



Fisiopatologia e Farmacoterapia das Doenças Infecciosas, Imunes e Virais

Fisiopatologia e Farmacoterapia das Doenças Infecciosas, Imunes e Virais

Patrícia da Silva Melo

© 2018 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente

Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação e de Educação Básica

Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico

Ana Lucia Jankovic Barduchi

Camila Cardoso Rotella

Danielly Nunes Andrade Noé

Grasiele Aparecida Lourenço

Isabel Cristina Chagas Barbin

Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisão Técnica

Priscila Perez Domingos

Editorial

Camila Cardoso Rotella (Diretora)

Lidiane Cristina Vivaldini Olo (Gerente)

Elmir Carvalho da Silva (Coordenador)

Leticia Bento Pieroni (Coordenadora)

Renata Jéssica Galdino (Coordenadora)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Melo, Patricia da Silva
M528f Fisiopatologia e farmacoterapia das doenças infecciosas,
imunes e virais / Patricia da Silva Melo. – Londrina : Editora e
Distribuidora Educacional S.A., 2018.
224 p.

ISBN 978-85-522-1122-8

1. Fisiopatologia. 2. Farmacoterapia. 3. Sistema
Imunológico. I. Melo, Patricia da Silva. II. Título.

CDD 616

Thamiris Mantovani CRB-8/9491

2018

Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza
CEP: 86041-100 – Londrina – PR
e-mail: editora.educacional@kroton.com.br
Homepage: <http://www.kroton.com.br/>

Sumário

Unidade 1 Estrutura, funções e distúrbios do sistema imunológico	7
Seção 1.1 - Bases celulares e moleculares da imunologia: conceitos básicos	10
Seção 1.2 - Tolerância imunológica e imunologia tumoral e dos transplantes	27
Seção 1.3 - Fisiopatologia e farmacoterapia das principais doenças autoimunes	45
Unidade 2 Imunidade, sorologia e diagnóstico laboratorial	61
Seção 2.1 - Conceitos de imunidade e introdução à sorologia	63
Seção 2.2 - Técnicas de laboratório comumente utilizadas em imunologia	76
Seção 2.3 - Diagnóstico laboratorial em imunologia	94
Unidade 3 Mecanismos imunopatológicos das hipersensibilidades e fisiopatológicos das imunodeficiências e aspectos farmacológicos dos imunomoduladores	111
Seção 3.1 - Imunodeficiências primária e secundária	113
Seção 3.2 - Hipersensibilidade	131
Seção 3.3 - Farmacologia aplicada ao sistema imune	148
Unidade 4 Virologia	169
Seção 4.1 - Vírus, infecções, resposta imunológica e farmacoterapia	171
Seção 4.2 - Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial de viroses I	188
Seção 4.3 - Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial de viroses II	205

Palavras do autor

Caros alunos, iniciaremos agora o estudo de *Fisiopatologia e Farmacoterapia das Doenças Infecciosas, Imunes e Virais*. Preparamos para essa disciplina conteúdos nos quais você poderá relembrar importantes temas vistos durante o curso, e mostraremos alguns pontos que são abordados em concursos nas áreas de atuação do farmacêutico, sejam eles públicos ou particulares, assim como no Exame Nacional de Desempenho de Estudantes (ENADE). É uma forma também de testar seus conhecimentos para o exercício da profissão de farmacêutico (a).

Você deverá assimilar os conteúdos que serão abordados para adquirir as competências de conhecer o sistema imunológico, os mecanismos de defesa do organismo diante dos principais agentes etiológicos (bactérias, vírus e fungos), as doenças autoimunes e os métodos de diagnóstico, assim como conhecer os mecanismos de ação de fármacos e medicamentos utilizados no tratamento das principais doenças infectocontagiosas e autoimunes. Você deverá aplicar todo esse conhecimento em concursos, na sua vida estudantil e quando ingressar no mercado de trabalho; nesta trajetória é essencial que você leia o livro didático, acesse os links de pesquisa e sempre busque além do conteúdo apresentado.

No decorrer da primeira unidade, estudaremos como é a organização e funcionamento do sistema imunológico e as doenças autoimunes. Na segunda unidade, iremos aprender e relembrar aspectos ligados à imunidade, sorologia e diagnóstico laboratorial. Já na terceira unidade, abordaremos os mecanismos imunopatológicos das hipersensibilidades e fisiopatológico das imunodeficiências e os aspectos farmacológicos dos imunomoduladores. E, por fim, na quarta unidade, relembremos conceitos de virologia, ressaltando os aspectos ligados às infecções viróticas, como se dão as respostas imunológicas e a farmacoterapia adequada.

Se atente que o foco desse livro didático não é apenas mostrar conteúdos novos e sim retomar conteúdos já estudados e aplicá-los, assim como interligar disciplinas e conteúdos diversos, aprendidos na imunologia, farmacologia e patologia.

Ao final deste livro didático, você será capaz de compreender e aplicar conceitos importantes da atuação do farmacêutico em processos infecciosos e virais.

Estrutura, funções e distúrbios do sistema imunológico

Convite ao estudo

Caro aluno, neste momento, você inicia o estudo de *Fisiopatologia e Farmacoterapia das Doenças Infecciosas, Imunes e Virais*, nesta unidade de ensino veremos alguns pontos importantes para atuação em laboratório clínico, assim como a vivência do mundo farmacêutico.

Ao final da disciplina você irá conhecer o sistema imunológico, os mecanismos de defesa do organismo diante dos principais agentes etiológicos (bactérias, vírus e fungos), as doenças autoimunes e os métodos de diagnóstico. Conhecerá também os mecanismos de ação de fármacos e os medicamentos utilizados no tratamento das principais doenças infectocontagiosas e autoimunes. Você poderá aplicar todo esse conhecimento adquirido em concursos e na sua atuação como farmacêutico.

Para compreendermos o assunto e atingirmos as competências da disciplina, segue uma situação hipotética para que você se aproxime dos conteúdos teóricos juntamente com a prática.

Em uma cidade do interior do estado de São Paulo existe um hospital universitário que por sua essência atua como uma instituição de ensino e pesquisa. O foco desse hospital é oferecer à comunidade o que há de melhor e mais moderno nos serviços relativos à farmacoterapia das doenças infecciosas, imunes e virais! O objetivo também é a formação de profissionais, auxiliando na construção do conhecimento e da prática clínico-laboratorial, propondo ações de prevenção e promoção de

saúde, investigação de processos cancerígenos, infecciosos e virais, controle e avaliação de doenças autoimunes, dentre outras atividades. Tendo em vista essas funções diversificadas, o hospital é referência nacional no diagnóstico e tratamento das doenças decorrentes de processos infecciosos e virais. Na área de pesquisa, o hospital universitário tem colaboração com diversos grupos nacionais e internacionais, usando culturas celulares, modelos animais de doença, assim como recursos tecnológicos sofisticados, incluindo a utilização de radiomarcadores, a identificação de metabólitos por técnicas de ELISA, HPLC e espectrometria de massa, diversas técnicas de biologia molecular, assim como técnicas de diagnóstico imunológico laboratorial. Na área de imunologia, os pesquisadores do departamento dedicam-se majoritariamente na investigação de proteínas imunomoduladoras de origem microbiana como fatores de virulência e a aplicação desses fatores como substâncias antigênicas vacinais ou na prevenção/terapia da autoimunidade. O atendimento é realizado de maneira multidisciplinar, todos os setores auxiliando na recuperação dos pacientes muitas vezes vivendo uma das fases mais difíceis em suas vidas. Do ponto de vista de ensino e pesquisa, o hospital baseia-se no aprendizado multidisciplinar e integrado, garantindo uma visão crítica e abrangente das doenças e a relação com o paciente. Helen Aparecida é uma estudante de farmácia que iniciará um estágio no Laboratório de Imunofarmacologia e está ansiosa por essa oportunidade de aprendizagem. Na primeira reunião com a equipe de pesquisadores e profissionais da área de saúde ela foi orientada a realizar um trabalho humanizado junto aos pacientes e acompanhantes atendidos pelo hospital! Um aspecto humanizado no atendimento aos pacientes é recomendado do ponto de vista ético e de qualidade de vida para os pacientes, assim como para os acompanhantes. Helen Aparecida, durante as atividades de estágio, deverá acompanhar de perto o que acontece com a rotina laboratorial de diagnóstico de doenças infecciosas, imunes e virais. Nesse mesmo dia, deu entrada no Hospital a Sra. Maria do Carmo Pereira, casada, 42 anos, mãe de três filhos, residente na área rural, e seria a primeira vez, em

muitos anos, que a família faria uma consulta médica. Ela estava acompanhando o seu marido Joaquim Maria Pereira, 45 anos de idade com queixa de cansaço extremo, e pensava que poderia ser porque estava acordando várias vezes durante a noite para urinar. A dona Maria também reclamava de cansaço por acordar para amamentar o caçula da família. O pequeno José Felipe tem apenas três meses e a Sra. Maria do Carmo está pensando em desmamá-lo. No decorrer desta unidade de ensino, iremos trabalhar com situações que podem ocorrer em um laboratório de imunofarmacologia, e que interferem no resultado final da análise clínico-laboratorial e, vamos juntos buscar soluções e práticas adequadas!

Caro aluno, você já pensou que poderá ter que passar por provas para iniciar um estágio, um trabalho ou um concurso? As provas são uma forma de avaliar o conhecimento dos candidatos para selecionar o que em tese possui maior conhecimento. Dessa forma, é importante retomar alguns conceitos e aplicá-los para de forma indireta treinar para essas situações.

Seção 1.1

Bases celulares e moleculares da imunologia: conceitos básicos

Diálogo aberto

Caros alunos,

Neste contexto de aprendizagem para esta unidade, conhecemos Helen Aparecida e a abrangência do laboratório no qual ela irá realizar seu estágio. Vamos agora continuar acompanhando a rotina do laboratório de imunofarmacologia e a relação de cooperação com o hospital universitário. Helen Aparecida ingressou recentemente para realizar o estágio no laboratório do hospital. Estava ansiosa por aprender e como é de praxe nesse hospital, o estagiário deve ter uma visão completa do caso, desta forma, Helen Aparecida presenciou o atendimento da Sra. Maria do Carmo, que prontamente autorizou o acompanhamento da estudante na entrevista com a assistente social. Esta estava conversando com a Sra. Maria do Carmo sobre a importância de acompanhar a consulta do marido, o Sr. Joaquim Maria, auxiliando que ele fizesse todos os exames necessários, mas enfatizou a necessidade da mãe em manter a amamentação do seu filho José Felipe, de apenas três meses. A assistente social ressaltava a importância da amamentação até pelo menos seis meses de idade. Assim chegamos à situação-problema desta seção.

Helen Aparecida refletiu sobre os diferentes aspectos dessa conversa com a Sra. Maria do Carmo. Por que a amamentação é tão importante para a criança? Helen se recordou das aulas de imunologia enfatizando a associação entre o leite materno e a redução do risco da criança em contrair doenças infecciosas e alérgicas. Como isso acontece? É um tipo de imunização natural?

Por causa desses questionamentos, Helen resolveu estudar os aspectos básicos da imunidade. Vamos ajudar a Helen Aparecida a resgatar esses conhecimentos?

Não pode faltar

Propriedades gerais da resposta imune: importância fisiológica dos componentes orgânicos, celulares e humorais do sistema imunológico.

O sistema imune é definido como um conjunto de células, tecidos, órgãos e moléculas que são intermediários na resistência às infecções, que os seres vivos utilizam para a erradicação de substâncias ou agentes estranhos, com a finalidade de se manter a homeostasia do organismo. Desta forma, a função fisiológica do sistema imune é prevenir as infecções e eliminar as estabelecidas. Os mecanismos fisiológicos do sistema imunológico abrangem uma resposta coordenada desses constituintes celulares e moleculares diante dos organismos infecciosos e dos demais ativadores, desencadeando respostas específicas e seletivas, incluindo a memória imunitária, que artificialmente utilizamos através das vacinações. Na ausência de um sistema imune funcionalmente competente, quadros infecciosos que poderiam ser leves podem sobrepular o hospedeiro levando até mesmo ao óbito. O Quadro 1.1 ressalta a importância do sistema imunológico para a saúde demonstrando a observação de que seres com resposta imune defeituosa encontram-se susceptíveis a infecções graves.

Quadro 1.1 | A importância do sistema imunológico, evidenciando algumas das funções e características do sistema imunológico e sua participação na saúde e na doença

Função do sistema imunológico	Implicações
Defesa contra as infecções	A imunidade deficiente leva a um aumento na susceptibilidade a infecções, como exemplo temos a AIDS.
	A vacinação estimula as defesas imunológicas e protege contra as infecções.
O sistema imunológico reconhece e responde a tecidos transplantados e proteínas introduzidas recentemente.	As respostas imunológicas representam barreiras importantes ao transplante e à terapia gênica.
Defesa contra tumores	Potencial para a imunoterapia do câncer

Função do sistema imunológico

Implicações

Os anticorpos são reagentes altamente específicos na detecção de qualquer classe de molécula.

Abordagens imunológicas para os exames laboratoriais são amplamente utilizadas na prática clínica e na pesquisa.

Fonte: Abbas (2007, p. 2).

No entanto, mesmo com um sistema imune funcional, o indivíduo pode adquirir uma doença infecciosa ou até mesmo um processo cancerígeno, porque a resposta imune específica diante de um agente agressor leva tempo para se desenvolver e, além disso, tanto organismos estranhos, como células cancerígenas, desencadeiam mecanismos de evasão para escapar da resposta imune. Existem três linhas gerais de defesa contra situações consideradas agressivas ao organismo:

- Barreiras mecânicas primárias constituídas por pele e membranas mucosas.
- O mecanismo de defesa inato, complexo, inespecífico, incluindo nesse item os processos inflamatórios, as atuações das células brancas e o sistema complemento.
- O mecanismo de defesa imune, do tipo adquirido, específico.

Desta forma, os mecanismos de defesa do indivíduo compreendem a imunidade inata, responsável pela proteção inicial contra os processos infecciosos e, pela imunidade adquirida, que é responsável pela proteção mais tardia e é um processo mais eficaz no combate às infecções.

