpos foram apresentados em classes distintas, dependentes de suas estruturas e funções específicas de resposta ao imunógeno.

O sistema complexo, de que é formado o complemento, foi estudado sumariamente, mostrando sua via normal de atuação e consequente efeito nas reações *in vitro* e *in vivo*.

I — INTRODUÇÃO:

A imunologia originou-se do estudo da imunidade contra as doenças infecciosas e a pesquisa para o esclareci-

mento do por que, infecções, tais como a varíola, sarampo, difteria e outras não acometem o indivíduo mais que uma vez.

A descoberta da imunização ativa, através de métodos artificiais, como a vacinação, ou a imunização passiva (soroterapia), constitui, de início, a preocupação primordial dos estudiosos em imunologia. Com o desenvolvimento das reações sorológicas, pouco a pouco foi se alargando o domínio desta especialidade, que hoje abranje setores como a imunobiologia, imunológica, imunopatologia, imunogenética, imunologia das doenças de hipersensibilidade e das doenças autoimunes, imunologia dos tumores, dos transplantes, demonstrando uma evolução acentuada dentro da medicina.

A imunologia tem como objetivo o estudo das reações do organismo à introdução de elementos estranhos à sua composição. Vários mecanismos são acionados na função de reconhecer a substância estranha e posteriormente a sua eliminação.

As modalidades de resposta a estes agentes resumem-se em duas: — produção de anticorpos, através do estímulo e produção de linfócitos B (tímo independente) e imunidade celular

* Pós-graduado em Imunologia pela Escola Paulista de Medicina. Imunologista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

regida pelos linfócitos T de origem tímica.

As células imunocompetentes são processadas na medula óssea e tomam caminhos diferentes, passando pelo timo, originando os linfócitos timo dependentes, responsáveis pelas reações de hipersensibilidade tardia, rejeições de homoenxertos, etc. As células que são processadas pela bursa de Fabricius, órgão encontrado nas aves e não demonstrado no homem, são chamadas de linfócitos B, formadores de anticorpos, responsáveis pela imunidade humoral.

A resposta imune vai depender de células que se diferenciam e multiplicam nos tecidos linfóides específicos como o baço, placas de Peyer, linfonodos, tornando-se células produtoras de anticorpos ou células com especificidade de iniciar respostas imunes.

As substâncias estranhas, denominadas de antígenos, para tornarem-se bons imunógenos devem possuir um elevado peso molecular, sendo, desta forma, captadas pelos linfócitos B, capazes de reconhecê-las. Estes linfócitos, após estímulo, diferenciam-se em plasmócitos que irão sintetizar globulinas. As imunoglobulinas unem-se ao antígeno que induziu o estímulo para a sua produção eliminando-o. Estas globulinas denominam-se anticorpos.

Na resposta imune mediada por células, não estão presentes as imunoglobulinas. Os linfócitos são capazes de reagir especificamente com o antígeno, porque possuem em sua superfície sítios de combinação semelhantes aos anticorpos. Este estímulo imuno-

gênico situa-se sobre a população de linfócitos T, que, originam células blastóides e proliferam, multiplicando a população original estudada, tornando-se linfócitos citotóxicos.

Além dos antígenos, linfócitos B e linfócitos T, atua o complemento como um elemento reagente dentro da resposta imune, e interação destes elementos pode ocasionar efeito protetor (aumento da imunidade), como efeitos maléficos ao organismo, mas, em qualquer caso, a eliminação da substância estranha é o fim a ser alcançado.

II — SISTEMA LINFO-RETICULAR:

O tecido linfóide acha-se concentrado nos órgãos linfóides, os quais foram divididos em primários e secundários. Durante o desenvolvimento embrionário, os primeiros órgãos linfóides a aparecer são o timo e a bursa de Fabricius, donde surgem os primeiros linfócitos. Estes órgãos, portanto, são denominados primários. O baço, linfonodos e demais agregados linfóides dos vertebrados, cujas populações linfóides são dependentes dos órgãos primários, constituem os órgãos linfóides secundários. A abundância de linfócitos no timo e na bursa de Fabricius contrasta com a escassez destas células no baço, linfonodos, nas placas de Peyer e no sangue, durante a vida fetal. A linfopoiese somente se torna evidente nestes órgãos após o nascimento. Portanto, grande parte dos linfócitos se diferenciam no timo ou na bursa de Fabricius (ou seu equivalente nos mamíferos), migram para a circulação e localizam-se nos órgãos linfóides se-

cundários, onde irão proliferar-se devido a ação de estímulos imunogênicos.

Origem dos linfócitos:

As células Precursoras dos linfócitos se encontram na medula-óssea e no fígado, durante a fase fetal. Estas células, pela via sanguínea são levadas até ao timo. Neste órgão elas se diferenciam e se multiplicam, constituindo os timócitos.

Os timócitos podem ser levados pelo sistema linfático aferente e assim ser distribuído pelos vários linfonodos, podendo chegar à circulação sanguínea de onde passam para o baço ou voltam para os linfonodos. Nesta população de linfócitos encontramos diferentes tipos de células, que apresentam uma variação quanto a tamanho, tempo de vida, densidade e funções. Quanto às funções destas células podemos ter:

a) células mediadoras da resposta imune que foram reconhecidas como pequenos linfócitos;

b) células de memória, que são pequenos linfócitos não totalmente diferenciados, que retêm a especificidade do antígeno;

c) células auxiliares da resposta imunológica como os macrófagos e as células dendríticas.

Foram feitos vários estudos para mostrar a importância do timo na resposta imune. Este órgão aparece no recém nascido, apresentando um bom desenvolvimento, atingindo um tamanho máximo durante a puberdade e, a seguir, começa a involuir. Fazendo-se timectomia neonatal em ratos, verificou-se que estes animais, em ge-

ral, eram susceptíveis a infecções por antígenos, o que normalmente ocasiona a morte do animal. Os ratos timectomizados também não rejeitam enxertos de pele, reação esta tipicamente mediada por células. Assim, atribui-se ao timo a redistribuição de linfócitos capazes de desenvolver resposta imune mediada por células nas zonas dos órgãos linfóides, ditos timo dependentes, que são as zonas paracortical dos linfonodos e polpa branca esplênica que circunda a arteríola central. Em experiências onde foram feitas timectomias em animais adultos, encontrou-se, inicialmente, uma resposta mediada por células, mas algum tempo depois esta resposta foi regredindo. A resposta inicial é explicada pelo fato de que, como o animal já era adulto, possuía linfócitos T, que haviam sido processados e distribuídos pelo timo nas várias regiões timo dependentes e corrente sanguínea, além de células de memória e grupos antigênicos provavelmente semelhantes aos antígenos ao qual o animal foi exposto.

Quando um animal adulto é submetido à radiações sub-letais, sua população de linfócitos diminui durante um certo tempo e sua capacidade de resposta imune fica deficiente. No entanto, como não foi timectomizado, o timo e a medula óssea se incumbem da redistribuição de novos linfócitos T. No caso do animal irradiado ser timectomizado a capacidade de restabelecimento de resposta imune celular não irá ocorrer e o animal irradiado poderá chegar à morte. Deste modo observamos a importância do timo

nas respostas imunes mediadas por células T.

Os linfócitos responsáveis pela resposta humoral de anticorpos, não sofrem a influência do timo e estão situados nos centros germinativos dos linfonodos e áreas folicular da polpa branca do baço. Nas aves encontramos um órgão conhecido como bursa de Fabricius, que vem ser o responsável pelo processamento e distribuição de células B, com função semelhante ao do timo. Os linfócitos que se tornam precursores das células plasmáticas são independentes do timo. Nas aves eles surgem sob influência da bursa de Fabricius ao término da vida fetal ou na vida neonatal. Nos mamíferos ainda não se conhece uma estrutura equivalente à bursa de Fabricius das aves, embora o apêndice, as placas de Peyer e as amígdalas tenham sido sugeridas como órgãos capazes de exercer a produção e distribuição de linfócitos B.

Mecanismo da resposta imune:

Os antígenos que penetram no organismo são inicialmente captados pelos macrófagos, cuja função é bastante discutida, existindo duas hipóteses para explicar sua atuação:

a) o macrófago quando fagocita o antígeno, codifica um RNA que vai ter ao linfócito, sensibilizando-o especificamente àquele antígeno.

b) A mais aceita é a que ocorre quando o macrófago fagocita o antígeno, liberando-o aos poucos, intacto ou como fragmentos, com determinantes antigênicos mais expostos e capazes de provocar uma maior resposta,

a fim de que vá estimulando aos poucos os linfócitos, o que provocará uma resposta mais prolongada.

O antígeno processado pelo macrófago irá sensibilizar o linfócito. Estas células começam a sintetizar DNA, RNA e proteínas, transformando-se em plasmoblastos. Os plasmoblastos irão sofrer uma série de divisões mitóticas muito rápidas (cerca de 6 à 9), originando elementos mais específicos contra o antígeno (resposta humoral).