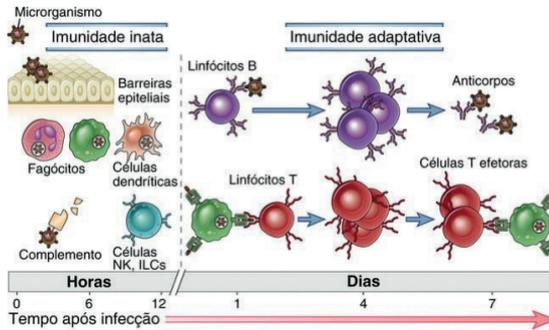


Exemplificando

A Figura 1.1 exemplifica os principais mecanismos das imunidades inata e adquirida. Os mecanismos da imunidade inata são os primeiros elementos de defesa contra as infecções. Desta forma, alguns dos constituintes atuam na prevenção contra as infecções (como exemplo, as barreiras epiteliais), sendo que outros eliminam os microrganismos (como exemplos, os fagócitos, as células *natural killer* (NK) e o sistema do complemento). Por outro lado, a resposta imunológica adquirida ou do tipo adaptativa se desenvolve mais tardiamente, sendo orquestrada pelos linfócitos e seus produtos. Os anticorpos são responsáveis pela eliminação dos microrganismos, bloqueando desta forma, os

processos infecciosos, enquanto os linfócitos T atuam na erradicação dos patógenos intracelulares. O tempo em que ocorrem as respostas, inata e adquirida, é aproximado, variando de acordo com o processo infeccioso e com o indivíduo.

Figura 1.1 | Principais mecanismos das imunidades inata e adquirida



Fonte: Abbas (2007, p. 3).

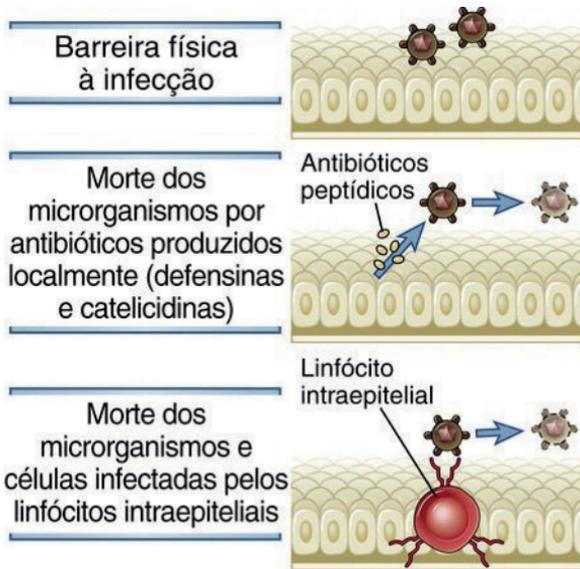
- **Resposta imune inata: componentes da resposta imune inata, compreensão dos seus mecanismos de ação e inter-relação.**

A primeira linha de defesa da imunidade natural é garantida pelas barreiras epiteliais, células especializadas e substâncias que atuam como antibióticos naturais que estão presentes nos epitélios, bloqueando a entrada de microrganismos. Se por acaso esses microrganismos conseguirem penetrar no epitélio, adentrando nos tecidos ou no sistema circulatório, eles serão destruídos pelos fagócitos, que são linfócitos especializados, conhecidos como células *natural killer* (NK) e várias proteínas plasmáticas, incluindo as do sistema do complemento. Todos esses constituintes da imunidade inata são capazes de reconhecer e reagir especificamente contra os microrganismos, mas por outro lado, não reagem contra substâncias estranhas ao organismo do tipo não infecciosas. Desta forma, diferentes mecanismos da imunidade inata podem ser desencadeados especificamente para substâncias produzidas pelas diferentes classes de microrganismos. Conforme vimos até o momento, além de serem responsáveis pelo fornecimento da defesa inicial contra as infecções, as respostas da imunidade inata estimulam as respostas da imunidade adquirida ou adaptativa contra os agentes infecciosos. Os componentes do sistema imune inato

reconhecem estruturas que são comuns a diferentes tipos de microrganismos e que estão ausentes nas células do hospedeiro. Desta forma, cada componente do sistema imunológico inato é capaz de reconhecer muitas bactérias, fungos ou vírus. Exemplificando, os fagócitos expressam receptores específicos para lipopolissacarídeos bacterianos, também conhecidos como endotoxinas, presentes em diferentes classes de bactérias, mas que não é produzido pelas células humanas. Outros exemplos são o reconhecimento de resíduos de manose terminais nas glicoproteínas, sendo que muitas destas glicoproteínas bacterianas possuem resíduos de manose terminais ao contrário das glicoproteínas dos humanos, que terminam com o ácido siálico ou N-acetil-galactosamina. De forma contrastante com a imunidade inata, o sistema imune adquirido é específico para estruturas denominadas como antígenos (produzidas ou não por microrganismos), e que não são necessariamente idênticas entre os diferentes patógenos, podendo ser diferentes até mesmo entre microrganismos de um mesmo tipo. Uma característica fundamental da imunidade inata que a capacita como sendo um mecanismo de defesa altamente eficaz é que seus componentes são capazes de reconhecer estruturas que são essenciais para a sobrevivência e potencial de infectividade dos microrganismos. Desta forma, um patógeno é incapaz de escapar do sistema imune inato devido a mutações ou a não expressão de alvos de reconhecimento, porque isso ocorrendo levaria a patógenos inábeis na infecção e colonização das células do hospedeiro. Em contraste, veremos que os patógenos com frequência se evadem da imunidade adquirida através da mutação dos antígenos que são reconhecidos pelos linfócitos, sendo que essas modificações antigênicas usualmente não são essenciais para a sobrevivência desses patógenos. O sistema imune inato responde do mesmo modo em encontros posteriores com o mesmo patógeno, enquanto que no sistema imune adaptativo a resposta será mais eficaz a cada encontro subsequente com um mesmo patógeno. Em outras palavras, a memória é uma característica essencial da imunidade adquirida, diferente do mecanismo da imunidade inata. Os componentes da imunidade inata consistem em epitélio, que fornece barreiras às infecções, células na circulação e nos tecidos, e diversas proteínas plasmáticas. As vias de entrada mais frequentes dos microrganismos são a pele, o trato gastrointestinal e o trato respiratório, os quais são

protegidos por um epitélio contínuo que garante barreiras físicas e químicas contra as infecções (Figura 1.2).

Figura 1.2 | Funções do epitélio na imunidade inata. O epitélio presente nas vias de entrada dos microrganismos atua como uma barreira física, produzindo agentes antimicrobianos e tendo a presença de linfócitos que eliminam os patógenos e as células infectadas



Fonte: Abbas (2007, p. 27).

Os dois tipos de fagócitos presentes na circulação, os neutrófilos e os monócitos, são células sanguíneas que são recrutadas para os locais de infecção, onde são capazes de reconhecimento e ingestão dos microrganismos para que sejam eliminados. Em resposta a processos infecciosos, a produção dos neutrófilos na medula óssea aumenta rapidamente e seu número pode aumentar de 4.000 a 10.000 por mm^3 para cerca de 20.000 mm^3 . Isso ocorre devido ao estímulo por citocinas, as quais são produzidas por muitos tipos celulares em resposta às infecções, e que agem nas células-tronco da medula óssea, estimulando a proliferação e a maturação dos precursores dos neutrófilos. Tanto os neutrófilos quanto os monócitos migram para os focos de infecção extravascular ligando-se às moléculas de adesão endotelial respondendo a estímulos quimioatrativos que são sintetizados na presença dos patógenos.

O reconhecimento dos patógenos pelos macrófagos e neutrófilos induz à fagocitose dos patógenos e à ativação dos fagócitos para que destruam os microrganismos ingeridos. A fagocitose é um evento pelo qual o fagócito estende a sua membrana plasmática em volta da partícula do microrganismo reconhecida, a membrana se fecha e a partícula ficará internalizada em uma vesícula ligada à membrana denominada como fagossomo. Posteriormente, os fagossomos se fundem com os lisossomos, formando os fagolisossomos.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre a sequência de eventos que ocorrem na migração dos leucócitos para os locais de infecção e a participação das citocinas nesses processos, lendo o artigo de revisão intitulado “Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória” (páginas 442 a 446), disponível em: <http://patologia.medicina.ufrj.br/graduacao/images/_dep-patologia/arquivos_texto/Sistema-Imunitario.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2018.

As células *natural killer* (NK) são uma classe de linfócitos que em resposta aos microrganismos intracelulares induzem à destruição das células infectadas, produzindo uma citocina que ativa os macrófagos, conhecida como IFN- γ . As células NK são capazes de reconhecerem as células do hospedeiro que foram alteradas pela infecção pelos microrganismos. As citocinas produzidas na imunidade inata estimulam a inflamação (TNF, IL-1, quimiocinas) ativam as células NK (IL-12) e os macrófagos (IFN- γ), além de prevenirem as infecções virais. Além de constituírem a defesa inicial contra as infecções, as respostas imunes inatas induzem o “segundo sinal” para a ativação dos linfócitos B e T. Essa necessidade de uma segunda sinalização permite que a imunidade adquirida seja desencadeada por microrganismos, que são os indutores naturais das reações imunológicas inatas e não por agentes e substâncias não bacterianas.

De forma resumida, a Quadro 1.2 mostra que as principais células efetoras da imunidade inata são: macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células *Natural Killer* – NK. Em contraste à resposta inata, a resposta imune adaptativa depende da ativação de células especializadas, os linfócitos, e das moléculas solúveis por eles produzidas.

Células e moléculas do sistema imunológico		
Componente	Imunidade inata	Imunidade adquirida
Células	Fagócitos (células dendríticas, macrófagos e neutrófilos) Células <i>natural-killer</i> (NK) Mastócitos, basófilos e eosinófilos	Linfócitos T, B e NK/T Células dendríticas ou apresentadoras de antígenos (APCs)
Moléculas solúveis	Complemento Proteínas de fase aguda Citocinas Quimiocinas Anticorpos	Anticorpos Citocinas Quimiocinas

Fonte: <http://patologia.medicina.ufrj.br/graduacao/images/_dep-patologia/arquivos_texto/Sistema-Imunitario.pdf> Acesso em: 13 mar. 2018.

- Resposta imune adaptativa: as características e os eventos decorrentes das fases de elaboração das respostas adaptativas.

Existem dois tipos de imunidade adquirida, que são reconhecidos como imunidade do tipo humoral e imunidade do tipo celular, que são monitorados por células e moléculas diferentes, sendo organizados para fornecer a defesa contra microrganismos intracelulares e extracelulares. Desta forma, a imunidade do tipo humoral é mediada por um grupo de proteínas denominadas como anticorpos, que são produzidas pelos linfócitos B. Uma das funções primordiais dos anticorpos é impedir que patógenos presentes nas mucosas e no sangue consigam colonizar as células e tecidos do hospedeiro. Essas proteínas de defesa não têm acesso aos microrganismos intracelulares. Nesse caso, a defesa contra esses microrganismos que estão dentro das células é mediada por células conhecidas como linfócitos T e é denominada como imunidade do tipo celular. Como os linfócitos agem? Alguns linfócitos T ativam os fagócitos para eliminarem os microrganismos ingeridos por células fagocitárias contidos nas vesículas fagocíticas. Outros tipos de linfócitos T eliminam qualquer tipo de célula do hospedeiro que contenha microrganismos infecciosos em seu citoplasma. Vale a pena ressaltar que os anticorpos sintetizados pelos linfócitos B reconhecem especificamente os antígenos microbianos

extracelulares, enquanto que os linfócitos T reconhecem os antígenos presentes nos microrganismos intracelulares. Outra diferença marcante entre os linfócitos B e T é que os linfócitos T reconhecem apenas antígenos proteicos bacterianos, e os anticorpos produzidos pelas células B são capazes de reconhecer muitos tipos diferentes de substâncias químicas produzidas por microrganismos, tais como proteínas, carboidratos e lipídios. A imunidade pode ser induzida em um hospedeiro pela infecção ou artificialmente pela vacinação (imunidade ativa) ou pode ser agregada a um indivíduo pela transferência de anticorpos ou linfócitos de um indivíduo imunizado ativamente (imunidade passiva). Podemos exemplificar a imunidade passiva citando o caso dos recém-nascidos cujo sistema imune não é amadurecido suficientemente para responder a diferentes patógenos, mas se encontram protegidos contra infecções pelos anticorpos maternos que podem ter sido transferidos da mãe através da placenta ou pelo leite materno. Desta forma, na imunidade passiva o indivíduo que recebe os anticorpos, considerado como receptor, (por exemplo, o recém-nascido) estará imune à infecção durante o tempo de vida limitado dos anticorpos ou células, transferidos, ou seja, não produz uma resistência com tempo indeterminado. As características mais importantes da imunidade adquirida são aquelas que a diferem da imunidade inata, incluindo a especificidade fina para antígenos com propriedades estruturais distintas e a memória adquirida através de uma exposição prévia ao antígeno. O Quadro 1.3 mostra as propriedades das respostas imunológicas adquiridas (especificidade, memória, especialização e ausência de reatividade contra auto-antígenos).

Quadro 1.3 | Características das respostas imunológicas adquiridas. As propriedades das respostas imunológicas adquiridas e como cada uma delas atua na defesa do hospedeiro contra os microrganismos

PROPRIEDADE	SIGNIFICADO PARA A IMUNIDADE CONTRA OS MICRORGANISMOS
Especificidade	Habilidade para reconhecer e responder a muitos microrganismos diferentes
Memória	Respostas acentuadas contra infecções recorrentes ou persistentes
Especialização	Respostas a microrganismos distintos são otimizadas para defender o hospedeiro contra eles

Ausência de reatividade contra autoantígenos

Previne as respostas imunológicas e danosas contra as células e tecidos do hospedeiro

Fonte: Abbas (2007, p. 6).

A resposta imune adquirida consiste de fases que ocorrem sequencialmente: reconhecimento dos antígenos pelos linfócitos, ativação dos linfócitos induzindo a proliferação e diferenciação em células efectoras de memória, eliminação dos microrganismos invasores, declínio da resposta imunológica e memória duradoura. Vale a pena lembrar que os linfócitos B são as únicas células capazes de sintetizar anticorpos. Essas células expressam anticorpos de membrana, que são capazes de reconhecerem os antígenos e desta forma neutralizam e eliminam os antígenos. Apesar de todos os linfócitos serem morfológicamente idênticos ou semelhantes, há variações na linhagem, função e fenótipo, capacitando-os a respostas e atividades biológicas complexas. Desta forma, as células do sistema imune incluem os linfócitos, células especializadas que capturam e realizam a apresentação dos antígenos dos microrganismos e células efectoras que eliminam os agentes patogênicos, conforme resumido no Quadro 1.4. Neste encontra-se um resumo dos principais tipos de células envolvidas nas respostas do sistema imune e suas funções.

Quadro 1.4 | As principais células do sistema imunológico

Tipo celular	Principais funções
Linfócitos: linfócitos B, linfócitos T, células <i>natural killer</i>	Reconhecimento específico de antígenos Linfócitos B: mediadores da imunidade humoral Linfócitos T: mediadores da imunidade celular Células <i>natural killer</i> : células da imunidade inata
Células apresentadoras de antígenos: células dendríticas; macrófagos; células dendríticas foliculares	Captura de antígeno para apresentá-los aos linfócitos Células dendríticas: iniciam as respostas das células T Macrófagos: iniciam a fase efetora da imunidade celular Células dendríticas foliculares: apresentam os antígenos aos linfócitos B nas respostas imunes humorais

Tipo celular

Células efetoras:
linfócitos T; macrófagos;
granulócitos

Principais funções

Eliminação dos antígenos:
Linfócitos T: células T auxiliares e linfócitos T citotóxicos
Macrófagos e monócitos: células do sistema fagocítico mononuclear
Granulócitos: neutrófilos, eosinófilos

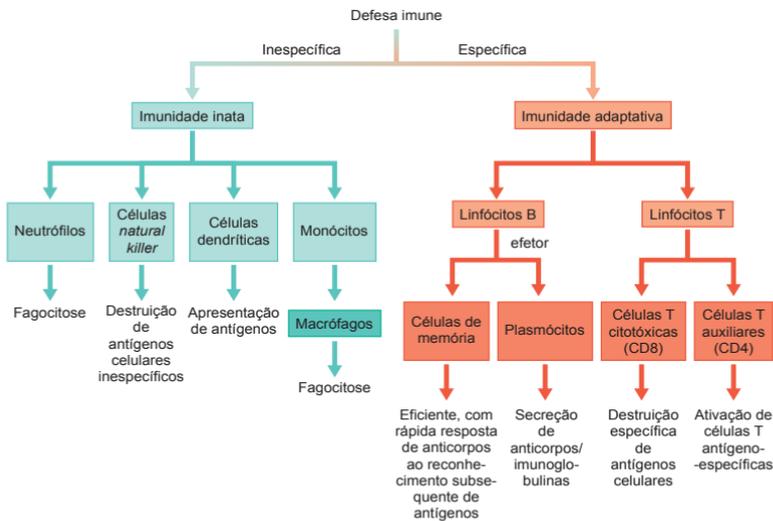
Fonte: Abbas (2007, p. 11).



Assimile

Assimile mais sobre imunidade inata e adaptativa, consultando o esquema representado na Figura 1.3.

Figura 1.3 | Aspectos gerais da resposta imune



Fonte: <<https://image.slidesharecdn.com/2-140211235612-phpapp02/95/2-aspectos-gerais-das-respostas-imunes-4-638.jpg?cb=1392163030>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

- Características bioquímicas, estruturais e funcionais dos anticorpos nas respostas imunes.

A imunidade humoral é o tipo de imunidade adquirida que tem como substâncias mediadoras os anticorpos. E como os anticorpos conseguem impedir infecções no hospedeiro? Os anticorpos bloqueiam a capacidade dos microrganismos em invadir as células do organismo animal, e desta forma conseguem eliminá-los ativando

diversos mecanismos efetores. As moléculas dos anticorpos possuem duas regiões denominadas como regiões de ligação dos antígenos (Fab) e regiões efetoras (Fc). Essas regiões nos anticorpos estão espacialmente separadas. A característica bioquímica dos anticorpos de neutralizar microrganismos e toxinas é uma atividade dependente inteiramente das regiões de ligação dos antígenos (Fab). Além disso, essas regiões regulam as funções das regiões efetoras (Fc) através da ativação prévia após a ligação dos anticorpos aos antígenos. O Quadro 1.5 mostra as funções efetoras dos anticorpos, os quais são produzidos através da ativação dos linfócitos B pelos antígenos e outros sinais, sendo que os anticorpos de diferentes classes de cadeias pesadas (isotipos) cumprem funções diferentes que encontram-se resumidas no Quadro 1.5.

Quadro 1.5 | As funções efetoras dos anticorpos

ISOTIPO DE ANTICORPO	FUNÇÕES EFETORAS ESPECÍFICAS DO ISOTIPO
IgG	Neutralização de microrganismos e toxinas Opsonização de antígenos para fagocitose pelos macrófagos e neutrófilos Ativação da via clássica do complemento Citotoxicidade celular dependente de anticorpos mediadas pelas células <i>natural killer</i> Imunidade neonatal: transferências de anticorpos maternos através da placenta e do intestino Inibição pelo feedback da ativação das células B
IgM	Ativação da via clássica do complemento
IgA	Imunidade na mucosa: secreção de IgA no lúmen dos tratos gastrointestinal e respiratório, neutralização de microrganismos e toxinas
IgE	Citotoxicidade celular dependente de anticorpos mediada por eosinófilos Desgranulação de mastócitos (reações de hipersensibilidade imediata)

Fonte: Abbas (2007, p. 159).

E onde os anticorpos são produzidos? Os anticorpos são sintetizados nos órgãos linfoides e na medula óssea, sendo que a troca de cadeias pesadas e a maturação da afinidade incrementam as funções de proteção dos anticorpos. Estes conseguem neutralizar a infectividade dos microrganismos assim como a patogenicidade

das toxinas ligando-se e modificando a capacidade desses agentes em se ligar às células hospedeiras. Os anticorpos são capazes de opsonizar (revestir) os microrganismos, promovendo a sua fagocitose ao se ligarem aos receptores Fc nos fagócitos. Por outro lado, o sistema de complemento é constituído por um conjunto de proteínas circulantes e da superfície celular que cumprem um papel importante na defesa do organismo. Esse sistema pode ser ativado independente de anticorpos, o que é chamado de via alternativa (um componente da imunidade inata), mas também pode ser ativado após a ligação de anticorpos aos antígenos (imunidade humoral adaptativa, denominada como via clássica). Ao longo desse livro didático aprenderemos mais sobre o sistema complemento, assim como sobre os anticorpos. Veremos que os microrganismos desenvolveram estratégias para evasão da imunidade humoral, tais como a variação dos antígenos, adquirindo resistência ao complemento assim como à fagocitose.



Refleta

Refleta sobre o envelhecimento do sistema imune. Você acha que ocorre uma senescência do sistema imunológico? Fatores hormonais podem influenciar nesse processo? Uma dica para essa reflexão: leia o artigo de revisão científica intitulado "Pós-menopausa e o sistema imune", que pode ser obtido acessando o link:

<<https://bit.ly/2tM7POA>>. Acesso em: 29 jun. 2018.

Sem medo de errar

Você se lembra da estagiária Helen Aparecida e da Sra. Maria do Carmo, mãe do pequeno José Felipe, de apenas três meses? A assistente social ressaltou a importância da amamentação do bebê pelo menos até os seis meses de idade.

Helen Aparecida pensou sobre os diferentes aspectos dessa conversa com a Sra. Maria do Carmo. Por que a amamentação é tão importante para a criança? Helen se recordou das aulas de imunologia enfatizando a associação entre o leite materno e a redução do risco da criança em contrair doenças infecciosas e alérgicas. Como isso acontece? É um tipo de imunização natural?

Após ler muito sobre o assunto, Helen Aparecida fez um resumo do que aprendeu sobre o assunto. Ela lembrou que o leite materno é, indiscutivelmente a melhor forma de alimentar o lactente, porque possui a melhor e mais adequada fonte de nutrientes para o bebê, garantindo a proteção contra doenças e aumentando o vínculo emocional entre a mãe e o bebê. Por causa da imaturidade do sistema imunológico, o recém-nascido torna-se mais vulnerável às infecções, sendo imprescindível a proteção conferida pela amamentação. Helen Aparecida constatou que o colostro e o leite materno possuem substâncias imunológicas para o crescimento, protegendo a mucosa do intestino contra a penetração de agentes patogênicos, estimulando a maturação epitelial, induzindo um incremento na síntese de enzimas digestivas. Como ocorre a proteção contra infecções e também contra alergias? Linfócitos (células T de memória) e macrófagos migram do tecido linfóide do intestino e da árvore brônquica da mãe para a sua glândula mamária, desta forma são excretados no leite e ingeridos pelo bebê. A mais abundante imunoglobulina do leite materno é a IgA polimérica, que resiste a condições extremas (um pH ácido, fora a presença de proteases do trato gastrointestinal do lactente). Os anticorpos presentes no leite materno são eficientes no combate a inúmeros microrganismos com os quais a mãe teve contato durante toda sua vida, constituindo um tipo de “repertório” imunológico. As propriedades anti-infecciosas do colostro e do leite materno é devido a presença dos componentes solúveis (IgA, IgM, IgG, IgD, IgE, lisozimas, lactobacilos e outras substâncias imunorreguladoras) e componentes celulares (macrófagos, linfócitos, granulócitos, neutrófilos e células epiteliais). O leite materno diminui o risco de doenças crônicas ligadas ao sistema imunológico, como exemplos, as doenças autoimunes, incluindo diabetes e linfoma e, no início de vida, a principal função do leite materno é a prevenção de doenças infecciosas.

Mania de limpeza pode causar alergias?

Descrição da situação-problema

Helen Aparecida estava estudando o sistema imune adaptativo e o inato. Você observou que como o próprio nome indica, o sistema imunológico adaptativo ou adquirido, evolui, se adapta com o contato com diferentes patógenos. Será que existe um equilíbrio quando pensamos em higiene (corporal, faxina na casa, ambientes climatizados, etc.)? Estamos vivendo a era da limpeza: sabonetes antibacterianos, produtos de limpeza que usam como propaganda matar 99,9% dos germes. As crianças devem ser protegidas de sujeiras, quase sendo criadas em um ambiente estéril! Será que esses cuidados exagerados são bons para as crianças? Como fica o sistema imune adaptativo nesse processo? Essa foi a pergunta que a Helen se fez ao estudar o tema.

Resolução da situação-problema

Helen resgatou alguns conhecimentos históricos e viu que desde o final do século XIX, com as descobertas do médico Robert Koch, é reconhecido que certos microrganismos causam doenças específicas. A partir dessa época, hábitos de higiene, saneamento básico e limpeza melhoraram drasticamente a saúde do homem. No entanto, alguns cientistas dizem que o excesso de cuidados em relação à higiene não é benéfico e que pode abrir caminhos para alergias e asma. E por que isso ocorre? Inicialmente porque nem todos os microrganismos são nocivos. Alguns sintetizam vitaminas através da nossa flora intestinal, nos auxiliam na digestão de alimentos e fazem parte da nossa pele para protegê-la dos microrganismos nocivos. Um processo alérgico é, na verdade, o nosso sistema imune entrando em pânico ao interpretar uma substância muitas vezes inofensiva como um grande ataque. E por que isso ocorre? De acordo com alguns cientistas, o nosso corpo reage de modo exagerado a microrganismos benéficos, porque nosso sistema imunológico “se esqueceu” de como conviver com eles, ou seja, não houve uma adaptação do sistema imune a essa microbiota. Isso pode ser pensado como uma terapia de exposição!

Isso ocorre assim que o bebê nasce! Crianças oriundas de parto normal possuem estatisticamente um menor número de alergias quando comparadas com aquelas nascidas por cesariana. Isso é justificado pela comunidade científica pelo contato inicial do recém-nascido com a flora vaginal da mãe. E ao longo da vida, crianças que convivem em um ambiente extremamente higienizado têm maior incidência de alergias e asma.

Faça valer a pena

1. O sistema imunológico é responsável por proteger o organismo eliminando os microrganismos invasores. É constituído de certos tipos de leucócitos, principalmente os linfócitos, e também por órgãos onde ocorre a síntese, maturação e multiplicação desses leucócitos.

Os linfócitos são as únicas células do nosso organismo que apresentam receptores específicos para antígenos e são células-chaves para a imunidade adaptativa, são morfologicamente semelhantes, no entanto são heterogêneos em algumas características.

Diante disso, analise as seguintes afirmativas:

- I. Os linfócitos apresentam populações diferentes que desempenham funções diversas e que podem ser diferenciadas pela expressão de determinadas moléculas na membrana.
- II. Os linfócitos B são as únicas células que produzem anticorpos.
- III. Os linfócitos T reconhecem fragmentos peptídicos dos antígenos proteicos apresentados por outras células.

É correto o que se afirma em:

- a) I apenas.
- b) I e II apenas.
- c) I e III apenas.
- d) II e III apenas.
- e) I, II e III.

2. Para que um microrganismo cause uma doença no ser humano, ele tem que passar por várias defesas do nosso organismo, tais como alguns tipos de barreiras, como a pele, os tecidos que compõem o sistema respiratório e o digestório. Fora todas essas barreiras, os microrganismos podem ser combatidos por células especializadas, tais como os glóbulos brancos.

O sistema imunológico pode ser classificado como inato ou adquirido. Marque a alternativa correta em relação às características da resposta imunológica inata:

- a) Requer exposição prévia ao microrganismo.
- b) Ausente no nascimento.
- c) Não é específica para o antígeno.
- d) A intensidade varia com o número de exposições.
- e) Apresenta memória.

3. Os anticorpos são também conhecidos como imunoglobulinas (Ig) ou gamaglobulinas, são substâncias com estrutura glicoproteica produzidas pelos linfócitos B, usadas pelo sistema imune para identificar e neutralizar os antígenos.

Leia as seguintes sentenças relacionadas às imunoglobulinas e complete com as funções efetoras específicas dos isotipos (IgA, IgE, IgG, IgM):

- () Neutralização de microrganismos e toxinas.
- () Ativação da via clássica do complemento.
- () Imunidade na mucosa: secreção de IgA no lúmen dos tratos gastrointestinal e respiratório, neutralização de microrganismos e toxinas.
- () Citotoxicidade celular dependente de anticorpos mediadas pelas células natural killer.
- () Citotoxicidade celular dependente de anticorpos mediada por eosinófilos.
- () Imunidade neonatal: transferências de anticorpos maternos através da placenta e do intestino.

Marque a alternativa correta:

- a) IgG, IgM e IgG, IgA, IgG, IgE, IgG
- b) IgG, IgG e IgM, IgA, IgG, IgM, IgG
- c) IgA, IgM, IgM, IgE, IgM, IgG
- d) IgE, IgM, IgM, IgG, IgM, IgE
- e) IgA, IgE, IgM, IgA, IgE, IgG

Seção 1.2

Tolerância imunológica e imunologia tumoral e dos transplantes

Diálogo aberto

Prezado aluno,

Nesta seção, daremos continuidade ao estágio da Helen, aluna de Farmácia que realiza seu estágio supervisionado em um laboratório especializado em Imunofarmacologia. Helen Aparecida ao acompanhar o trabalho da assistente social conversou com esta sobre a importância do aleitamento materno, elas lembraram que o leite materno possui células brancas do sangue da mãe, enzimas e anticorpos competentes para a proteção do recém-nascido. Além disso, infecções que são comuns nos primeiros meses do recém-nascido, como infecções do trato respiratório superior, atingem menos as crianças que são amamentadas, disse a estagiária. A assistente social quis saber mais sobre como o organismo consegue reconhecer o que são as substâncias antigênicas. Dessa discussão, surgiram perguntas que a Helen não conseguiu responder prontamente:

- Como o sistema imune assegura a não responsividade aos antígenos próprios?

E desta pergunta surgiu outro questionamento:

- Quais são os fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da autoimunidade?