A célula final, o pequeno linfócito, responsável pela resposta imune mediada por células, ou plasmócito, responsável pela produção de anticorpos (imunidade humoral), consistirá no elemento responsável em combater o antígeno, indo ao local onde ele se encontra e desenvolvendo dois tipos de respostas:

a) reação de tipo inflamatório, no caso da resposta imune mediada por células, originando-se tais células das áreas timo dependentes (linfócitos T).

b) células irão produzir anticorpos que reagirão especificamente contra o antígeno. Estas células originam-se dos centros germinativos, sendo responsáveis pela resposta imune humoral (linfócitos B).

Tanto na resposta imune humoral como na celular, nem todos os linfócitos sensibilizados se dividem até alcançarem o estágio de célula madura. Muitos deles atingem um estágio blástico, permanecendo como célula de memória, ou seja, células que retêm a capacidade de reagir contra um antígeno específico e, portanto, atuar rapidamente.

Os linfócitos T, após receberem o estímulo antigênico, transformam-se

em células blastóides que irão elaborar certos produtos como linfotoxinas, fator quimiotático para macrófagos, etc.

Os plasmócitos, quando estimulados pelo imunógeno, elaboram imunoglobulinas, conhecendo-se cinco classes: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Estas imunoglobulinas são específicas para antígenos que as estimularam, com as quais vão combinar, induzindo precipitação, fixação de complemento, imunoaderência, etc.

Os linfócitos constituem uma população heterogênea de células e até pouco tempo atrás não se distinguiam morfológicamente as duas subpopulações. No entanto, constituintes da superfície de suas membranas apareceram como marcadores específicos de linfócitos T e B, permitindo seu isolamento, caracterização e melhor compreensão do seu comportamento durante o processo imunológico.

Em camundongos, a distinção entre linfócitos T e B por meio de marcadores já está bem estabelecida; o iso-antígeno θ (theta) é encontrado em timócitos e linfócitos timo-dependentes, enquanto que imunoglobulinas e um receptor para o componente modificado do complemento (C3) são detectados na superfície da membrana de linfócitos B.

O receptor para C3, como marcador de células timo-independentes, foi encontrado em todas as espécies de mamíferos, inclusive no homem. A demonstração de linfócitos B tem sido por diferentes métodos, um deles utilizando complexo formado por hemácias humanas (HE) sensibilizadas com anticorpos de coelho (A) e comple-

mento de camundongo (C). Este sistema de formação de rosáceas entre linfócitos B e complexos HEAC já está bem caracterizado. Recentemente demonstraram-se certas vantagens no uso de complexos formados com partículas de zimosan (Z) sensibilizadas com complemento de camundongo (C3_u), formando o complexo ZC3, substituindo o formado com hemácias humanas.

Enquanto linfócitos T de camundongo tem sido demonstrados por meio de antiséros contra o antígeno O, no homem, entretanto, um marcador deste tipo não foi ainda encontrado. No entanto, verificou-se que grande número de linfócitos periféricos humanos tem a capacidade de ligar-se a eritrócitos de carneiro formando rosáceas. O fenômeno é temperatura-dependente e não está envolvido com receptores de imunoglobulinas ou com aglutininas anti-eritrócitos de carneiro. A percentagem de rosáceas com eritrócitos de carneiro em linfócitos de periférico de diferentes indivíduos varia bastante, mas aproximadamente 100% dos timócitos apresentam esta propriedade, sugerindo que eritrócitos de carneiro têm a capacidade de aderir apenas a células timo-dependentes.

Em estudos referentes a distribuição tecidual de células com receptores para eritrócitos de carneiro, comparada àquela de células com receptor para complemento, confirma a identificação de duas subpopulações de linfócitos humanos por meio destes marcadores. Em secções de linfonodos, os linfócitos com receptor para eritrócitos de carneiro foram encontrados na zona paracortical (timo-dependente),

enquanto que os linfócitos com receptor para complemento, localizaram-se nas áreas foliculares. No timo não houve aderência de complexos HEAC ou ZC3, mas uma intensa aderência de eritrócitos de carneiro.

A atividade mitogênica de certos elementos sobre os linfócitos, transformando-os em células blásticas num sistema de cultura «in vitro», já é bastante conhecido. Vários fitomitógenos, como a fitohemaglutinina (PHA), concanavalina A (Con A) e Pokeweed (PWM) produzem efeitos blastogênicos sobre os linfócitos.

Grande número de linfócitos normais sofrem transformações blástica «in vitro», por ação destes mitógenos, sendo a resposta freqüentemente aplicada como teste de avaliação da função das células imunologicamente competentes. A correlação entre resposta deprimida «in vitro», tem sido demonstrada em muitas doenças no homem.

Como células auxiliares, os macrófagos são encontrados no tecido conectivo, tendo a função de fagocitar substâncias estranhas de qualquer natureza, presentes nos tecidos. Portanto, alguns antígenos precisam ser processados pelos macrófagos para estimular, eficientemente, as células imuno-competentes para que haja uma resposta imune celular ou humoral.

III — ANTIGENOS:

A definição de antígeno como uma substância que determina uma resposta imunológica específica para este dado material, não nos dá uma idéia

das características de um antígeno. Vejamos algumas destas características:

1. A substância deve apresentar grupos químicos diferentes dos que existem normalmente no animal. Esses grupos não precisam ser totalmente estranhos, mas uma simples mudança de conformação já é suficiente para que uma molécula seja reconhecida como estranha. Além disso, a substância pode ter grupos que são realmente estranhos. Determinantes antigênicos introduzidos artificialmente na molécula e responsáveis por uma dada resposta imunológica, são chamados grupos haptenos.

2. A substância deve ter alto peso molecular. Esta afirmação baseia-se em observações empíricas, embora seja fácil de compreender que quanto maior for a molécula maior a probabilidade de possuir grande número de grupos estranhos ao animal. O glucagon de PM 3800, é a menor molécula conhecida que apresenta atividade antigênica. Proteínas com pesos moleculares maiores, são antígenos ainda melhores. Com relação aos polisacarídeos, o fato se repete, sendo necessários pesos moleculares muito maiores que os das proteínas para que possam servir como antígenos. Substâncias simples como o formaldeído, que provocam sensibilização, o fazem, não por si mesmas, mas porque formam substâncias estranhas combinando-se com as proteínas da pele e do plasma, e estas vão agir como antígenos.

Além destas características citadas, outras propriedades importantes definem o antígeno:

a -- Proteínas em geral são bons

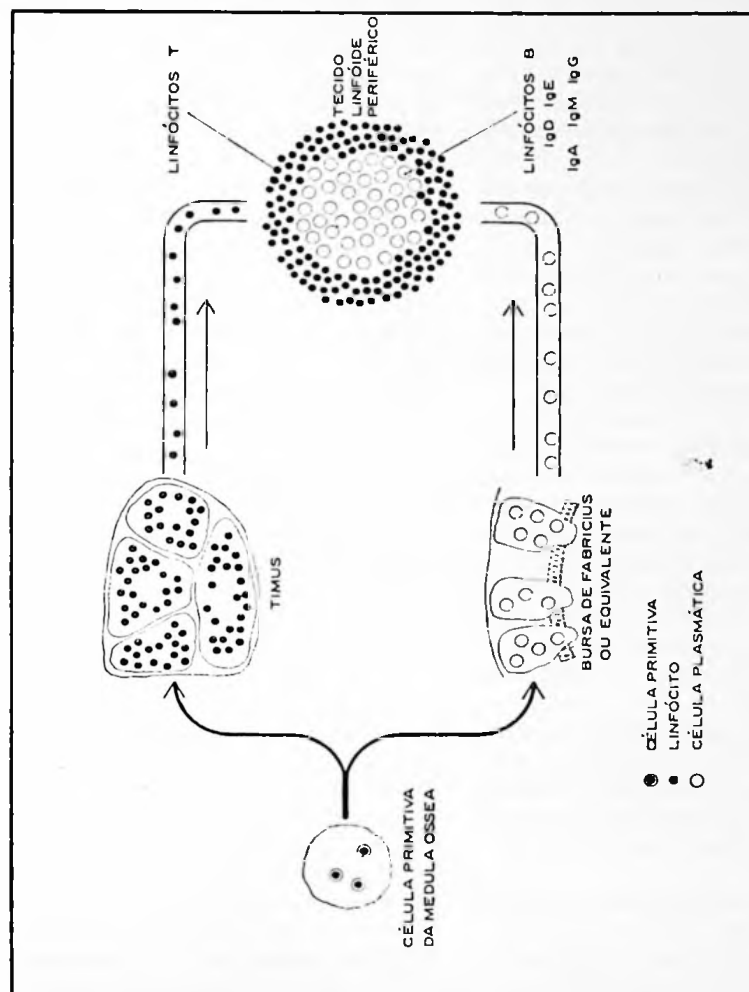


Fig. I Esquema mostrando a origem e o destino das células linfóides provenientes dos órgãos primários.

antígenos, embora a via de introdução constitua um problema porque as proteínas são facilmente hidrolisáveis. São usadas, pois as substâncias adjuvantes, que introduzidas juntamente com as proteínas, vão formar depósitos e serão liberadas lentamente, de modo a levar a uma formação aumentada de anticorpos.