A única resposta imediata que a Helen teve foi que falhas nos diferentes mecanismos que mantêm a tolerância aos antígenos próprios desencadeiam as doenças autoimunes. Ela prometeu que iria estudar o assunto e voltaria com as respostas para a assistente social.

Desta forma, vamos ajudar a Helen a elaborar uma tabela resumindo os principais conceitos sobre tolerância imunológica, autoimunidade e a patogênese associada a falhas nesses mecanismos imunológicos?

Mecanismos de tolerância imunológica: central e periférica: vale a pena recordar que uma das principais características do sistema imunológico sadio é a sua capacidade de reagir a uma enorme diversidade de microrganismos, mas não contra antígenos próprios do organismo. Essa não responsividade aos antígenos próprios do indivíduo é denominada como tolerância imunológica. Desta forma, podemos definir a tolerância como sendo um estado imunológico caracterizado por resposta efetora reduzida ou ausente após um contato prévio com o antígeno. Existem mecanismos que são responsáveis pela habilidade de diferenciar entre as substâncias antigênicas próprias e não próprias (usualmente oriundos de microrganismos). Se por acaso, ocorrerem falhas nesses mecanismos, o sistema imune pode agredir ao reagir contra as células do próprio indivíduo. Essas reações são denominadas de autoimunidade, que é uma resposta imunológica contra antígenos próprios (autólogos), induzindo as doenças autoimunes, que são causadas por falhas na autotolerância, induzindo conseqüentemente lesões celulares e teciduais. A partir dessas considerações iniciais, podemos indagar:

- Quais as estratégias do sistema imunológico para a manutenção dessa não responsividade aos antígenos autólogos?
- Quais são os fatores que podem colaborar para o desenvolvimento da autoimunidade?

A tolerância imunológica é a ausência de resposta dos linfócitos após a exposição aos antígenos. Desta forma, quando os antígenos são expostos aos linfócitos com receptores para esses mesmos determinantes antigênicos, três respostas são possíveis (Figura 1.4): ativação, tolerância e ignorância. Os linfócitos T virgens podem ser ativados e sofrer diferenciação via antígenos imunogênicos. Por outro lado, a tolerância é induzida quando antígenos tolerogênicos induzem a situação denominada como anergia funcional (em outras palavras, a não responsividade) ou a morte celular por apoptose, desencadeando a incapacidade dessas células em responderem novamente ao mesmo antígeno. E por último, alguns antígenos são ignorados pelos linfócitos, provocando uma ausência de resposta, mas os linfócitos são capazes de induzirem uma resposta a esse determinante.

O processo de tolerância imunológica é crucial para o organismo animal: inicialmente, os antígenos próprios usualmente induzem tolerância. Além disso, estamos aprendendo a induzir tolerância especificamente para linfócitos e antígenos específicos, com isso temos capacidade de utilizar esse conhecimento para prevenir ou regular as reações imunes indesejáveis, por exemplo, evitar a rejeição em transplantes de órgãos.

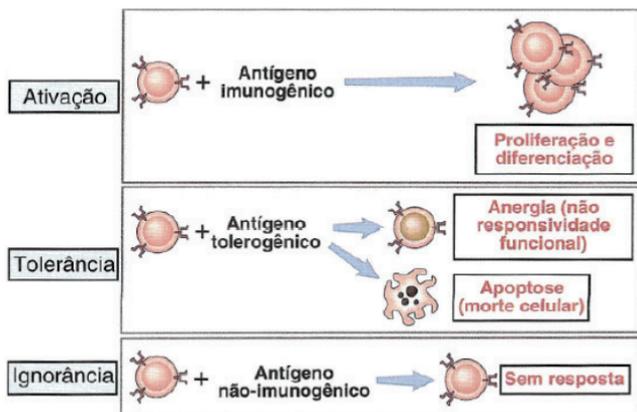


Pesquise mais

Pesquise mais sobre os mecanismos de tolerância imunológica central e periférica lendo o Capítulo 9 do livro do Abbas (2007), sobre tolerância imunológica e autoimunidade.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Imunologia básica. Funções e distúrbios do sistema imunológico*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p. 177-194.

Figura 1.4 | Possíveis resultados do encontro dos linfócitos com os antígenos

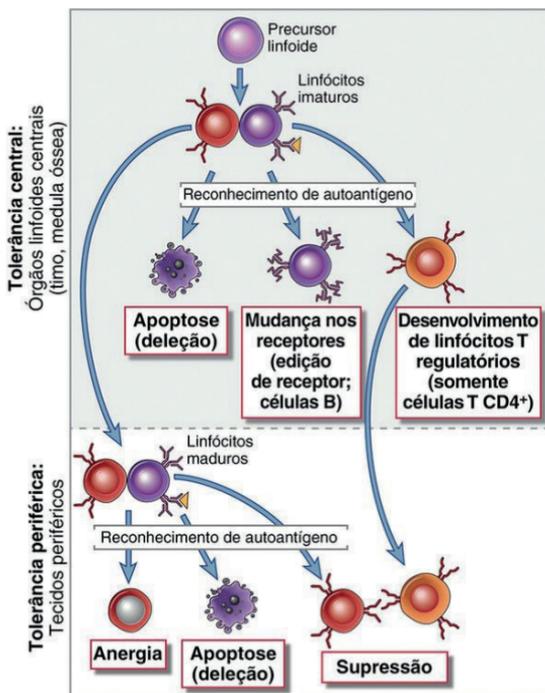


Fonte: Abbas (2007, p. 178).

A tolerância central é induzida pela morte dos linfócitos T imaturos quando colidem com os antígenos nos órgãos linfoides formadores. Por outro lado, a tolerância periférica decorre do reconhecimento dos antígenos pelos linfócitos maduros nos tecidos periféricos. Nesses mecanismos de tolerância imunológica a seleção negativa das células T que ocorre na tolerância central é decorrente do reconhecimento de alta afinidade dos antígenos no timo (um órgão

linfóide gerador de linfócitos). A tolerância central tem por função eliminar as células T potencialmente perigosas, as quais expressam em suas membranas, receptores de alta afinidade para os antígenos próprios dispersos. No caso da tolerância periférica, essa tolerância nas células T é disparada por múltiplos mecanismos: - a anergia (inativação funcional) decorrente do reconhecimento dos antígenos sem a atuação dos segundos mensageiros (coestimuladores) ou quando as células T utilizam receptores inibidores para reconhecer os segundos mensageiros; - a deleção, morte celular por apoptose, ocorre quando as células T colidem com os antígenos próprios continuamente. A Figura 1.5 mostra a tolerância central e periférica aos antígenos próprios. Nos linfócitos B, a tolerância central é induzida a partir do reconhecimento de células imaturas aos antígenos próprios na medula óssea e, a tolerância periférica pela anergia é disparada quando os linfócitos B maduros reconhecem antígenos próprios sem a ajuda dos linfócitos T.

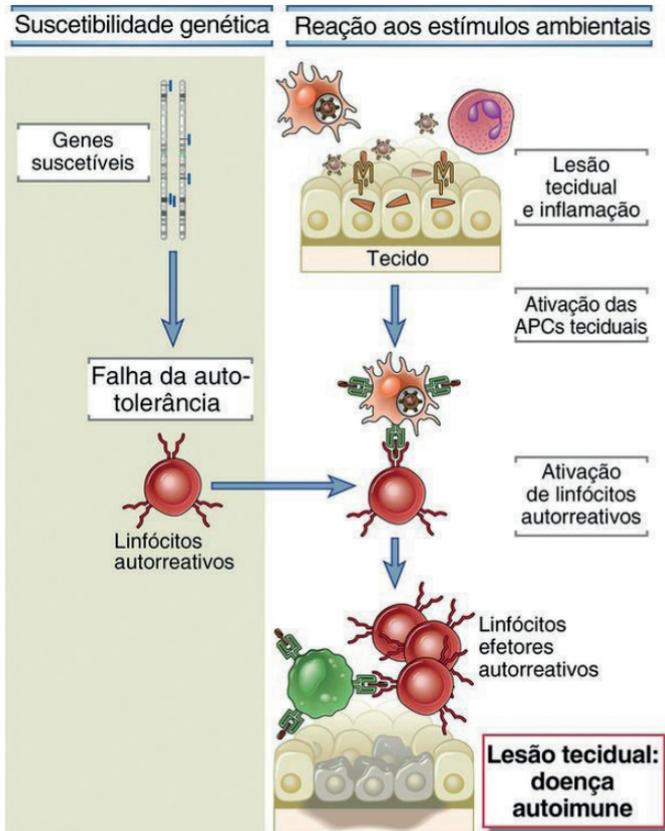
Figura 1.5 | Tolerância central e periférica aos antígenos próprios



Fonte: Abbas (2007, p.180).

- **Doenças autoimunes – conceitos gerais:** a autoimunidade pode ser definida como uma resposta do sistema imune contra os antígenos próprios, ou seja, contra os antígenos autólogos. Falhas na autotolerância provocam lesões celulares e teciduais, causando as doenças autoimunes, tais como a tireoidite, diabetes, o lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatoide, dentre outras. Mas quais são as causas da autoimunidade? Os principais eventos que participam do desenvolvimento da autoimunidade são a herança genética, que podem auxiliar para a quebra da autotolerância e estimulação do meio, sendo uma das principais a presença de infecções, que podem ativar os linfócitos autorreativos conforme podemos visualizar na Figura 1.6.

Figura 1.6 | Mecanismos postulados da autoimunidade



Fonte: Abbas (2007, p. 181).

A Figura 1.6 esquematiza a proposição de uma doença autoimune de órgão específico regulado pelo linfócito T, diversos loci gênicos podem inferir susceptibilidade à autoimunidade, tendo como causa provável a atuação da manutenção dos mecanismos de autotolerância. Estímulos oriundos do meio ambiente, como as infecções e outros estímulos inflamatórios, induzem o influxo dos linfócitos para os tecidos, provocando conseqüentemente a ativação dos linfócitos T autorreativos, tendo como resultado uma lesão tecidual. Diversos genes contribuem para o estabelecimento da autoimunidade, desta forma, existem indícios fortes de que há associações entre os genes do HLA (do inglês, *human leukocyte antigen* – sistema antígeno leucocitário humano) e diversas doenças autoimunes reguladas pelos linfócitos T. Por outro lado, as infecções predispõem à autoimunidade, porque causam processos inflamatórios e induzem a expressão aberrante dos coestimuladores, ou ainda, por causa das reações cruzadas entre os antígenos próprios e dos microrganismos.



Exemplificando

O Quadro 1.6 exemplifica as associações de doenças autoimunes com alelos do locus do MHC (do inglês complexo de histocompatibilidade principal), desta forma estudos realizados em familiares indicam que aqueles indivíduos que herdaram um alelo particular do HLA provavelmente desenvolvem mais doenças do tipo autoimunes do que aqueles que não possuem esses alelos, o que é designado como risco relativo (incidência aumentada no desenvolvimento de uma doença autoimune).

Quadro 1.6 | Associações de doenças autoimunes com alelos do locus do MHC

EVIDÊNCIA	EXEMPLOS	
	DOENÇA	ALELOS DO HLA/RISCO RELATIVO (%)
"Risco relativo" de desenvolver uma doença autoimune em indivíduos que herdaram alelo(s) particulares do HLA quando comparados a indivíduos que não possuem esses alelos.	Espondilite anquilosante	B27 90
	Artrite reumatoide	DR4 4
	Diabetes mellitus insulino-dependente	DR3/DR4 25
	Pênfigo vulgar	DR4 14

EVIDÊNCIA	EXEMPLOS	
	DOENÇA	ALELOS DO HLA/RISCO RELATIVO (%)
Modelos animais: estudos em linhagens estabeleceram associações de doenças com alelos particulares do MHC.	Diabetes mellitus do tipo 1 (linhagem de camundongo não obeso diabético)	I-A
Diabetes mellitus insulino-dependente	Diabetes mellitus insulino-dependente	DR

Fonte: adaptado de Abbas (2007, p. 190).



Pesquise mais

Pesquise mais sobre sintomas, formas de tratamento e prevenção das principais doenças autoimunes assistindo à videoaula do Dr. Luiz Vicente Rizzo, imunologista do Hospital Albert Einstein. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=1h-GFxiWfs8>>. Acesso em: 31 mar. 2018.

- **Imunologia e farmacoterapia dos transplantes:** esse tópico é bem estudado na área de imunologia e tem um comportamento oposto ao item que estudaremos a seguir (respostas imunológicas contra tumores). Isso porque no transplante de órgãos, as respostas imunológicas contrárias a ele são uma barreira ao sucesso do transplante e, o conhecimento de como eliminar ou minimizar essas respostas é o foco principal dos profissionais que pesquisam sobre transplantes. Por outro lado, no câncer é reconhecido que com o avanço do sistema imune contra os tumores se estabelece uma condição ideal para o tratamento tumoral. No entanto, as respostas imunológicas contra cânceres e transplantes possuem diversas características compartilhadas. Os antígenos que marcam os tumores e transplantes como substâncias estranhas podem ser expressos em quase qualquer tipo de célula que é objeto de alterações malignas ou que é enxertada de um indivíduo para o outro. Desta forma, existem mecanismos especiais para a indução de respostas imunológicas contra os diferentes tipos celulares. Um mecanismo, que talvez seja o principal pelo qual as células tumorais

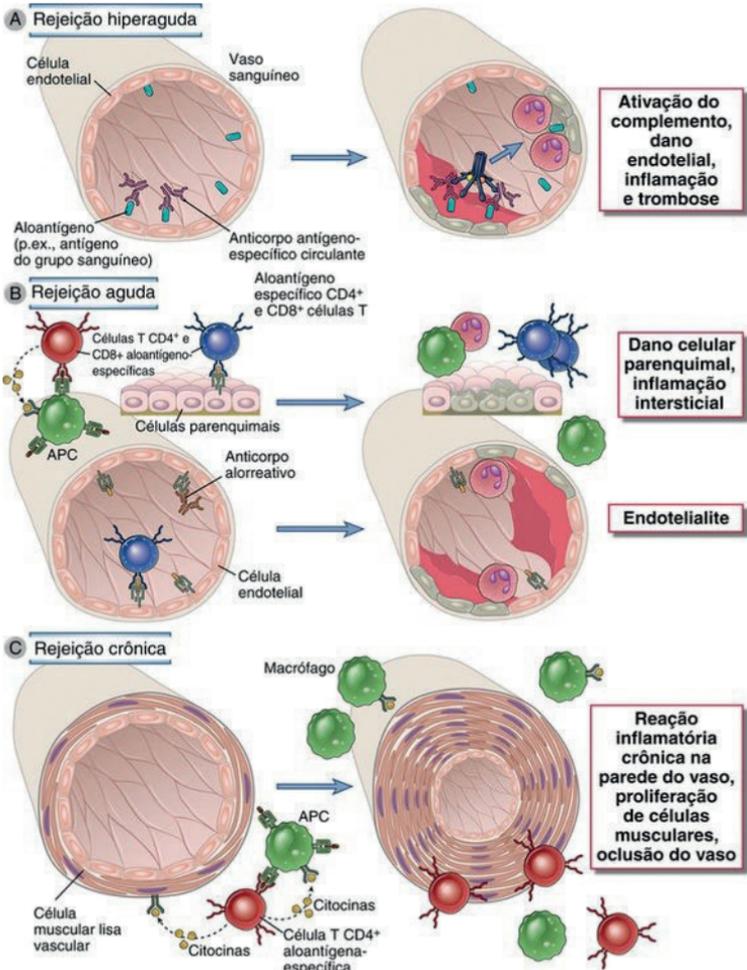
e as células de um tecido transplantado são eliminadas, envolve os linfócitos T citotóxicos (CTLs). Transplantes teciduais sofrem rejeição pelo sistema imune, conforme discutimos previamente, sendo os principais determinantes para essa rejeição as moléculas do MHC. Desta maneira, os antígenos de aloenxertos que são reconhecidos pelos linfócitos T são moléculas alogênicas do MHC que são semelhantes a moléculas do MHC próprio, saturadas de peptídeos que, aos linfócitos T são selecionadas para reconhecimento. Os antígenos do tecido transplantado são apresentados diretamente aos linfócitos T receptores, ou os antígenos do transplante são apresentados pelas APCs (células apresentadoras de antígeno) do hospedeiro. Os transplantes podem sofrer rejeição por diferentes mecanismos que podem ser classificados como rejeição: hiperaguda, aguda e crônica, tendo em vista características clínicas e patológicas. A Figura 1.7 mostra os mecanismos de rejeição ao enxerto. No caso da rejeição hiperaguda, o processo é mediado por anticorpos pré-formados que induzem lesão endotelial e trombose dos vasos sanguíneos no tecido transplantado. Esse tipo de rejeição tem ocorrência alguns minutos após a realização do transplante e tem como sinais a trombose de vasos do tecido transplantado e necrose sistêmica. A rejeição aguda é mediada por linfócitos T, que induzem lesão nas células do tecido enxertado ou do endotélio, ou através de anticorpos que se ligam ao endotélio, induzindo lesões da célula do parênquima e inflamação intersticial. Essa rejeição tem ocorrência alguns dias ou semanas após o transplante, sendo a principal causa de falha precoce ao sucesso do transplante. E por último, a rejeição crônica é provocada por linfócitos T que produzem citocinas estimuladoras do crescimento endotelial vascular e células musculares lisas da camada íntima, levando à oclusão do lúmen. Esse tipo de rejeição provavelmente é uma reação do tipo DTH (do inglês, reação do tipo hipersensibilidade tardia) aos antígenos presentes no vaso. A rejeição crônica é considerada uma forma indolente de lesão do tecido transplantado que ocorre por meses há anos, levando à perda progressiva da função do tecido ou órgão transplantado. Como tem por característica uma fibrose ou estenose gradual dos vasos do tecido transplantado, a rejeição crônica é denominada como arteriosclerose do enxerto. Devido às melhorias no tratamento para a rejeição aguda do transplante, a rejeição crônica tem se tornado a principal causa de falhas no sucesso dos transplantes.



Pesquise mais sobre os mecanismos de tolerância imunológica central e periférica lendo o Capítulo 10 do livro do Abbas (2007), sobre tolerância imunológica e autoimunidade.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. *Imunologia básica. Funções e distúrbios do sistema imunológico*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p. 195-211.

Figura 1.7 | Mecanismos de rejeição ao tecido transplantado



Fonte: Abbas (2007, p. 208).

O tratamento para evitar a rejeição aos transplantes é desenvolvido com o intuito de suprimir as respostas dos linfócitos T e os processos inflamatórios. O fármaco de escolha para esse tratamento é a droga imunossupressora ciclosporina, que atua inibindo a fosfatase de células T que é necessária para ativar o fator de transcrição NFAT e assim agir inibindo a transcrição de genes produtores de citocina nas células T. A incorporação da ciclosporina como uma droga clinicamente vantajosa permitiu uma nova era nos transplantes, principalmente nos de coração, fígado e pulmão. Muitas outras substâncias são utilizadas de forma associada ou no lugar da ciclosporina conforme demonstrado no Quadro 1.7.

Quadro 1.7 | Tratamentos para evitar a rejeição ao transplante

FÁRMACO	DOENÇA
CICLOSPORINA E FK506	Bloqueiam a produção de citocinas da célula T pela inibição da ativação do fator de transcrição NFAT.
MICOFENOLATO MOFETIL	Bloqueia a proliferação linfocitária pela inibição da síntese de guanina nucleotídeo nos linfócitos.
RAPAMICINA	Bloqueia a proliferação linfocitária pela inibição da sinalização da IL-2.
CORTICOSTEROIDES	Reduzem a inflamação pela inibição da secreção de citocina macrófágica.
ANTICORPO MONOCLONAL ANTI- CD3	Depleta as células T pela ligação ao CD3 e promoção da fagocitose ou lise mediada pelo complemento (usado para tratar a rejeição aguda).
ANTICORPO ANTIRRECEPTOR DE IL-2	Inibe a proliferação de células T pelo bloqueio da ligação da IL-2. Também pode opsonizar e ajudar a eliminar células T que expressam IL-2R.
CTLA4-Ig	Inibe a ativação das células T pelo bloqueio da ligação do coestimulador B7 às células T CD28. Usado experimentalmente para induzir a tolerância.
ANTI-CD40-LIGANTE	Inibe a ativação macrófágica e endotelial pelo bloqueio da ligação do ligante da célula T CD40 ao macrófago CED40 (experimental).

Fonte: Abbas (2007, p. 209).



Assimile algumas siglas e conceitos usados em imunologia:

- MHC (do inglês, complexo de histocompatibilidade principal): locus gênico onde encontram-se genes extremamente importantes para o sistema imune, autoimunidade e para o sucesso reprodutivo. O MHC tem como função proteínas de superfície que reconhecem e apresentam antígenos próprios ou externos para o nosso sistema imune adaptativo.
- HLA (do inglês sistema do antígeno leucocitário humano): genes pertencentes a esse sistema codificam as principais moléculas encarregadas da apresentação do antígeno na superfície celular. São genes cruciais no desenvolvimento de doenças autoimunes e são responsáveis pela rejeição de transplantes de órgãos e tecidos.
- APCs (células apresentadoras de antígenos): células que apresentam fragmentos de peptídeos dos antígenos proteicos, em associação às moléculas do MHC à superfície e ativa os linfócitos T específicos do antígeno. Também apresentam moléculas coestimuladoras para ativar as células T de maneira favorável.
- DTH (reação do tipo hipersensibilidade tardia): reação imune em que a ativação do macrófago dependente dos linfócitos T e a inflamação induzem lesão no tecido.

- **Respostas imunológicas contra tumores:** uma função fisiológica do sistema imune é a erradicação e prevenção dos processos tumorais. Os antígenos tumorais podem ser produzidos por oncogenes ou tumores supressores de genes, proteínas mutantes, moléculas expressas de forma aberrante ou excessiva, ou ainda podem ser produzidos por vírus oncogênicos. Existem evidências da ligação genética em certos tipos de câncer: - algumas anormalidades genéticas estão associadas à neoplasia maligna, como a Síndrome de Down (trissomia do cromossomo 21) e a leucemia; - há uma associação entre certos antígenos de histocompatibilidade e algumas neoplasias malignas, como o HLA-B8 e o linfoma de Hodgkin; - alguns cânceres hereditários estão associados a mutações conhecidas, como o retinoblastoma. Diversas viroses têm sido implicadas como desencadeadoras de certos processos tumorais. Alguns exemplos são o câncer de colo uterino e o papilomavírus humano; linfoma de Burkitt e vírus Epstein-

Barr; hepatites B e C e câncer hepático; além de infecção por HIV e sarcoma de Sarcosi. A rejeição tumoral é regulada principalmente por linfócitos T citolíticos (CTLs) que são capazes de reconhecerem peptídeos derivados de antígenos tumorais. A incorporação de células tumorais ou de seus antígenos pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), assim como a apresentação de antígenos tumorais para os linfócitos T são respostas induzidas pelos linfócitos T citolíticos. No Quadro 1.7, são apresentadas as principais classes de antígenos tumorais. Parte desses antígenos é reconhecida pela capacidade em induzir respostas imunes em indivíduos com câncer, outros antígenos associados ao processo tumoral não são capazes de induzir respostas no sistema imunológico do hospedeiro, entretanto podem ser objetos potenciais para a imunoterapia, marcadores em potencial para o diagnóstico clínico.

Quadro 1.8 | Antígenos tumorais

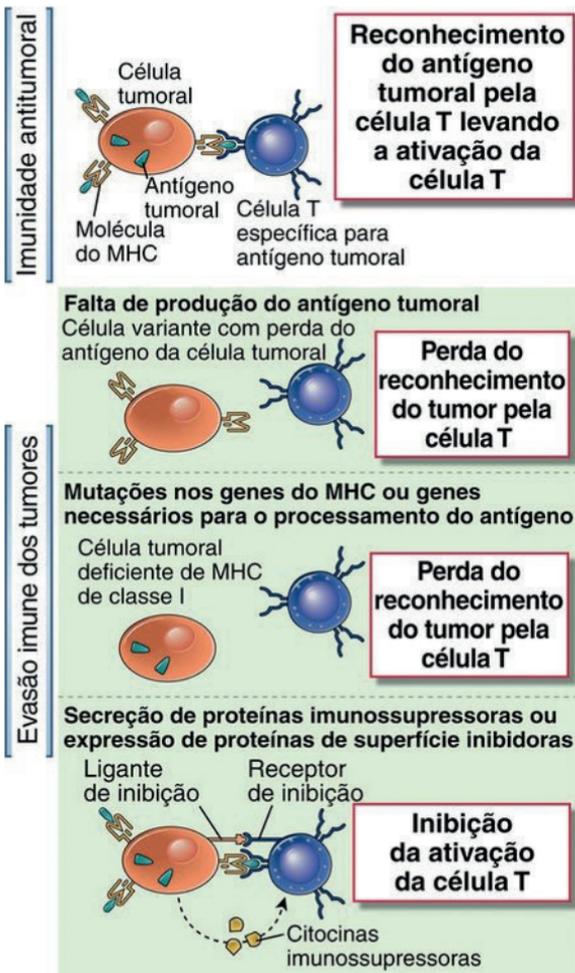
TIPO DE ANTÍGENO	EXEMPLOS DE ANTÍGENOS TUMORAIS HUMANOS
Produtos de oncogenes mutados, genes supressores de tumor	<p>Bloqueiam a produção de citocinas da célula T pela inibição da ativação do fator de transcrição NFAT.</p> <p>Produtos oncogênicos: mutações em Rãs (~10% dos carcinomas humanos), produto de p210 de rearranjos de Bcr/Abl (CML)</p> <p>Produtos de genes supressores de tumor: p53 mutado (presente em ~50% dos tumores humanos).</p>
Produtos de oncogenes não mutados, mas superexpressos	HER2/Neu (carcinoma de mama e outros).
Formas mutadas de genes celulares não envolvidos na tumorigênese	Várias proteínas mutadas nos melanomas reconhecidas pelos CTLs.
Produtos de genes que são silenciosos na maioria dos tecidos normais	Antígenos de câncer/testículos expressos nos melanomas e muitos carcinomas, normalmente expressos principalmente nos testículos e placenta.
Proteínas não oncogênicas normais superexpressas em células tumorais	Tirosinase, gp100, MART em melanomas (normalmente expressas nos melanócitos).

TIPO DE ANTÍGENO	EXEMPLOS DE ANTÍGENOS TUMORAIS HUMANOS
Produtos de vírus oncogênico	Proteínas E6 e E7 do Papilomavírus (carcinomas de colo uterino)
	Proteína EBNA-1 do EBV (linfomas associados ao EBV, carcinoma nasofaríngeo).
Antígenos oncofetais	Antígeno carcinoembrionário em muitos tumores, também é expresso no fígado e em outros tecidos durante a inflamação α -fetoproteína.
Glicolipídios e glicoproteínas	GM2, GD2 nos melanomas
Diferenciação de antígenos normalmente presentes nos tecidos de origem	Antígeno específico da próstata no carcinoma de próstata CD20 nos linfomas de células.

Fonte: <https://4.bp.blogspot.com/-BuzZXM6Fi0s/Wf-KDOk_r3I/AAAAAAAAABN0/5xBh2rhGktUeEmVV_7l4hHRXu50a5ZJmAClCkBGAs/s640/Sem%2Bt%25C3%25ADtulo.png>. Acesso em: 30 mar. 2018.

As células tumorais conseguem se evadir de respostas do sistema imune através da perda da expressão de seus antígenos, não expressão de moléculas do MHC assim como de moléculas envolvidas no processamento de antígenos. Além disso, as células tumorais podem secretar citocinas que suprimem as respostas imunológicas. A Figura 1.8 mostra como os tumores conseguem se evadir das respostas imunológicas. Um dos principais objetivos da imunologia de tumores é assimilar os mecanismos de evasão imune dos tumores, com o intuito de interferir nos processos de evasão das células tumorais ao sistema imune, permitindo um incremento na imunogenicidade dos tumores maximizando as respostas do hospedeiro.

Figura 1.8 | Como as células tumorais conseguem escapar das respostas imunológicas



Fonte: Abbas (2007, p. 200).



Refleta

Refleta sobre as respostas imunológicas aos tumores e transplantes:

- Quais são os antígenos presentes nas células cancerígenas e nos transplantes teciduais que são reconhecidos como estranhos pelo sistema imune?

- Quais os mecanismos pelos quais o sistema imune reconhece e reage às células dos transplantes e tumorais?
- De que forma as respostas imunológicas aos tumores e transplantes podem ser dominadas com o intuito de serem manipuladas para aumentar a rejeição tumoral e inibir a rejeição ao transplante?

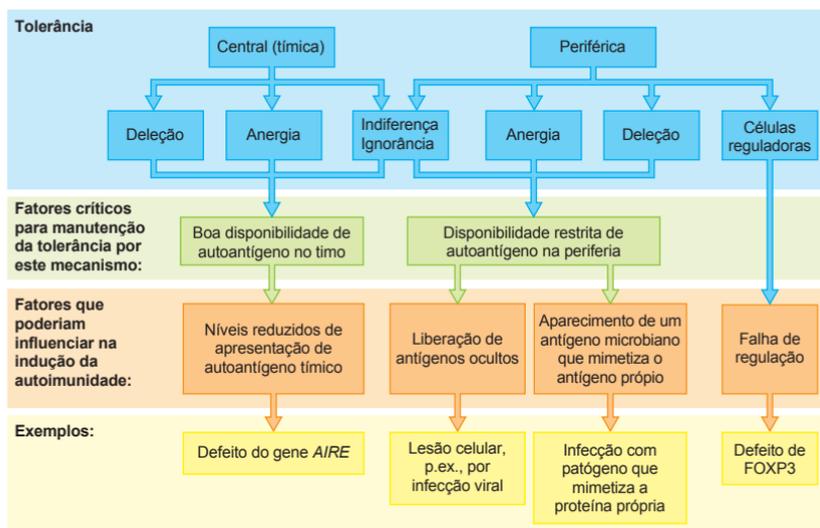
Sem medo de errar

Prezado aluno,

Lembra da estagiária Helen Aparecida? Em uma conversa com a assistente social, essa quis saber mais sobre como o organismo consegue reconhecer o que são as substâncias antigênicas.