Outra característica importante das proteínas é o seu conteúdo em tirosina, que confere uma certa rigidez aos determinantes antigênicos, facilitando a moldagem do anticorpo. Proteínas com alto teor de tirosina são melhores antígenos que proteínas com baixo teor deste aminoácido.

b — Para os polissacarídeos, é importante a definição da espécie animal em que se está fazendo o estudo, pois o que é bom antígeno para uma espécie, pode não ser para outra. Um exemplo é o polissacarídeo purificado da cápsula de pneumococo, que é antígeno para o homem e para o rato, mas não para o coelho, embora os pneumococos mortos sejam antígenos para o coelho.

c — Quanto aos lipídios, devemos dizer que não são antígenos em condições normais, embora os esteróides possam agir como grupos haptenos, quando conjugados com proteínas.

A natureza da especificidade antigênica:

Para estudá-la usa-se geralmente grupos haptenos simples, porque conhecemos a estrutura dos grupos, sendo possível testar a especificidade dos anticorpos e a importância de certos grupos na atividade antigênica.

Em geral, conjuga-se um hapteno

por uma ligação peptídica-proteica. A proteína pode ser estranha ou do próprio animal. Este animal recebe várias injeções de proteína conjugada, até que se obtenha quantidade de anticorpos suficientes para dar reação de precipitação. Neste estágio teremos três tipos de anticorpos no soro animal:

- 1) Anticorpos contra grupos antigênicos da proteína estranha original;
- 2) Anticorpos contra o grupo hapteno;
- 3) Anticorpos contra possíveis modificações da proteína estranha, sofridas pela introdução do grupo haptênico.

Se usarmos uma soroproteína do próprio animal, os anticorpos do tipo 1) não se formarão. Os anticorpos dos tipos 2) e 3) devem ser eliminados. Para eliminar os anticorpos do tipo 1), usa-se um excesso de proteína nativa, que precipita com estes anticorpos. Para a eliminação dos anticorpos do tipo 3), adiciona-se a mesma proteína, conjugada da mesma forma, com um grupo hapteno completamente diferente. Após este tratamento, o soro terá apenas anticorpos do tipo 2), que podem ser testados quanto a sua especificidade.

A comparação da capacidade do anticorpo de se ligar a diferentes grupos haptênicos, pode ser de três modos:

- a) Por comparação da quantidade de precipitado formado com proteína conjugada ao grupo hapteno relacionado.
- b) O antisoro é testado com proteína conjugada ao grupo hapteno relacionado e todo anticorpo precipita-

vel com este antígeno é retirado. Testa-se a seguir, o complexo proteínas-hapteno original. Qualquer precipitado formado é devido aos anticorpos que só reagem com o hapteno original.

c) O grupo hapteno combinado com o aminoácido é adicionado e isto não vai provocar precipitação, porque, mesmo combinado com o anticorpo, as moléculas são ainda muito pequenas e carregam só um terminante. O grupo hapteno simples pode competir com o complexo proteína-hapteno pelo anticorpo e impedir a precipitação. Pode-se comparar as concentrações mínimas de haptenos simples capazes de impedir precipitação.

Através destes métodos e de variantes deles, estudou-se a especificidade de anticorpo. Verificou-se que alguns tem um grau de especificidade comparável ao das enzimas e conseguem distinguir pequenas variações no determinante antigênico. Alguns exemplos são:

-- Anticorpos contra o ácido tartárico são capazes de diferenciar entre as três formas isômeras (D, L, meso), reagindo especificamente contra o hapteno original usado (uma das três formas).

— Anticorpos contra glicosídeos (a e b) e galactosídeos conjugados com proteínas, são capazes de distinguir perfeitamente o glicosídeo do galactosídeo. Há uma certa taxa de reação cruzada entre o a e o b glicosídeo, mas o anticorpo é capaz de distinguir entre eles, pois as intensidades de precipitação são diferentes. Portanto os anticorpos possuem um alto grau de especificidade.

Estes exemplos mostram que a forma do determinante antigênico, produz um tipo correspondente no sítio de ligação do anticorpo.

Deve-se reconhecer que os sítios de ligação com o anticorpo podem ser mais ou menos específicos, e um antissoro contém uma mistura de anticorpos mais ou menos específicos, cuja especificidade do antissoro será dada pelas concentrações relativas dos diversos anticorpos.

É de grande interesse saber o tamanho do sítio de ligação com o anticorpo. Esses grupos podem ser pequenos, como é o caso de grupos haptenos fortemente carregados, como o grupo picril e o ácido sulfanílico, que é a parte importante do determinante antigênico e o sítio de ligação não é maior que um anel benzênico. Em polissacararídeos apolares, como a dextrana, demonstra-se que o tamanho do grupo determinante varia de 3 a 6 resíduos de glicose, enquanto que no caso de proteínas, é provável que um dos sítios antigênicos tenha 8 a 12 aminoácidos.

Há evidências de que a hipersensibilidade tardia está relacionada a antígenos com determinantes volumosos. Por exemplo quando cobaias, sensibilizadas a uma determinada proteína conjugada ao radical picril, são testadas com diferentes proteínas conjugadas a este mesmo radical, a hipersensibilidade tardia se produz mais eficientemente quando a proteína é a mesma usada para a sensibilização.

A maior parte dos conhecimentos

sobre a natureza dos determinantes antigênicos foi obtida pelo estudo de haptenos artificialmente conjugados. Atualmente é possível quebrar uma proteína em pequenos fragmentos e com isto demonstrou-se a existência de determinantes antigênicos diversos em diferentes partes de uma molécula. Além disso, os fragmentos usados como antígenos provocaram a produção de anticorpos que reagiam tanto com fragmento quanto com a proteína original, e também de anticorpos que só reagiam com o fragmento em questão. Isto significa que a quebra da molécula revelou novos grupos potencialmente antigênicos que estavam mascarados e que apenas os grupos da superfície são capazes de provocar a reação imunológica.

Complexos Haptenos-proteínas como agentes sensibilizantes:

O estudo de haptenos artificialmente conjugados tem interesse prático porque no organismo, a introdução de drogas pode ocasionar a produção de tais complexos «in vivo». Por exemplo, houve o caso de operários em fábricas de explosivos que se tornaram sensibilizados aos complexos picril-proteína porque absorveram substâncias que continham o radical picril e este em conjugação com proteínas da pele desencadeou a produção de anticorpos. Várias drogas podem reagir com proteínas, tanto na forma como são administradas quanto após sofrerem transformações. Exemplo: Penicilina após ser transformada em ácido conjuga-se com proteínas plasmáticas e se torna responsável pelas

reações de sensibilização que ocorrem.

Alteração de antígenos sem afetar sua antigenicidade — Toxóides

As modificações de uma proteína pela ligação de um radical hapteno podem ser tais que produzam uma nova antigenicidade e mascarem a antigenicidade natural da proteína. O tratamento de uma proteína com formaldeído, sob certas condições, pode não alterar significativamente a antigenicidade da molécula. Quando tais proteínas apresentarem toxicidade, esta geralmente é perdida e a toxina se transforma num toxóide. Os toxóides são úteis nos processos de imunização porque conferem a mesma imunidade que a toxina, mas podem ser administrados em doses maiores. Existem outros modos de alterar as proteínas sem alterar sua antigenicidade e algumas vezes este processo parece ser espontâneo.

Antígenos de importância prática.

A estrutura química dos antígenos de bactérias, vírus, hemácias, não é totalmente conhecido.

Antígenos de grupos sanguíneos são encontrados nas superfícies de hemácias e de outras células. São encontrados antígenos na forma hidrossolúvel, em secreção (saliva, lágrima, suco gástrico) em 80% das pessoas. Estes 80% são chamados antígenos secretores. Os 20% restantes não são secretores mas apresentam um antígeno de grupo sanguíneo nas secreções. Existem também pessoas sem nenhum antígeno com especificidade de grupo sanguíneo nas secreções. Estes anti-

genos são substâncias de alto peso molecular e são constituídos por 75% de polissacarídeos e 25% de polipeptídeos. A separação das duas partes leva à perda da especificidade sorológica. O grupo determinante da especificidade é o fim da cadeia de carboidrato e retirando-se parte deste grupo terminal, a especificidade se altera.

Os antígenos heterófilos são aqueles, aparentemente, não relacionados entre si, encontrados em fluidos de animais ou microorganismos, mas que são tão relacionados imunologicamente que reagem com os anticorpos contra qualquer outro membro do grupo heterófilo a que pertencem, talvez por possuírem grupos haptênicos iguais ou semelhantes. Estes antígenos são de fontes diversas, diferentes entre si, mas reagem com os mesmos anticorpos. Como exemplo encontraremos os antígenos de Forssman, que existem em glóbulos vermelhos de várias espécies animais e algumas bactérias. Outros antígenos heterófilos estão relacionados com o grupo sanguíneo humano. Animais de uma espécie que possuem agente heterófilo de um grupo não produzem anticorpos contra antígenos heterófilos do mesmo grupo produzidos por uma outra espécie animal.

Antígenos lipopolissacarídeos são encontrados na forma de complexos na parede celular de bactérias gram-negativas. Estes antígenos são compostos de proteínas, carboidratos e lipídeos, sendo chamados também de endotoxinas. O complexo só induz a produção de anticorpos quando intacto, mas a porção responsável pela especificidade antigênica são certos a-

çúcares da porção polissacarídea. Estes açúcares são os responsáveis por reações cruzadas entre cepas que os possuem.

Muitos microorganismos, em sua forma virulenta, apresentam cápsulas de polissacarídeos de alto peso molecular, não associados a lipídeos ou proteínas. Sabe-se que sua especificidade antigênica é devida a unidades compostas de hexoses, aminoácidos, etc.

Existem várias bactérias que apresentam antígenos ligados à parede celular, parecendo ser mucopeptídeos complexos, com ou sem lipídeos. Produtos secretados pelas bactérias, como exotoxinas, enzimas de natureza proteica também são antigênicos.

O anticorpo nucleico do vírus não é antigênico no organismo infectado, podem ser formados anticorpos contra o vírus total ou parte deste, sendo que somente os primeiros tem ação protetora. A especificidade dos anticorpos contra os vírus é determinado pela proteína e talvez pelo carboidrato da capa do vírus.

IV — ANTICORPOS:

Os anticorpos são proteínas do soro que tem a capacidade de se ligar firmemente a uma molécula de antígeno em seu determinante antigênico, sendo moléculas altamente específicas.

Sabia-se que no sangue de todos os animais existiam proteínas que eram capazes de se combinarem mais ou menos especificamente, com agentes fisiologicamente ativos, inibindo-os. Podemos citar como exemplo os inibidores de enzimas proteolíticas pre-

sentes no organismo como a tripsina, plasmina, ou trombina. Estes inibidores são importantes no mecanismo homeostático do organismo, mas não são anticorpos. Diferem destes, pois já estão presentes no indivíduo normal e sua produção é pouco influenciada quando se introduz de fora os agentes que eles inibem. Foram caracterizados como sendo e globulinas.

Os anticorpos (com exceção dos naturais) são formados como resposta específica à introdução no organismo de substâncias solúveis estranhas para o indivíduo. Sua propriedade característica é de se combinar, sob condições fisiológicas, com o material estranho em resposta ao qual eles foram formados.

Em 1937, Tiselius mostrou que as proteínas plasmáticas podiam ser separadas em 4 grupos de acordo com sua mobilidade eletroforética: albumina, alfa globulina, beta globulina e gama globulina.

Mais tarde estudando soros de animais hiperimunizados contra um antígeno particular, observaram que a maior parte das proteínas plasmáticas eram anticorpos específicos, e que os anticorpos ocorriam em gama globulinas. Quando amostras de soros foram comparadas por eletroforese antes e depois do anticorpo ter sido removido por precipitação com antígeno, observou-se quais os componentes que se modificaram. Pode-se, também, comparar amostras de soro de um animal no início do processo de injeções imunizantes e em intervalos do tempo durante o processo, quando o nível de anticorpo está aumentado.

As classes de proteínas a que per-

tencem os anticorpos são todas produto de uma linhagem de células plasmáticas, e, baseando-se nas propriedades comuns e diferenças de cada uma, foram divididas em classes e sub-classes.

Muitos conhecimentos nos foram dados através de estudos de imunoglobulinas anormais (proteínas do mieloma) que são fáceis de isolar em estado puro. Esses mielomas têm sido as únicas fontes de imunoglobulinas homogêneas adequadas para análises.

Baseados nos resultados obtidos do fracionamento de soros pelo uso de imunoelctroforese, definiram a globulina como o proteína sérica com menor mobilidade anódica nas condições padronizadas de eletroforese. Verificou-se, porém que outras proteínas séricas de maior velocidade de migração também tem atividade de anticorpo e são antigenicamente semelhantes a globulinas. Com isso Hereman sugeriu que todas as proteínas que se comportam como anticorpo ou que possuem sítios de combinação com antígeno fossem agora chamadas **Imunoglobulinas**.

São agora reconhecidas 5 grandes classes com base em suas propriedades químicas, físicas e antigênicas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

Nos últimos anos muitos conhecimentos novos surgiram sobre as propriedades gerais dos anticorpos, embora ainda conheçamos, com detalhes, a que arranjos estruturais um anticorpo deve sua capacidade de se combinar com antígeno correspondente.

Estruturas das classes e dos fragmentos:

O PM das IgG é cerca de 150.000 e, em vista disto, foram feitas tentativas a fim de obter-se subunidades ou fragmentos destas moléculas e verificar se retinham a atividade de ligação específica da molécula intacta.

Em 1959, Edelman descobriu que a quebra de moléculas por redução de pontes dissulfeto (S-S) em globulina humana faz cair o seu PM para 50.000. Sugeriu, então, que as subunidades estavam ligadas por pontes S-S da molécula intacta. As IgG tem um grande número de ligações S-S (20 a 25 por molécula). Porém, o produto obtido era incapaz de se ligar a antígenos ou haptenos e era solúvel somente em soluções especiais (6M de uréia), provavelmente porque as condições da redução empregada quebraram muitas ligações S-S intracadeias além das intercadeias. O rompimento das pontas intracadeias faz com que polipeptídeos se desnaturem e fiquem insolúveis. Por cromatografia o material reduzido apresentou subunidades de PM 20.000.

Meleishman, Pain e Porter fizeram uma redução branda, que era suficiente para a quebra de 4 ou 5 ligações S-S. A subsequente exposição da molécula a ácidos orgânicos causa sua dissociação em subunidades que podem ser separadas em gel.

A redução branda de 4 grupos S-S é suficiente para a quebra de pontes covalentes entre as cadeias e o anticorpo orgânico, separa as cadeias por quebra de ligações hidrofóbicas não covalentes e por imposição de cargas

positivas na cadeia, causando a repulsão mútua.

As subunidades foram separadas por filtração em gel, e foram recuperados dois fragmentos, A e B, de peso molecular 50.000 e 25.000, sendo formados por duas cadeias leves e duas pesadas. Mais tarde chamaram o componente A de H e o B de L.

As cadeias H (heavy, pesada) e as cadeias L (light, leve) são as responsáveis, quando unidas por pontes dissulfeto (S-S) pela estrutura da molécula de imunoglobulina.

Obtenção de fragmento por enzimas:

Desde há muito sabe-se que os anticorpos podem ser cindidos por enzimas proteolíticas em fragmentos biologicamente ativos.

Em 1959, Porte mostrou que a digestão de IgG de coelho por papaína causava um decréscimo da constante de sedimentação de 7_s para 3,5_s.

Por cromatografia de troca de íons o digesto foi separado em 3 frações I, II, III. Após esta separação reconheceram que as frações I e II podem reter a especificidade de anticorpo da molécula original, porém univalentes, contendo somente um sítio de ligação do anticorpo bivalente do qual são originários. Esses fragmentos são hoje chamados coletivamente de Fab (fragmento de ligação antigênica).

O terceiro fragmento, (III) é diferente. Ele não se combina com antígenos ou haptenos e é o mesmo em todas as moléculas de IgG de coelho. Além disto, contrariando às moléculas de anticorpo intacto, este fragmen-

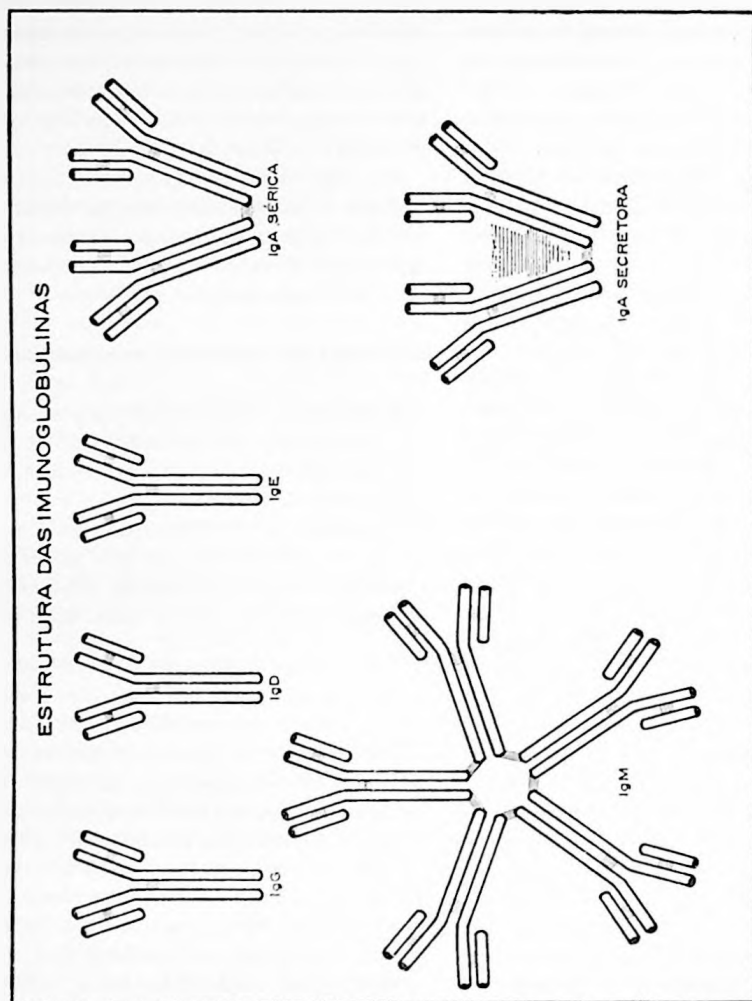


Fig. II Estrutura das imunoglobulinas, apresentando IgG, IgD e IgE como simples monômeros. Cada monômero apresenta duas cadeias leves e duas cadeias pesadas. A IgA sérica apresenta-se como um dímero, enquanto a IgA secretora é encontrada como um dímero, mas unida por peça secretória. A IgM é visualizada como um pentâmero.

to é cristalizável, daí seu nome Fc (fragmento cristalizável).