Helen resolveu elaborar mapas conceituais resumindo as principais características sobre tolerância imunológica, autoimunidade e a patogênese associada a falhas nesses mecanismos imunológicos (Figura 1.9).

Figura 1.9 | Autoimunidade versus falhas na tolerância imunológica



Fonte: <<https://imunologia96.files.wordpress.com/2013/01/fig-3-2-mecanismos-de-induc3a7c3a3o-e-quebra-da-tolerc3a2ncia-das-cc3a9lulas-t.jpg>>. Acesso em: 31 mar. 2018.

Na discussão com a assistente social, surgiram perguntas que a Helen não conseguiu responder prontamente, mas que ela pesquisou e fez anotações gerais:

- **Como o sistema imune assegura a não responsividade aos antígenos próprios?**

O fenômeno de tolerância imunológica é importante para o organismo animal: inicialmente, os antígenos próprios usualmente induzem a tolerância, ou seja, a não reatividade aos antígenos próprios.

- **Quais são os fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da autoimunidade?**

A autoimunidade é uma falha nos processos de tolerância imunológica, desencadeando as doenças autoimunes. A autoimunidade é uma resposta imune específica contra antígenos próprios.

Avançando na prática

Transplantes

Descrição da situação-problema

Helen Aparecida ao estudar a imunologia dos transplantes resolveu escrever um texto sobre o assunto para divulgar em seu blog de imunofarmacologia. Diversas condições clínicas podem culminar na perda total ou parcial do funcionamento fisiológico de alguns órgãos. Nesses casos, muitas vezes o único recurso é a realização de um transplante para substituir o órgão ou tecido ineficiente. Atualmente os órgãos mais frequentemente transplantados são rins, coração, pulmões, fígado, pâncreas, medula óssea e córnea. Quais os problemas que podem ser encontrados nos casos de transplante? A principal dificuldade é encontrar um doador compatível; a gente sempre vê sobre esse assunto em campanhas sobre a importância da doação de órgãos. Depois da cirurgia, surgem outros problemas, sendo um dos mais frequentes a possibilidade de rejeição. E o que é a rejeição? Quais são os tipos de rejeição e os mecanismos imunológicos associados a esse processo?

Resolução da situação-problema

A **rejeição** ocorre quando o sistema imune do receptor não reconhece o novo órgão ou tecido como próprio e inicia a produção de anticorpos. Esse processo pode ocorrer em qualquer tipo de transplante, o que muda apenas é a intensidade do quadro. Nos casos mais graves, o paciente transplantado pode vir a óbito devido à intensidade da resposta imunológica. Os mesmos mecanismos eficientes e complexos que asseguram proteção contra agentes estranhos induzem à rejeição do tecido transplantado entre indivíduos que não sejam geneticamente idênticos. A rejeição está diretamente relacionada com o grau de compatibilidade entre o receptor e o doador, desta forma, quanto maior a compatibilidade, menores são as possibilidades de rejeição.

Helen resumiu os tipos, tempo decorrido e os mecanismos envolvidos na rejeição de transplantes no Quadro 1.9

Quadro 1.9 | Tipos de rejeição aos transplantes

TIPO	TEMPO	MECANISMO
HIPERAGUDA	Minutos/horas	Anticorpos pré-formados
AGUDA CELULAR	Dias a semanas	Ativação de linfócitos T
AGUDA HUMORAL	Dias a semanas	Anticorpos
CRÔNICA	Meses a anos	Ativação de linfócitos T e anticorpos

Fonte: elaborado pela autora.

Faça valer a pena

1.

Tolerância se refere à não reatividade imunológica específica a um antígeno resultante de uma exposição prévia ao mesmo antígeno. Enquanto a forma mais importante de tolerância é a não responsividade a antígenos próprios, é possível induzir tolerância a antígenos não próprios. Fonte: <<http://www.microbiologybook.org/Portuguese/immunoport-chapter16.htm>>. Acesso em: 16 maio 2018.

Em relação à tolerância imunológica, é CORRETO afirmar que:

- Indivíduos sadios/normais são intolerantes aos seus antígenos.
- Antígenos exógenos podem ser administrados por vias que inibam a tolerância em linfócitos específicos.

- c) A tolerância é imunologicamente inespecífica do ponto de vista imunológico.
- d) O principal mecanismo de tolerância central é a anergia ou inativação funcional.
- e) Induz-se anergia pelo reconhecimento do antígeno sem coestimulação adequada.

2. A transformação de células normais em células malignas pode ocorrer espontaneamente ou ser induzida por agentes carcinogênicos, tais como agentes químicos, físicos ou virais. A natureza dessa alteração auxilia a determinar se o sistema imune do hospedeiro será capaz ou não de conter o desenvolvimento tumoral.

Marque a alternativa correta em relação à imunologia dos tumores:

- a) Não existem evidências científicas sobre o vínculo entre ligação genética e certos tipos de câncer.
- b) Nenhuma virose foi implicada como desencadeadora de alguns processos tumorais.
- c) A infecção por HIV tem sido implicada como desencadeadora do câncer de colo uterino.
- d) As células tumorais possuem antígenos de superfície, por isso não conseguem escapar do sistema imune.
- e) Os antígenos tumorais podem ser produzidos por oncogenes ou tumores supressores de genes, proteínas mutantes, moléculas expressas de forma aberrante ou excessiva, ou ainda podem ser produzidos por vírus oncogênicos.

3. A imunologia de transplantes estuda a compatibilidade imunogênica entre doadores-receptores ao transplante de órgãos ou de tecidos, sendo que a resposta do sistema imune ocorre pela mediação dos elementos de defesa, com a participação de anticorpos, incluindo diversos mecanismos de regulação e de fatores de amplificação celular.

Em relação à imunologia dos transplantes, observa-se que:

- a) As moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) são responsáveis por quase todas as reações de rejeição hiperaguda.
- b) Células ou órgãos transplantados entre indivíduos da mesma linhagem isogênica de uma espécie são quase sempre rejeitados.
- c) A rejeição crônica é mediada por anticorpos preexistentes.
- d) Os linfócitos CD8+ não participam das reações de rejeição aos transplantes.
- e) No transplante humano, a principal estratégia para reduzir a imunogenicidade é maximizar as diferenças aloantigênicas entre o doador e o receptor.

Seção 1.3

Fisiopatologia e farmacoterapia das principais doenças autoimunes

Diálogo aberto

Caro aluno,

Chegamos ao final desta unidade na qual acompanhamos Helen Aparecida no seu estágio supervisionado e as ricas experiências práticas que está vivenciando. Novamente ela teve contato com a família e com o Sr. Joaquim Maria Pereira, 45 anos de idade, e com queixa de cansaço extremo, pensando que poderia ser porque estava acordando várias vezes durante a noite para urinar. Você se lembra que o Sr. Joaquim Maria é casado com a dona Maria do Carmo? Nessa segunda ida ao hospital, eles levaram o primogênito do casal, que aos 5 anos de idade apresentou quadro agudo em que se destacavam a sede excessiva (polidipsia) e significativa perda de peso, o que ocasionou a internação hospitalar com um quadro compatível de cetoacidose diabética. Os pais estavam muito ansiosos e relataram que a criança frequenta uma escolinha e tem um desenvolvimento intelectual aparentemente normal, porém com dificuldade de desenvolvimento físico. Perguntaram sobre consanguinidade o que foi descartado pelo casal. Na anamnese outros questionamentos sobre a criança foram feitos: ela não fazia uso de nenhuma outra medicação e possuía a carteira de vacinação em dia!

A Sra. Maria do Carmo disse para a estagiária que o diagnóstico do seu filho foi de Diabetes mellitus do tipo 1, diferente do diagnóstico do marido (Diabetes mellitus do tipo 2). Ela queria entender melhor as diferenças entre os dois tipos de diabetes e ouviu dizer que a diabetes do tipo 1 é do tipo autoimune. O que significava isso? Como seria o tratamento? Vamos auxiliar a Helen nesses questionamentos?

Não pode faltar

- **Fisiopatologia e farmacoterapia da artrite reumatoide:** a artrite reumatoide (AR) é uma doença do tipo inflamatória, relacionada ao sistema imune (autoimune), sistêmica e crônica, cuja prevalência é estimada em cerca de 1% da população mundial. É caracterizada por sinovite periférica e por diversas manifestações extra-articulares, ocorrendo com maior predominância em mulheres entre a quarta e sexta décadas de vida e, em relação ao gênero, afeta três vezes mais mulheres do que homens. A etiopatogenia da artrite reumatoide ainda não é inteiramente conhecida, mas reconhece-se um aumento da incidência da doença entre familiares, sugerindo um componente genético. O antígeno leucocitário humano (*human leukocyte antigen* – HLA) é considerado como sendo a principal característica genética relacionada à evolução dessa doença. Entretanto, variações fenotípicas e de incidência da doença ressaltam que fatores ambientais, além da predisposição genética, contribuem na etiopatogênese, tais como tabagismo e infecções periodontais. Há indícios na literatura ressaltando a periodontite como uma possível causa para o início da doença e responsável pela manutenção da resposta inflamatória autoimune na artrite reumatoide. Desta forma, a influência de múltiplos elementos no desenvolvimento da artrite reumatoide corrobora para a dificuldade em se entender o desenvolvimento dessa doença. Da mesma maneira, a doença varia bastante em relação ao quadro clínico, à gravidade e ao prognóstico. O tipo clínico mais comum é a poliartrite simétrica de pequenas e grandes articulações, evoluindo de modo crônico. Pode haver uma associação da artrite reumatoide à neutropenia e esplenomegalia, sendo denominada Síndrome de Felty.



Exemplificando

Exemplificamos a prevalência da artrite reumatoide em mulheres entre 40 e 60 anos de idade, no entanto, a Liga Internacional de Associações para Reumatologia criou a expressão artrite idiopática juvenil (AIJ) para denominar todas as artrites de causa desconhecida que têm início antes dos 16 anos e que persistem por pelo menos 6 semanas. Existem sete tipos de AIJ: - (a) artrite sistêmica, (b) oligoartrite, (c) poliartrite com fator reumatoide negativo (FR negativo), (d) poliartrite com FR positivo, (e) artrite psoriásica, (f) artrite relacionada a entesite e (g) outras artrites.

E como é a fisiopatologia da artrite reumatoide? A artrite reumatoide é resultante da ação das células T e B autorreativas, ocasionando a sinovite, infiltração celular e um processo desorganizado de destruição e remodelação óssea. Citocinas pró-inflamatórias e proteases, oriundas da membrana sinovial, em associação com osteoclastos e condrócitos, induzem à destruição das articulações. A hipótese mais aceita em relação aos eventos vistos na artrite reumatoide é de que modificações pós-traducionais induzidas por fatores ambientais transformam moléculas próprias em imunogênicas. Desta forma, a exposição prolongada ao cigarro e/ou a outros estímulos ambientais, dispara uma resposta do sistema imune adaptativo aos peptídios citrulinados, os quais podem aparecer anos antes do aparecimento da sintomatologia clínica da doença. Já foram identificadas reações de citrulinização em articulações de pacientes com artrite reumatoide tanto em fibrinogênio quanto em vimentina, sendo possível que outras proteínas do organismo podem também sofrer reações de citrulinização. Não há o completo esclarecimento do vínculo entre a positividade para o fator reumatoide e o desenvolvimento da artrite reumatoide, no entanto ambos estão intimamente correlacionados. A ativação do sistema complemento por imunocomplexos resulta em vários fenômenos inflamatórios, resultando em depósitos de fator reumatoide em arteríolas, ocasionando vasculites e prejudicando a qualidade de vida do paciente. Além disso, o reconhecimento dos complexos imunes por fagócitos induz a liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias, principalmente o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), exacerbando ainda mais o quadro inflamatório.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre como é realizado o diagnóstico da artrite reumatoide, pondere que ele é feito por meio da associação de dados clínicos, laboratoriais e radiográficos, lendo o artigo de revisão intitulado: *Artrite reumatoide: uma visão atual*, publicado no *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* (2011).

Acesse também o vídeo em que Fernando Cunha (farmacologista da faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP), destaca as características da artrite reumatoide e os tratamentos disponíveis em: <https://www.youtube.com/watch?v=n_2cFb3Qh1Q>. Acesso em: 10 abr. 2018.

- Fisiopatologia e farmacoterapia do lúpus eritematoso:

o lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença do tipo autoimune sistêmica, que tem como características a produção de autoanticorpos, formação e deposição de imunocomplexos, inflamação em diversos órgãos e dano tecidual. A etiologia permanece com fatores desconhecidos, porém reconhece-se a participação de fatores hormonais, ambientais, genéticos e imunológicos para o surgimento da doença. O lúpus é mais prevalente no sexo feminino (9 em cada 10 pacientes são mulheres), sendo que a doença tem uma evolução mais grave na raça negra. A faixa etária atinge, sobretudo, mulheres jovens, com idades variando entre 20 e 30 anos, sendo mais raro acometer crianças ou idosos. A evolução da doença possui manifestações clínicas polimórficas, com períodos de crise, exacerbações e remissões. O doente pode apresentar os seguintes sintomas constitucionais: artrite, serosite, nefrite, vasculite, miosite, manifestações muco-cutâneas, hemocitopenias imunológicas, vários episódios neuropsiquiátricos, hiperatividade reticuloendotelial e pneumonite.



Exemplificando

Exemplificando como é realizado na clínica o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico. Utilizam-se os critérios de classificação propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia, sendo que o diagnóstico se baseia na presença de, ao menos, quatro dos onze critérios descritos a seguir:

1. Eritema malar: lesão eritematosa fixa em região malar, plana ou em relevo.
2. Lesão discoide: lesão eritematosa, infiltrada, com escamas queratóticas, aderidas e tampões foliculares, que evolui com cicatriz atrófica e discromia.
3. Fotossensibilidade: exantema cutâneo como reação não usual à exposição à luz solar, de acordo com a história do paciente ou observado pelo médico.
4. Úlceras orais/nasais: úlceras orais ou nasofaríngeas, usualmente indolores, observadas pelo médico.
5. Artrite: não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas, caracterizadas por dor e edema ou derrame articular.