No digesto total preparado com papaína, cerca de 2/3 é Fab e 1/3 Fc e os PM são de 45.000 respectivamente. Uma molécula intacta de anticorpo é feita de dois Fab unidos a um Fc por uma ligação peptídica.

Outras proteases:

Usando pepsina, Niersonoff demonstrou que o digestão de IgG bivalente pode dar fragmentos univalentes por subsequente quebra de pontes S-S. Este fragmento é igual ao Fab na sua constante de sedimentação, e a atividade de combinação com o antígeno. Na atividade de ligação, porém, o fragmento cindido pela pepsina tem PM 10% maior que fragmento de papaína do anticorpo, e contém algumas ligações covalentes de carboidratos, por isso é chamada Fab. O fragmento bivalente é chamado de F(ab')₂. O fragmento Fc não é conseguido porque ele é quebrado em fragmentos menores.

As moléculas de anticorpo são portanto constituídas por dois domínios globulares unidos a terceiro domínio Fc por conexão de regiões que são altamente suscetíveis ao ataque de várias proteases. A quebra da ligação peptídica nas regiões de conexão produz 3 fragmentos globulares estáveis resistentes à primeira digestão proteolítica.

Várias imunoglobulinas purificadas, mieloma ou Bence Jones, tem sido usadas como antígeno para imunizar animais de outras espécies. O soro obtido, absorvido com cadeias H e L,

produziu fragmentos de imunoglobulina, que então, tornaram-se específicos para cadeias H e L da proteína usada para imunização.

O resultado mostrou que em todas as classes de imunoglobulinas, as cadeias L são muito semelhantes, enquanto as cadeias H mostraram maiores diferenças em cada classe. Entretanto, dentro das classes foram encontradas diferenças menores, porém consistentes, o que permitiu dividi-las em subclasses.

No homem existem dois tipos de proteínas de Bence Jones, semelhantes em tamanhos, mas com sequência de aminoácidos diferentes e antigênicamente diferentes.

Estas proteínas de Bence-Jones são diferentes de um indivíduo para outro, porém verificou-se que estavam compreendidas em dois grupos designados K e L. As cadeias leves que correspondem a estas duas classes de proteínas são denominadas K (kappa) e L (lamda).

Cada proteína de mieloma também tem as cadeias K ou L mas nunca as duas porém a população de imunoglobulinas normais em um dado indivíduo inclui também estas duas cadeias. Aproximadamente 60% da IgG tem duas cadeias, da mesma forma como acontece com os alotipos, entretanto existe ocorrência natural de moléculas híbridas, isto é, moléculas que contenham uma cadeia L e uma K.

Para as cadeias H de cada classe foram usadas letras gregas que as identificam como γ (IgG), α (IgA), η (IgM), δ (IgD) e ϵ (IgE).

Como a molécula possui duas cadeias H e duas cadeias L, a fórmula é

expressa da seguinte maneira: γ 2 K2 ou γ 2 s2 (IgG); α 2 K2 ou α 2 s2 (IgA).

Especificidades:

— **Especificidade isotípica** — especificidade antigênica que distingue uma classe de imunoglobulina de outra, mas que são representadas em todos os indivíduos normais de cada espécie.

Especificidade alotípica — especificidade antigênica que é diferente em diferentes grupos de indivíduos dentro da mesma espécie (InV e Gm).

Especificidade idiotípica — especificidade antigênica que é diferente em tipo simples de anticorpo feito num simples indivíduo, membro da espécie.

— **Alotípicas InV** — Associada às cadeias leves e encontradas em proteínas Bence-Jones, imunoglobulinas de todas as classes e Fab derivados destes. As alotípias in V estão confinadas às cadeias L do tipo K. Pode ser que haja um sistema no tipo, mas ainda não foi detectado. Conhece-se 3 alotípias InV: InV1, InV2, InV3. Esses alotípicos são controlados por alelos de um simples locus genético. A distinção entre InV2 e InV3 está na presença de valina ou leucina na posição 191 na parte constante da cadeia L tipo K. Não se conhece substituição especial de aminoácidos em InV1.

— **Alotípias Gm** — Associada às cadeias H somente de IgG humanas: são conhecidas cerca de 20.

Propriedades:

a) são geneticamente controladas por regiões das cadeias H de IgG.

b) algumas especificidades Gm podem ocorrer em proteínas de mieloma separadas em determinados grupos étnicos (por exemplo — Gm e Gm5 em brancos ocorre em moléculas separadas), mas podem ocorrer juntos em membros de outro grupo (na mesma molécula em negros).

c) alotípias Gm particulares são confinadas a uma sub-classe particular de IgG. Exemplo — Gm 1, 2, 3, 4 em IgG1.

Classes de imunoglobulinas:

IgG.

Ocorre em grande concentração e as células que as fabricam são encontradas em todos os lugares onde ocorre a síntese de anticorpos. Devido a sua capacidade de atravessar a placenta, é a mais importante defesa contra infecções durante as primeiras semanas de vida. Ocorre rápida troca de IgG entre o sangue e o líquido extravascular, onde a imunoglobulina realiza a neutralização de toxinas bacterianas, além de combinação com microorganismos; a fim de facilitar a fagocitose.

As moléculas de IgG tem a capacidade de fixar complemento e combinar-se aos macrófagos.

Através da análise de proteínas mielomatosas, demonstrou-se haver quatro sub-classes de IgG, denominadas G1, G2, G3 e G4. Estas diferenças dependem das cadeias pesadas, cada uma

possuindo características estruturais próprias. As sub-classes G1, G2 e G3 tem capacidade de atravessar a placenta e fixar complemento, enquanto a G4 apenas atravessa a placenta, não fixando complemento, nem ligando-se aos macrófagos.

IgA.

São semelhantes estruturalmente à IgG, estando no soro sob forma de monômero 7s. Não formam precipitados com os antígenos multivalentes, como ocorre com as IgG, apesar de possuírem dois sítios de combinação em cada molécula. Isto é explicado devido à união das cadeias pesadas pelas ligações S-S, que provoca o dobramento dos sítios de combinação tão juntos, impedindo fixação.

A IgA aparece em secreções como a lágrima, saliva, colostro, fluidos nasais, secreção da parótida, secreção do trato gastro intestinal. Nestes fluidos a IgA aparece como um dímero ligado a um componente secretor sintetizado por células epiteliais.

A IgA não tem capacidade de fixar complemento, o que não apresenta desvantagens, uma vez que, a concentração de complemento nas secreções externas é muito pequena.

IgM.

Possui um alto peso molecular, tendo 10 sítios de combinação onde somente 5 são efetivos. Mesmo que cada sítio de combinação não seja sozinho, ávido suficientemente, a ação conjunta dos múltiplos sítios aumenta a sua capacidade de ligação.

Aparecem precocemente em resposta a uma infecção, estando em grande quantidade na corrente sanguínea, atuando contra antígenos bacterianos e celulares. Não atravessa a placenta, parecem preceder à IgG na filogenia da resposta imune nos vertebrados e está presente em pequenas proporções no leite e outras secreções.

Quando uma simples IgM se fixa na superfície de um antígeno (ex: glóbulo vermelho) pode ativar o complemento e lisar a célula, enquanto que a IgG para ter o mesmo efeito, precisa de duas moléculas interligadas.

IgE.

Pequenas concentrações de IgE são encontradas no soro. Estes anticorpos são os responsáveis pelas reações de hipersensibilidade imediata (anafilática) em várias espécies. Os anticorpos IgE permanecem fixados quando injetados na pele humana, fixados aos mastócitos. O contato com o antígeno leva a degranulação dos mastócitos e a liberação de aminas vasoativas. Estas imunoglobulinas apresentam-se em concentrações elevadas em pacientes com parasitose intestinal. São lábeis ao calor e não fixam complemento.

IgD.

Estas imunoglobulinas foram estudadas em formas raras de mieloma. Sua presença foi confirmada em baixas concentrações no plasma de pessoas normais. Pouco se sabe sobre suas propriedades biológicas e a atividade de anticorpo específico.

V — Complemento:

O termo complemento define a existência de um sistema complexo, que permite um determinado grupo de anticorpos desenvolver suas ações biológicas.

Durante as últimas décadas tornou-se evidente que o complemento era um termo designativo de um grupo de 11 proteínas séricas. Estas proteínas não são imunoglobulinas e a imunização não aumenta as suas concentrações.