6. Serosite: pleuris (caracterizada por história convincente de dor pleurítica, atrito auscultado pelo médico ou evidência de derrame pleural) ou pericardite (documentado por eletrocardiograma, atrito ou evidência de derrame pericárdico).
7. Comprometimento renal: proteinúria persistente (> 0.5 g/dia ou 3+) ou cilindrúria anormal.
8. Alterações neurológicas: convulsão (na ausência de outra causa) ou psicose (na ausência de outra causa).
9. Alterações hematológicas: anemia hemolítica ou leucopenia (menor que $4000/\text{mm}^3$ em duas ou mais ocasiões) ou linfopenia (menor que $1500/\text{mm}^3$ em duas ou mais ocasiões) ou plaquetopenia (menor que $100.000/\text{mm}^3$ na ausência de outra causa).
10. Alterações imunológicas: anticorpo anti-DNA nativo ou anti-Sm (é considerado como um autoanticorpo específico e por isso é utilizado como marcador de lúpus eritematoso sistêmico) ou presença de anticorpo antifosfolípide com base em:
 - a. Níveis anormais de IgG ou IgM anticardiolipina;
 - b. Teste positivo para anticoagulante lúpico; ou
 - c. Teste falso-positivo para sífilis, por, no mínimo, seis meses.
11. Anticorpos antinucleares: título anormal de anticorpo antinuclear por imunofluorescência indireta ou método equivalente, em qualquer época, e na ausência de drogas conhecidas por estarem associadas à síndrome do lúpus induzido por drogas.

Fonte: Rev. Bras.Reumatol., v. 48, n. 4, p. 196-207 (2008).

Entre os fármacos utilizados para o tratamento do lúpus eritematoso sistêmico podem ser descritos os antimaláricos (cloroquina e hidroxicloroquina) e os glicocorticoides, independentemente do órgão ou sistema acometido pela doença. Os glicocorticoides são os medicamentos mais usados no tratamento de lúpus eritematoso sistêmico, e as doses diárias variam de acordo com a gravidade de cada caso. Pelo fato dos glicocorticoides provocarem inúmeros efeitos colaterais e, por isso, devem ser prescritos na menor dose efetiva para o manejo da atividade da doença e, assim que possível, os glicocorticoides devem ser reduzidos gradualmente até a suspensão. Vale a pena ressaltar que, episódios tromboembólicos também podem estar associados à presença de anticorpos antifosfolípidios e ao uso crônico de glicocorticoides ou de anticoncepcional oral.

- Fisiopatologia e farmacoterapia da Diabetes mellitus tipo I

– **autoimune**: a Diabetes mellitus tipo 1 é um distúrbio endócrino crônico comum, heterogêneo, sendo que a manifestação e o diagnóstico podem variar desde os primeiros anos de vida até a idade adulta. Desta forma, em alguns pacientes há uma destruição rápida das células beta das ilhotas de Langerhans, em outros a destruição é progressiva, sendo que somente ao fim de alguns anos, haverá a necessidade de tratamento com insulina. Na maioria dos casos, essa destruição das células beta é mediada por autoimunidade, no entanto existem pacientes em que não há comprovações de processo autoimune, sendo, portanto, denominados como forma idiopática de Diabetes mellitus tipo 1. A etiologia da doença é multifatorial, tendo uma predisposição genética e fatores ambientais ainda desconhecidos. Os biomarcadores utilizados para verificar a autoimunidade são os autoanticorpos anti-insulina, anti-descarboxilase do ácido glutâmico (GAD 65), anti-tirosina fosfatases (IA2 e IA2B) e anti-transportador de zinco (Znt). Além da susceptibilidade genética há hipóteses de que fatores ambientais participam para a perda de tolerância aos autoantígenos. Vários agentes infecciosos têm sido relacionados ao aparecimento da diabetes autoimune, sendo que algumas substâncias antigênicas de agentes infecciosos são idênticas aos antígenos humanos - o que denominamos como mimetismo molecular, podendo induzir uma resposta imune aos próprios antígenos. Os linfócitos T CD4 possuem um papel importante no desenvolvimento da Diabetes mellitus tipo 1: infiltram-se nas ilhotas de Langerhans, provocando inflamação e morte das células beta induzindo conseqüentemente, uma diminuição da síntese de insulina. O processo que leva à morte das células beta inclui a participação de citocinas, morte celular induzida pelo ligante Fas/Fas e citotoxicidade mediada pelos linfócitos T CD8+. As proteínas das células beta sofrem modificações pós-traducionais transformando-se em autoantigênicas. Apesar dessa associação entre os fatores genéticos conhecidos, até o momento, esses podem ser responsáveis por cerca de 70% dos casos de Diabetes mellitus tipo 1 e não conseguem justificar o aumento de sua incidência nas últimas décadas. Essas informações sugerem a participação de fatores ambientais na patogênese, sendo que uma das principais hipóteses é denominada como "hipótese higiênica", na qual há uma correlação entre o aumento na incidência da doença com a baixa

incidência de infecções nos primeiros anos de vida. Além disso, os outros fatores bem conhecidos: dieta ocidental, deficiência de vitamina D e viroses, além do sedentarismo e obesidade. Os objetivos almejados no tratamento de crianças e jovens com diabetes são possibilitar condições para o crescimento e desenvolvimento considerados normais, além de tentar precaver as complicações agudas e crônicas da doença. Isso pode ser conseguido através do trabalho integrado de uma equipe multidisciplinar, focada em estratégias alimentares, exercícios físicos, administração de insulina, consultas clínicas com exames laboratoriais periódicos e prevenção das implicações crônicas. Novos tipos de insulina associados a métodos automatizados e programáveis de liberação da insulina têm otimizado o tratamento da Diabetes mellitus tipo 1. O intuito é manter com o tratamento a glicemia mais próxima das condições fisiológicas, ou seja, evitar os eventos hipoglicêmicos. Além disso, os transplantes de pâncreas ou de ilhotas podem ser tratamentos rotineiros em um futuro próximo, associados ao desenvolvimento de novas substâncias imunossupressoras.



Assimile

Assimile mais sobre autoanticorpos que participam na progressão da Diabetes mellitus tipo 1 (Quadro 1.20).

Quadro 1.20 | Autoanticorpos envolvidos no desenvolvimento da Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)

Autoanticorpos	Características
Anti-GAD	- Apresenta alta prevalência no início da DM1 e tem sido detectado vários anos antes da instalação da doença;
	- Anticorpos contra enzima ácido glutâmico decarboxilase (GAD) identificada como sendo o autoantígeno das células beta pancreáticas;
	- GAD: um dos mais importantes antígenos envolvidos na patogênese da DM1;
	- Método de detecção do anticorpo anti-GAD é imunoprecipitação;

Autoanticorpos	Características
Anti-ilhota - ICA	- Marcador de DM1: dada a etiologia autoimune da doença, a presença deste anticorpo é indicativa de atividade da doença;
	- Positivo em 80% dos pacientes com tempo de DM1 inferior a 5 anos, porém a sua sensibilidade cai após 5 anos do diagnóstico;
	- Detectado pela técnica da imunofluorescência indireta;
Anti-insulina IAA	- Anticorpo que pode ocorrer de forma espontânea ou após uso de insulina;
	- Apresenta positividade próxima a 100% nos diabéticos com menos de 5 anos do diagnóstico, passando apenas para 15% após 15 anos de diagnóstico;
	- O radioensaio é importante para o diagnóstico precoce de DM1 (autoanticorpos) e anti-insulina ELISA é um ensaio indireto destinado a dosagem quantitativa de anticorpos da classe IgG anti-insulina exógena.

Fonte: Scientia Medica, Porto Alegre, v. 17, n. 4, p. 212-217, out./dez. 2007 (p. 214).

- **Fisiopatologia e farmacoterapia da anemia hemolítica autoimune, hepatite autoimune:** a anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma doença incomum em que autoanticorpos se ligam à membrana das hemácias, provocando a sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial. Na AHA, o sistema imunológico do paciente não reconhece as suas hemácias como próprias, percebendo-as como elementos estranhos ao organismo. Uma vez reconhecidas pelos anticorpos, são destruídas no baço, ocasionando o quadro de anemia. A AHA é classificada de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos às hemácias: na AHA quente, os autoanticorpos "quentes" reagem mais intensamente à temperatura corporal (37° C), entretanto são incapazes de aglutinar os eritrócitos, e a hemólise ocorre pela destruição pelo sistema reticuloendotelial; na AHA a frio, os autoanticorpos "frios" se ligam às hemácias (em temperaturas entre 4 e 18° C), podendo levar à aglutinação das hemácias na circulação sanguínea, e, via ativação pelo sistema complemento, ocorre a lise do eritrócito; na forma mista, os dois tipos de autoanticorpos

coexistem. Existe outra maneira de classificar a anemia hemolítica autoimune tendo por base a sua etiologia, desta forma a AHAI idiopática ou primária não apresenta associação com a doença de base, já a secundária está relacionada a doenças linfoproliferativas, imunodeficiências, utilização de medicamentos ou neoplasias. Na maioria dos casos de AHAI (mais de 50%) são devido às doenças linfoproliferativas, e em pacientes com doença idiopática a prevalência é maior em mulheres entre quarenta e cinquenta anos de idade. Os anticorpos que reagem à temperatura corporal são quase sempre IgG, raramente IgM ou IgA. Em cerca de 25% dos casos a AHAI a quente é classificada como secundária, desta forma, neoplasias linfoides e doenças do colágeno, como lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide e imunodeficiências, são as doenças mais frequentemente associadas. Além disso, certos fármacos, incluindo anti-inflamatórios não esteroidais e alguns antibióticos, também são reconhecidos como causadores de AHAI a quente. Nos casos dos anticorpos ativos em baixas temperaturas induzem duas doenças com sintomas clínicos diferentes: a doença das aglutininas a frio (crioaglutininas) e a hemoglobinúria paroxística a frio, sendo que a doença das aglutininas a frio é provocada pela presença de anticorpo IgM contra antígenos polissacarídeos na superfície das hemácias por volta de 90% dos casos. Os anticorpos "frios" são usualmente produzidos em resposta a infecções ou por doenças linfoproliferativas, tais como infecções decorrentes de pneumonia por *Mycobacterium pneumoniae*, e de infecções virais como mononucleose infecciosa. Na maioria das vezes, a AHAI se inicia de modo lento, com sintomas inespecíficos típicos de quadros anêmicos, tais como, o paciente apresentar um cansaço ao mínimo esforço, palidez, icterícia, mal-estar e febre leve. Além disso, a coloração amarelada da urina é um outro sintoma importante: ela pode variar de amarelo cor de chá forte à cor de coca-cola. O fato da manifestação da doença ocorrer juntamente com sintomas de episódios de gripe (dor muscular, febre, coriza, etc.) sugere que a virose pode ser um fator desencadeante da AHAI. E qual é o tratamento da AHAI? É imprescindível o tratamento da doença de base, quando essa é identificada, por isso os agentes imunossupressores, como os corticoides correspondem à primeira escolha terapêutica. O diagnóstico é realizado através da interpretação do quadro clínico, sendo que na maioria das vezes, é bem sugestivo da doença,

entretanto o diagnóstico laboratorial é importante. Entre os diversos tipos de exames laboratoriais, o mais específico é a pesquisa de anticorpos no sangue, Teste de Coombs Direto e Indireto. Outros testes podem ser também imprescindíveis para a complementação diagnóstica, tais como testes específicos para investigação das colagenoses, viroses, doenças linfoproliferativas e tumores.

- **Hepatite autoimune:** na maioria dos casos, a hepatite autoimune (HAI) é caracterizada por apresentar um quadro histológico de hepatite de interface (periportal ou perisseptal), hipergamaglobulinemia, presença de autoanticorpos teciduais e responsividade à terapia imunossupressora. Na HAI tipo 1, os principais anticorpos são fator antinuclear (FAN), antimúsculo liso (AML), pANCA e anti-SLA/LP. Caracterizam a HAI tipo 2, os anticorpos anti-LKM1 e o anticitosol hepático 1 (ALC-1), isoladamente ou em associação. Em aproximadamente 50% dos casos, o início da doença é de difícil interpretação diagnóstica, com os pacientes apresentando fadiga, náuseas, anorexia, perda de peso, dor ou desconforto abdominais, icterícia, rash cutâneo, artralgias e mialgias. Além disso, o médico pode verificar que o paciente terá fisicamente hepatoesplenomegalia, ascite, eritema palmar, aranhas vasculares, edema periférico e encefalopatia. Cerca de 30% dos pacientes podem apresentar na fase aguda da doença uma icterícia extrema, sendo fundamentais o diagnóstico e o tratamento precoces para evitar uma insuficiência hepática. Os outros casos são considerados como assintomáticos, sendo identificados pelo encontro inesperado de aumento dos níveis séricos de transaminases. O diagnóstico da HAI é feito pela interpretação dos dados clínicos, histológicos, bioquímicos e de resposta ao tratamento. Devem ser descartadas as causas virais, tóxicas e metabólicas antes do diagnóstico final. Corroboram o diagnóstico laboratorial o aumento substancial nas concentrações sanguíneas de gamaglobulinas, grau de elevação das aminotransferases/transaminases (AST/TGO e ALT/TGP) superior ao grau de elevação da fosfatase alcalina, presença de FAN, AML ou anti-LKM1 positivos, ausência de antimitocôndria e histologia com hepatite de interface sem lesões biliares, granulomas ou alterações proeminentes sugestivas de outra doença.



Refleta sobre algumas questões que devem ser abordadas em investigações futuras sobre a hepatite autoimune (HAI). Um dos problemas na investigação clínica e diagnóstico na HAI é a raridade da doença, por isso, o estabelecimento de centros de tratamento especializados e a cooperação coordenada de tais centros serão decisivos na melhoria da investigação clínica na HAI. Também pode ser necessária a participação do doente na definição da agenda de investigação para assegurar que são abordadas as questões relevantes para os afetados, tais como: - fatores de risco e doenças associadas; - fatores associados à melhoria/remissão espontânea da doença; - quais são os distúrbios imunorreguladores; - se a remissão pode ser induzida sem corticoides. Refleta sobre essas questões!

Sem medo de errar

Você se lembra do caso do filho da Sra. Maria do Carmo? Ela levou ao hospital o pequeno David, que aos 5 anos de idade apresentou quadro agudo de polidipsia e perda de peso, o que ocasionou a internação hospitalar com um quadro compatível de cetoacidose diabética. Os pais estavam muito ansiosos e relataram que a criança frequente uma escolinha e tem um desenvolvimento intelectual aparentemente normal, porém com dificuldade de desenvolvimento físico. O diagnóstico do David foi de Diabetes mellitus do tipo 1, diferente do diagnóstico do pai (Diabetes mellitus do tipo 2). Tanto a Helen quanto os pais do David querem entender melhor as diferenças entre os dois tipos de diabetes: eles sabem que a diabetes do tipo 1 é do tipo autoimune. O que significava isso? Como seria o tratamento? Vamos auxiliar a Helen nesses questionamentos?