De acordo com a nomenclatura recomendada, o complemento é designado pelo símbolo C e os componentes por este símbolo, seguido do número correspondente (ex: C1, C4, C2, etc.). Os componentes ativados são designados com um traço horizontal sobre os algarismos do respectivo símbolo (C1ⁱ). A letra i no final do símbolo serve para designar o componente inativo (C4i). Os produtos resultantes da clivagem das ligações peptídicas são representados pelas fórmulas gerais Ca Cb, como exemplo, C3a e C3b.

Sob o ponto de vista químico, o complemento desenvolve suas funções através da interação entre seus componentes (todos de natureza proteica) responsáveis pela formação de complexos macromoleculares dotados de atividades enzimáticas.

A atividade imunitária do complemento manifesta-se particularmente ao nível das membranas. Podemos distinguir 3 tipos principais de interação membrana-complemento:

a) Lesão da membrana: processo que exige a participação de todos os componentes do complemento. Muitos tipos de membrana podem ser lesados

«in vitro» e também «in vitro», como membranas bacterianas, membranas basais dos vasos sanguíneos, etc.

b) Modificações na superfície da membrana em consequência de alguns componentes do complemento, como os quatro primeiros, em especial do C3, induzindo imunoaderência e opsonização.

c) Alteração da funcionalidade da membrana celular, devido a uma ativação não citotóxica da membrana. Um efeito deste tipo pode ser induzido pela anafilatoxina (derivado do C3 ou C5) que provoca a liberação de histamina pelos mastócitos sem provocar a destruição das células.

Em primeiro lugar trataremos da configuração dos componentes do complemento, seu mecanismo de ação na reação de imuno-hemólise, sua consequência nas reações imunocitotóxicas e finalmente a atividade biológica e suas consequências dentro das patologias.

Componentes do complemento:

O C1 é um elemento macromolecular com coeficiente de sedimentação 18s. constituído de tres sub-unidades de natureza proteica, denominadas C1r e C1s; As estruturas do C1 são estabilizadas pelo ions Ca⁺⁺.

O C1q contém o local onde o C1 se combina com o complexo antígeno-anticorpo. O C1s encontra-se no componente C1 sob forma de pró-esterase e é ativado quando C1q reage com os anticorpos. O C1r é uma protease e converte o C1s em C1 esterase. A presença destas tres sub-unidades é

necessária para que o C1 desenvolva a sua atividade biológica própria.

O C1q na ausência de Ca^{++} pode precipitar complexos antígeno-anticorpo solúveis ou agregados solúveis de imunoglobulinas. O C1q reage de forma extremamente específica com monômeros inativos da IgG na razão de uma molécula de C1q para 4 moléculas de IgG; reage «in vitro» com as IgG das sub-classes IgG1, IgG2, IgG3, mas reage fracamente com as da sub-classe IgG4. O C1q reage também com as IgM, mas não com as IgA. Sendo capaz de se combinar com o anticorpo, o C1q representa a ligação funcional entre o anticorpo e o sistema do complemento.

O componente C4 foi isolado e identificado como uma globulina beta 1 E. A atividade do C4 é abolida pela hidrazina que também modifica o seu comportamento eletroforético.

O componente C2 foi purificado, sendo uma globulina beta que possui cadeias SS, responsáveis pela sua reatividade.

O componente C3 é chamado de globulina beta 1C em relação ao tipo de migração eletroforética. A análise imunológica da globulina beta 1C revela a existência de três determinantes antigênicos distintos, sendo identificados cinco formas alélicas diferentes. Os diferentes alelos apresentam a mesma atividade hemolítica.

O componente C5 foi purificado e chamado globulina beta 1F. Quando forem tratados os fenômenos anafiláticos e quimiotáticos veremos que o C5 de coelho pode ser subdividido em dois fragmentos com diferentes coefi-

cientes de sedimentação. O C6 e C7 foram recentemente identificados e suas propriedades moleculares ainda estão bem estruturadas.

Os dois últimos fatores da chamada «cascata do complemento» (C8 e C9), embora tenham sido descobertos mais recentemente, suas propriedades ainda estão obscuras, sabendo-se, no entanto, serem responsáveis pela imuno-hemólise.

Mecanismo de ação do complemento:

O papel dos anticorpos é o de combinarem com os determinantes antigênicos específicos e de permitirem a fixação do componente C1 através da sub-unidade C1q. Os anticorpos pertencentes às classes IgG e IgM fixam o componente C1 e provocam a imuno-hemólise, enquanto anticorpos pertencentes às outras classes de imunoglobulinas não tem este efeito.

O local específico de combinação do anticorpo com o complemento foi inicialmente localizado no fragmento Fc das imunoglobulinas. Alguns autores, por outro lado, mencionam um segundo lugar na porção Fab do anticorpo. Além do C1, também os componentes C3 e C4 podem se combinar com a IgG; o C4 ligar-se-ia, preferencialmente, à porção Fab do anticorpo.

Sequência das reações de imuno-hemólise:

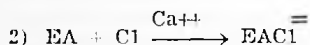
A sequência de reações dos componentes do complemento como foi estabelecido para a imuno-hemólise é também válida para a lise de outras células animais, bactérias, etc.

A hemólise dos eritrócitos de carneiro (E), produzida por anticorpos, anti-hemácias de carneiro (A) e complemento humano ou de cobaia (C) processa-se da seguinte maneira:



Na primeira etapa há união entre os anticorpos e antígenos localizados na superfície das hemácias. Há evidências de que a união de uma molécula de IgM ou duas de IgG localizadas próximas uma da outra na superfície, é necessário para sensibilizar a célula, tornando-a apta para a ativação do complemento.

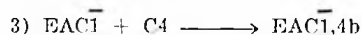
O processo inicial de ativação parece depender de pelo menos um par de cadeias pesadas, próximas uma da outra, para que haja exposição de sítios na porção Fc, responsável pela agregação com C1q. Os fragmentos F(ab)2 obtidos pela cisão de IgG com pepsina formam complexos com os antígenos correspondentes que não ativam C. Este argumento parece decisivo para a localização dos sítios de combinação de C1q na parte das cadeias pesadas que formam o fragmento Fc.



A reação completa entre o complemento e as hemácias exige Ca^{++} e Mg^{++} , sendo a velocidade de reação muito maior a 37°C do que a 0°C. Estas observações sugeriram que, pelo menos algumas das proteínas do complemento são enzimas e em

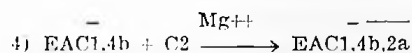
condições normais encontram-se no soro sob forma de proenzimas.

O C1 consiste de tres proteínas, cuja associação em um complexo macromolecular depende do Ca^{++} . A retirada do Ca^{++} por um agente quelante faz com que o complexo se dissocie em tres elementos: C1q, C1r e C1s. Somente o complexo C1 e não as sub-unidades separados, pode ser ativado pelo complexo EA para formar C1a, o que explica a necessidade de Ca^{++} na imunohemólise.



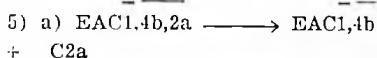
Em seguida à formação de EAC1, a etapa posterior envolve a reação com C4 para formar complexo intermediário EAC1.4b. A formação deste complexo só ocorre quando C1 estiver presente à superfície da hemácia sensibilizada em sua forma ativa. Uma inibição do C1 impede a formação do

complexo EAC1.4b. Após formado este complexo, o C1 pode ser retirado por meio de EDTA, sem afetar a atividade de C4. Isto indica que C4 não se liga a C1, mas sim a receptores localizados na membrana das hemácias ou na molécula do anticorpo, através de ligações covalentes.



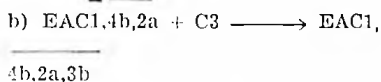
Esta reação realiza-se em duas etapas. Primeiro, uma reação que exige

Mg⁺⁺, o C2 se liga reversivelmente ao complexo EAC1,4b. Na segunda fase, que depende da temperatura, a C1 esterase cinde o C2 adsorvido, dando um fragmento ativo e outro inativo; o primeiro C2 liga-se à molécula de C4 enquanto o C2i passa para a fase líquida.

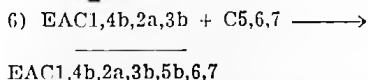


O complexo EAC1,4b,2a sofre duas reações competitivas. Na primeira ocorre a perda, pelo complexo, de C2,

decaindo para EAC1,4. Esta reação é responsável pela instabilidade acentuada do complexo EAC1,4b,2a à temperatura elevada.

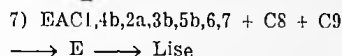


Nesta outra reação, que é necessária para produzir hemólise, acredita-se que o complexo EAC1,4b,2a ativa C3, que em seguida se liga ao complexo. Para esta fase já não é necessário a presença de C1, visto que o complexo EAC4b,2a atua com igual eficiência, ativando e ligando C3. Segundo esta hipótese, se a molécula de C3b se fixar rapidamente à membrana celular, perde a atividade, transformando-se na forma hemoliticamente inativa C3bi.



Estudos mostraram que C5 forma complexos dissociáveis com C6 e com C7, realizados com componentes purificados. Todos os tres componentes são necessários para uma etapa que converte EAC1,4b2a,3b de forma termo-lável à forma termoestável.

Os tratamentos dos complexos EAC1,4b,2a,3b,5b,6,7 com anticorpos anti-C5 inibe a combinação de C8 com a membrana celular sugerindo que C6 e C7 criam sítios de combinação em C5, responsáveis pela ativação de C8.



Nesta reação, C8 é ligado à membrana celular e por ação de C9 é ativado para C8, que induz a lesão na membrana da hemácia. As células contendo C8, ligado à membrana são lisadas muito lentamente na ausência de C9. Em seguida à reação de C8 e C9, o eritrócito (E) será lisado e é liberada a hemoglobina.

Outras reações do complemento:

a) Reação bactericida:

Bactérias gram-negativas revestidas com anticorpos específicos são lisadas pelo complemento, aparentemente como ocorre na lise de eritrócitos. Entretanto bactérias gram-positivas e micobactérias não são suscetíveis à ação do complemento.

b) Imuno-aderência:

Refere-se à aderência dos complexos antígeno-anticorpo-complemento à superfície de determinadas partículas não sensibilizadas, como as plaquetas. Complexos aderentes também aumen-

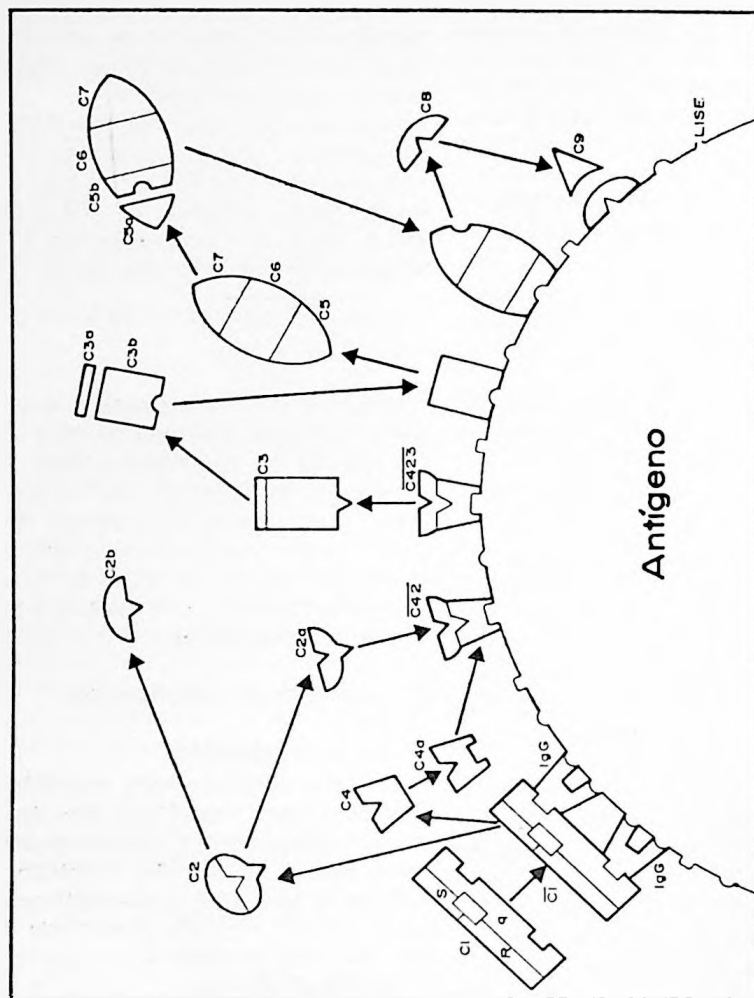


Fig. III Esquema mostrando a reação sequencial dos componentes do complemento na reação de imuno-hemólise.

tam a susceptibilidade das bactérias e vírus à fagocitose «in vitro».

O estudo dos componentes do complemento, necessários para ocorrer a reação, demonstrou que o componente necessário e responsável por esta propriedade é o C3. Foi observado na imuno-hemólise, por exemplo, que os eritrócitos no estado de complexo EAC1.4b,3b, EAC1.4b,2a,3b e EAC4b,3b, apresentam o mesmo grau de reatividade. Portanto a imuno-aderência requer apenas os primeiros quatro componentes do complemento.

c) Fatores quimiotáticos:

Os complexos antígenos-anticorpo só poderão atrair leucócitos polimorfonucleares, «in vitro», depois de que certos componentes do complemento estiverem ligados. Se um soro, previamente tratado com complexo imunológico, for fracionado (eletroforese), é possível isolar o fator quimiotático e identificá-lo como sendo um complexo trimolecular, constituído pelos componentes C5,6,7 do complemento.

Para ocorrer a migração dos polimorfonucleares é necessário que o complexo antígeno-anticorpo tenha reagido com os sete primeiros componentes do complemento, mas não com aqueles que fixam somente as quatro primeiras frações. Os dois últimos componentes do sistema (C8 e C9) não intervêm na formação de fator quimiotático.

A atividade leucotática dos complexos imunes é de importância especial em reações vasculares do tipo alérgico (reação de Arthus).

d) Formação da anafilatoxina:

A reação de C3 e C5 com o complexo ativado C4b,2a, resulta no aparecimento de substância que pode causar a liberação de histamina dos mastócitos e manifestações de vaso dilatação. A anafilatoxina, substância derivada do complemento, parecendo ser um fragmento polipeptídico resultante da destruição de C3 e C5, induz a liberação de histamina e agirá na contração da musculatura lisa e permeabilidade vascular.

e) Imuno-conglutinação:

A imunoconglutinação é um anticorpo dirigido contra o complemento fixado. É um anticorpo sintetizado no decurso de alguma doença de natureza infecciosa. O anticorpo é dirigido contra determinantes antigênicos mascarados nos componentes do complemento que estão inativos e que se tornaram acessíveis após a fixação dos componentes num complexo antígeno-anticorpo.

As imunoconglutíninas pertencem invariavelmente à classes IgM e são dirigidas especificamente contra C3 fixado ou C4 fixado. O seu nível aumenta em doenças reumáticas e algumas doenças autoimunes como o lupus eritematoso disseminado e a tireoidite de Hashimoto.

Complemento na patologia:

O complemento não representa apenas um sistema citolítico e citotóxico, mas constitui um importante elemento efector da reação inflamatória. Esta

arefa é realizada através da imunofagocitose, da formação da anafilatoxina e dos fatores quimiotáticos. Quando o sistema do complemento é ativado por um complexo antígeno-anticorpo, tem início uma cadeia de reações enzimáticas que podem causar a lesão celular.

O complemento, mesmo sendo um importante sistema defensivo para o organismo, pode, em algumas circunstâncias, induzir a manifestações tipicamente patológicas.

Em algumas doenças, o papel do sistema complemento já foi estabelecido, ao passo que na patogênese de outras doenças sua função ainda é desconhecida.

a) Anemias hemolíticas:

— Anemias hemolíticas por aglutininas «frias».

As aglutininas «frias» que se encontram nas anemias hemolíticas crônicas são as IgM, que possuem cadeias do tipo K. Estas aglutininas «frias» fixam os componentes C2 e C4 a uma temperatura de 4°C. Na anemia hemolítica crônica, induzida por aglutininas «frias», a taxa de complemento está diminuída, a transfusão de quantidade de eritrócitos normais provoca uma diminuição no nível do complemento sérico, que, nestes doentes, já é reduzido.

— Anemia hemolítica de origem medicamentosa —

Neste caso o medicamento atua como hapteno, sendo que o anticorpo correspondente e o complemento apresentam-se fixados de forma específica aos eritrócitos, que podem ser lisados.

b) Doenças do colágeno.

— Poliartrite reumatóide:

O nível sérico do complemento total é normal ou aumentado. No líquido sinovial, o nível do complemento é fortemente diminuído em relação aos pacientes portadores de doenças osteoarticulares. Esta diminuição diz respeito às frações C2 e C4 enquanto que o complexo C3 encontra-se aumentado. O nível do complemento no líquido sinovial é independente do título do fator reumatóide no soro e está diminuído também na poliartrite reumatóide «soro negativa».

Estudos feitos visando avaliar a influência do fator reumatóide no nível do complemento sérico, demonstraram que o fator reumatóide impede a diminuição da taxa do complemento sérico, confirmando o papel protetor exercido pelo fator reumatóide e explicando a razão pela qual a taxa do complemento não está diminuída na poliartrite reumatóide.

— Lupus eritematoso disseminado:

Durante a fase evolutiva do lupus eritematoso disseminado, a taxa de complemento diminuiu. As concentrações de C1, C4 e C2 se encontram muito reduzidas ao passo que a diminuição de C3 é menor.

Existem provas da existência de complexos imunológicos circulantes, constituídos de DNA e de anticorpos anti-DNA. Como estes complexos tem a capacidade de fixar complemento «in vitro», sua presença «in vivo» explicaria a diminuição do complemento sérico observado nestas pessoas.

No glomérulo renal foram também identificados anticorpos antinucleares, alguns dos quais fixam complemento

«in vitro». Este dado permite supor que as imunoglobulinas, depositadas no glomérulo renal sejam anticorpos específicos. A presença de antígeno e de complemento sugere que este sistema imunológico, que fixa complemento, possa contribuir para a diminuição da taxa sérica do complemento e desenvolver papel patológico no lúpus eritematoso disseminado.

c) **Neuropatias:**

Na glomerulonefrite proliferativa, a taxa do complemento e seus componentes varia em função da fase evolutiva e da extensão das lesões histológicas. Na fase aguda da glomerulonefrite, as taxas de C2 e C3 estão diminuídas, ao passo que os componentes C1 e C4 estão em níveis normais.

As glomerulonefrites crônicas podem subdividir-se em duas classes: — primeira onde os níveis do complemento são normais e a segunda onde os níveis estão diminuídos. Neste último caso as variações nos diversos componentes são análogas às do glomerulonefrites aguda.

Na síndrome nefrótica idiopática, os componentes C2 e C4 revelam-se diminuídos, enquanto C3 aparece normal. Nas formas nefróticas secundárias, os níveis de complemento são normais.

Nas nefropatias hereditárias, a taxa do complemento é normal, o que permite diferenciá-los da glomerulonefrite infecciosa.

A hipótese mais provável da diminuição da taxa de complemento em nefropatia parece ser a de que o complemento se fixa num complexo imu-

nológico circulante ou tissular e, devido a capacidade do glomérulo fixar «in vivo» os componentes do complemento, ficar aderido.

d) **Afeições malignas:**

A taxa de C2 mostra-se pouco aumentada nos diversos tipos de câncer. Os níveis de C4 apresentam-se claramente diminuídas em alguns casos de leucemia mielóide crônica.

e) **Outras doenças:**

— Doenças hepáticas:

A fração C4 do complemento mostra-se diminuída em casos de hepatite aguda, hepatite crônica e cirrose hepática. Estas diminuições das taxas do complemento no fígado vem demonstrar o papel deste órgão na síntese de alguns componentes deste sistema.

— Agamaglobulinemia:

Nos pacientes com agamaglobulinemia, os níveis de C1 é inferior ao normal, ao passo que as frações C2, C4 e C3 estão normais ou levemente aumentadas.

SUMMARY

A brief review on the bases of Immunology and the aspects of the response of an economy against the invasion of bacteria, virus and other pathologic complexes.

The lympho-reticular system is studied, emphasizing the role of B lymphocytes, that form antibodies, and T lymphocytes, responsible for the cellular immunity, their determinations «in vitro» and «in vivo» responses.

Many kinds of antigens were listed according to the manner of action and potenciality, direct responsables for the humoral and cellular response.

In the humoral aspect, the antibodies were presented in different species, dependent of their specific struc-

tures and functions of response against the immunogen.

The complex system of what is formed the complement was briefly studied, showing its normal way of action and consequent effect on «in vitro» and «in vivo» reactions.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. BECKER, E. L. — Concerning the mechanism of complement action. V. The early steps in immune hemolysis. *Journal of immunology*, 84:299-308, Mar. 1960.
2. BIANCO, C.; NUSSENZWEIG, V.; PATICK, R. — A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes. *Journal of Experimental Medicine*, 132(4):702-20, Oct. 1970.
3. BIER, O. G. et alii. — *Imunologia básica e aplicada*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973.
4. BOYD, W. C. — *Fundamentos de Immunología*. Buenos Aires, Editorial Universitária de Buenos Aires, 1970.
5. COHEN, S. & MILSTEIN, C. — Structure and biological properties of immunoglobulins. *Advances in immunology*, 7:1-89, 1967.
6. DAVIS, B. D. et alii. — *Imunologia*. 2. ed. São Paulo, Edart, 1973.
7. DUKOR, P.; BIANCO, C.; NUSSENZWEIG, V. — Bone-marrow origin of complement-receptor lymphocytes. *European Journal of Immunology*, 1:491-4, Dec. 1971.
8. DUMONDE, D. C. — Tissue-specific antigens. *Advances in Immunology*, 5:245-412, 1966.
9. EDELMAN, G. M. — Antibody structure and molecular immunology. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 190:5-25, Dec. 1971.
10. EDELMAN, G. M. & GALLY, J. A. — The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal Y-globulins. *Journal of Experimental Medicine*, 116(2):207-27, Aug. 1962.
11. EDELMAN, G. M. & POULIK, M. D. — Studies on structural units of the Y-globulin. *Journal of Experimental Medicine*, 113(5):861-84., May. 1961.
12. FLEISCHMAN, J. B. — Immunoglobulins. *Annual Review of Biochemistry*, 35:835-72, 1966.
13. GITLIN, D. — Current aspects of the structure, function, and genetics of the immunoglobulins. *Annual Review of Medicine*, 17:1-22, 1966.

14. GOOD, R. A. & FISHER, D. W. — *Immunobiology*. Stamford, Sinauer, 1973.
15. GOWANS, J. L. & MCGREGOR, D. D. — Immunological activities of lymphocytes. *Progress in Allergy*, 9:1-78, 1965.
16. JONDAL, M.; HOLM, G.; WIGZELL, H. Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red blood cells. *Journal of Experimental Medicine*, 136(2):207-15, Aug. 1972.
17. KARUSH, F. — Immunologic specificity and molecular structure. *Advances in Immunology*, 2:1-40, 1962.
18. LAY, W. H. et alii. — Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. *Nature*, 230:531-2, Apr. 1971.
19. MENDES, N. F. et alii. — Technical aspects of rosette tests used to detect human complement receptor (B) and sheep erythrocytes-binding (T) lymphocytes. *Journal of Immunology*, 111:860-7, Sept. 1973.
20. METZGER, H. & MANNIK, M. — Recombination of antibody polypeptide chains in the presence of antigen. *Journal of Experimental Medicine*, 120(5):765-82, Nov. 1964.
21. MIESCHER, P. A. & MULLER-EBERHARD, H. J. — *Tratado de Imunopatologia*. Barcelona. Cientifico-Medica, 1971.
22. MORSE, J. H. & CHRISTIAN, C. L. — Immunological studies of the 11 S protein component of the human complement system. *Journal of Experimental Medicine*, 119(2):195-209, Feb. 1964.
23. MULLER-EBERHARD, H. J. — Chemistry and reaction mechanisms of complement. *Advances in Immunology*, 8:1-80, 1968.
24. NASPITZ, C. K. & RICHTER, M. — The action of Phytohemagglutinin «in vivo» and «in vitro»; a Review. *Progress in Allergy*, 12:1-85, 1968.
25. NOSSAL, G. J. V.; ADA, G. L.; AUSTIN, C. M. — Antigens in immunity. The antigen content of single antibody-forming cells. *Journal of Experimental Medicine*, 121(6):945-54, 1965.
26. PARK, B. H. & GOOD, R. A. — *Principles of modern immunobiology*. Philadelphia, Lea&Febinger, 1974.
27. PARROT, D. M. V.; SOUZA, M. A.; EAST, J. — Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice. *Journal of Experimental Medicine*, 123(1):191-204, Jan. 1966.
28. PINK, R. L. WANG, A.; FUNDENBERG, H. H. — Antibody variability. *Annual Review of Medicine*, 22:145-70, 1971.
29. ROBBINS, J. M. — Tissue culture studies of the human lymphocyte. *Science*, 146:1648-54, Dec. 1964.
30. ROITT, I. M. et alii. — The cellular basis of immunological responses. *Lancet*, 2(7616):367-71, Aug. 1969.
31. ROITT, I. M. — *Imunologia*. Rio de Janeiro, Atheneu, 1973.

32. SELA, M. — Antigenicity: some molecular aspects. *Science*, **166**:1365-74, Dec. 1969.
33. SELA, M. Immunological studies with synthetic polypeptides. *Advances in Immunology*, **5**:29-129, 1966.
34. SILVA, W. D. da & LEPOW, I. H. — Complement as a mediator of inflammation. II. Biological properties of anaphylatoxin prepared with purified components of human complement. *Journal of Experimental Medicine*, **125**(5):921-46, May 1967.
35. SILVEIRA, N. P. A.; MENDES, N. F.; TOLNAI, M. E. A. — Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinguished by membrane receptors. *Journal of Immunology*, **108**(5):1456-60, May 1972.
36. STUTMAN, O. & GOOD, R. A. — Heterogeneity of lymphocyte population. *Revue Européenne d'Études Cliniques et Biologiques*, **17**(1):11-4, Jan. 1972.
37. TITANI, K. et alii. — Immunoglobulin structure: partial amino acid sequence of a Bence Jones protein. *Science*, **149**:1090-2, Sept. 1965.
38. TURK, J. L. — *Imunologia em clínica médica*. São Paulo, Manole, 1973.
39. WEIR, D. M. — *Handbook of experimental immunology*. 2. ed. Oxford, Blackwell, 1973.
40. WEISER, R. S.; MYRVIK, O. N.; PEARSALL, N. N. — *Immunologia*. México, Interamericana, 1970.
41. WHITTINGHAM, A. & MACKAI, I. R. — Rosette formation by human erythrocytes. *Cellular Immunology*, **6**:362-8, 1973.
42. WYBRAN, J.; CHANTLER, S.; FUDENBERG, H. H. — Human blood T cells: responses to Phytohemagglutinin. *Journal of Immunology*, **110**(4):1157-60, Apr. 1973.