A Helen buscou na literatura textos e materiais explicando sobre as características da diabetes do tipo 1 e 2 e, encontrou essa figura, bem didática, para ela mostrar para a Sra. Maria do Carmo (Figura 1.10).

Figura 1.10 | Principais diferenças entre o diabetes tipo 1 e tipo 2

Comparação das características clínicas, genéticas e imunológicas do diabetes tipo 1 e tipo 2		
Característica	Tipo 1	Tipo 2
Início	Abrupto	Progressivo
Insulina endógena	Baixa a ausente	Normal, elevada ou deprimida
Cetose	Comum	Rara
Idade no início	Qualquer idade	Vasta maioria absoluta em adultos
Massa corpórea	Geralmente não obeso	Obeso ou não obeso
Tratamento	Insulina	Dieta, hipoglicemiantes orais, insulina
História familiar	10 a 15%	30%
Concordância em gêmeos	30 a 50%	70 a 90%
Associação com o antígeno leucocitário humano (HLA)	HLA-DR, HLA-DQ	Sem relação
Autoanticorpos	Presentes na maioria (>85%)	Ausentes, exceto em pacientes com doença de tipo 1 coincidente.

Fonte: <https://vignette.wikia.nocookie.net/aia1317/images/f/fc/DM_7.png/revision/latest?cb=20130915160534&path-prefix=pt-br>. Acesso em: 10 abr. 2018.

Avançando na prática

Polegar em “Z”?

Descrição da situação-problema

No Laboratório de Imunofarmacologia, toda semana há uma reunião científica com o objetivo de discutirem atualidades na área de saúde, assim como alguns casos clínicos do hospital. Desta forma, a Helen teve acesso à discussão sobre o seguinte caso clínico discutido: P.P.S, sexo feminino, 53 anos, negra, casada, secretária, natural de São Paulo. Tinha como queixa principal dor intensa nas articulações das mãos há cerca de oito meses, no entanto a dor

piorou há cerca de dois meses. Nesse período teve um período de relativa melhora, no entanto nos últimos meses as dores pioraram. A paciente destacou que as dores aliviam com o uso de anti-inflamatórios, além disso relatou que além das dores ela observou rigidez matinal nas articulações, isso perdurava por cerca de uma hora, depois melhorava com o decorrer do dia. Ela até brincou que “as mãos precisavam aquecer no início do dia” e mostrou que seu polegar parecia uma letra “Z”! Tem também observado ao longo dos últimos oito meses, fadiga, uma sensação de febre leve (esse sintoma se iniciou há cerca de três semanas) e, todos esses sintomas têm atrapalhado a sua vida cotidiana e profissional. Relata leve formigamento no 4º e 5º metacarpos e falanges nas duas mãos quando precisa digitar por um período prolongado. Não tem Diabetes mellitus, hipertensão, não utiliza medicamentos, não teve internações e cirurgias anteriores, transfusões sanguíneas e/ou contato com pessoas com doenças infectocontagiosas. Pais saudáveis e vivos, sem problemas de saúde, nega doenças familiares em seu histórico. “Bebe apenas socialmente”, no entanto é fumante (1 maço/dia) há 30 anos. Esse é o seu único vício: não usa drogas ilícitas, tem alimentação boa, no entanto é sedentária. No exame osteomotor apresentou um pouco de dificuldade em realizar movimentos de flexão e extensão das articulações metacarpofalangeanas e interfalangeanas, em ambas as mãos. Ao teste do squeeze (teste do aperto) sentiu intensa dor.

Qual deve ser o provável diagnóstico e quais os exames que devem ser solicitados para o correto diagnóstico da paciente?

Resolução da situação-problema

O grupo de imunofarmacologia discutiu que para iniciar o diagnóstico do caso em questão, eles deveriam ficar atentos para o sintoma-guia relatado pela paciente, que nesse caso foi a dor em articulações metacarpofalangeanas, de forma simétrica que aliviava com o uso de anti-inflamatórios. Esse quadro é característico de artrite reumatoide! Além disso, outro sintoma bem típico da doença relatado é a rigidez matinal e sensação febril, fora o polegar em Z, que é característico da mão reumatoide. Outros fatos que corroboram a artrite reumatoide: a doença é mais frequente em pacientes do sexo feminino e na faixa etária da paciente relatada no

caso clínico. Além disso, a paciente é fumante e, de acordo com a literatura, há evidências de que o tabagismo está relacionado a uma maior incidência dessa doença. Para o correto diagnóstico da doença, Helen destacou ainda a requisição de radiografias e do fator reumatoide sérico, além de exames que avaliam processos inflamatórios como o teste da proteína C reativa (PCR) e velocidade de hemossedimentação.

Faça valer a pena

1. A artrite reumatoide é uma doença crônica, havendo um processo inflamatório afetando várias articulações, principalmente nas mãos e punhos, sendo que entre os sintomas mais comuns são os relacionados com a inflamação (dor, edema, calor e vermelhidão). O comprometimento da coluna lombar e dorsal é raro, no entanto a coluna cervical é frequentemente envolvida. As articulações inflamadas provocam rigidez matinal, fadiga e com a progressão da doença há destruição da cartilagem articular e os pacientes podem desenvolver deformidades e incapacitação para a condução de atividades diárias tanto na vida cotidiana como profissional.

Em pacientes com artrite reumatoide crônica, o diagnóstico de Síndrome de Felty é feito quando há:

- a) Ceratoconjuntivite e esplenomegalia.
- b) Esplenomegalia e neutropenia.
- c) Pleurite e ceratoconjuntivite.
- d) Hepatomegalia e episclerite.
- e) Eplisclerite e vasculite.

2. A diabetes mellitus resulta de defeitos de secreção e/ou atividade da insulina envolvendo processos patológicos característicos, tais como a destruição das células pancreáticas responsáveis pela síntese de insulina, resistência periférica à ação da insulina, distúrbios da secreção da insulina, entre outros fatores.

A diabetes pode ser classificada em diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 e diabetes gestacional. Assinale a alternativa que corresponde à diabetes do tipo 1:

- a) Destruição de células pancreáticas por processo autoimune, anteriormente conhecida como diabetes juvenil, nesses casos, a administração de insulina é necessária para prevenir cetoacidose, coma e morte.

- b) Resulta da sensibilidade diminuída à insulina, anteriormente denominada como diabetes do adulto, compreendendo cerca de 90% do total de casos.
- c) Diabetes não insulino dependente.
- d) A etiologia da doença é desconhecida, não tendo uma predisposição genética e fatores ambientais relacionados.
- e) O intuito é manter com o tratamento, a glicemia mais próxima das condições fisiológicas, ou seja, manter os eventos hipoglicêmicos.

3. A anemia hemolítica autoimune (AHA) é caracterizada pela destruição precoce dos eritrócitos devido à fixação de imunoglobulinas e/ou complemento na superfície da membrana eritrocitária.

Em relação às anemias hemolíticas autoimunes, considere as seguintes afirmativas:

1. O teste de Coombs direto demonstra a presença de anticorpos humanos ou de complemento fixados na superfície dos eritrócitos. Um resultado negativo descarta a hipótese de anemia hemolítica autoimune.
2. Anticorpos da classe IgG são os principais responsáveis pela anemia hemolítica autoimune, denominados como anticorpos a quente.
3. A metildopa pode induzir a formação de autoanticorpos que reagem contra antígenos eritrocitários, geralmente relacionados ao grupo sanguíneo Rh.
4. A administração de penicilina em altas doses pode provocar hemólise extravascular por síntese de anticorpos dirigidos contra a penicilina ligada às proteínas da membrana da hemácia.

Assinale a alternativa correta:

- a) Apenas a afirmativa 1 é verdadeira.
- b) Apenas a afirmativa 2 é verdadeira.
- c) Apenas as afirmativas 1, 2 e 3 são verdadeiras.
- d) Apenas as afirmativas 2, 3 e 4 são verdadeiras.
- e) Todas as afirmativas são verdadeiras.

Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia básica**. Funções e distúrbios do sistema imunológico. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, 354 p.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. Imunologia básica. **Funções e distúrbios do sistema imunológico**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, 354 p.

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. **Imunologia básica**. Funções e distúrbios do sistema imunológico. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, 354 p.

BORBA, Eduardo Ferreira et al. Consenso de Lúpus Eritematoso Sistêmico. **Rev. Bras. Reumatol.** 2008, v. 48, n. 4, p. 196-207. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbr/v48n4/v48n4a02.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

GOELDNER, Isabela; SKARE, Thelma L; REASON, Iara T. de Messias; UTIYAMA, Shirley Ramos da Rosa. **Artrite reumatoide**: uma visão atual. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** 2011, v. 47, n. 5, p. 495-503. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v47n5/v47n5a02.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2018.

GREENE, Russell J.; HARRIS, Norman D. **Patologia e terapêuticas para farmacêuticos**: bases para a prática da farmácia clínica. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012, 930 p.

SESTERHEIM, Patricia; SAITOVITCH, David; STAUB, Henrique. Diabetes mellitus tipo 1: multifatores que conferem suscetibilidade à patogénia autoimune. **Scientia Medica**. 2007, Porto Alegre, v. 17, n. 4, p. 212-217.

Imunidade, sorologia e diagnóstico laboratorial

Convite ao estudo

Caro aluno, neste momento estamos iniciando o estudo sobre imunidade, sorologia e diagnóstico laboratorial. Vale ressaltar que o processo diagnóstico inicia-se com a anamnese do paciente seguido do exame físico. Os testes laboratoriais têm por objetivo estabelecer ou complementar um diagnóstico clínico, iniciado a partir da descrição obtida na anamnese e por dados de exame físico. A possibilidade ainda de prever o risco de desenvolvimento de doenças, bem como o de auxiliar no acompanhamento e prognóstico de algumas doenças, permite que o exame laboratorial seja uma ferramenta primordial para a determinação de condutas adequadas.

Para que as metodologias utilizadas no laboratório clínico tenham mérito na área de saúde, estas devem preencher alguns requisitos básicos que garantam a confiabilidade dos resultados obtidos nas amostras biológicas. Iremos entender que essas características são enumeradas como parâmetros de desempenho e envolvem os conceitos de exatidão, precisão, sensibilidade, especificidade, valores de referência, limite de detecção, interferentes, estabilidade de reagentes, interação com amostras, reações cruzadas, dentre outros fatores.

A inovação na área diagnóstica é constantemente aprimorada, com avanços em diagnósticos moleculares sendo aos poucos implantados nos laboratórios de análises clínicas. Nessas inovações, um fato deve merecer atenção: não se deve implantar um novo sistema diagnóstico no laboratório sem que haja, previamente à sua inserção na rotina diagnóstica, um estudo completo principalmente

relacionado com a análise do desempenho da nova metodologia em comparação com as outras. Iremos aprender sobre as diferentes técnicas usando marcadores radioativos, imunoenzimáticos e por microscopia (imunofluorescência).

Faremos, experimentalmente, alguns métodos de diagnóstico laboratorial, alguns que têm por objetivo a dosagem da proteína C reativa, a determinação do fator reumatóide e a detecção da antiestreptolisina O, assim como a determinação de grupos sanguíneos. Para compreendermos o assunto, e atingirmos as competências e os objetivos da disciplina, continuaremos acompanhando nas situações problemas alguns casos hipotéticos para que você se aproxime dos conteúdos teóricos juntamente com a prática.

No decorrer deste livro didático, iremos trabalhar com situações que podem ocorrer em um laboratório de análises clínicas, interferindo no resultado final da análise e, juntos, buscar soluções e práticas adequadas. Vamos lá!

Seção 2.1

Conceitos de imunidade e introdução à sorologia

Diálogo aberto

Caro aluno, você se lembra do Laboratório de Imunofarmacologia e da nossa estudante de farmácia? Helen Aparecida, durante a continuidade do seu estágio no Laboratório de Imunofarmacologia, foi incumbida de apresentar para o grupo de pesquisadores a validação de um imunoenensaio. O pesquisador responsável pelas investigações científicas tenta validar um imunoenensaio e, para isso, explicou para a Helen que é necessário verificar se os valores obtidos estão **precisos** e corretos. Esse processo de validação de um ensaio usualmente ocorre em fases, sendo que na primeira etapa são avaliadas a **sensibilidade** e a **especificidade** do teste e, a segunda investiga-se a **exatidão** do imunoenensaio comparando-o com métodos de referência. Um objetivo usual é obter resultados do teste com o mínimo de manipulação da amostra. A fase final da validação é simplesmente a aplicação clínica do imunoenensaio com o intuito de verificar se ele fornece os dados desejados nas condições almejadas. Assim, chegamos a situação-problema desta seção.

O pesquisador orientou que Helen fizesse um resumo explicando as palavras destacadas em negrito. Vamos ajudá-la nesse trabalho? O que significam os termos precisão, sensibilidade, exatidão e especificidade no ambiente laboratorial?

Não pode faltar

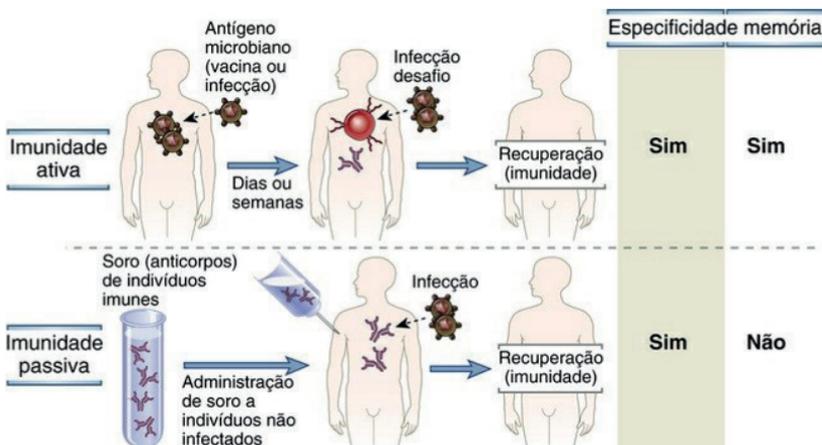
Imunidade ativa e passiva: conceito, mecanismos e propriedades

Vamos relembrar que a imunidade ativa ocorre quando o próprio sistema imune do indivíduo, em contato com um antígeno (substância estranha ao organismo), responde sintetizando anticorpos e células do sistema imunológico (linfócitos T). Dessa forma, as duas formas de se adquirir uma imunidade do tipo ativa é contraindo uma doença (o que foi explicado na sentença anterior) e/ou através da vacinação. Geralmente esse tipo de imunidade

permanece por vários anos, ao contrário da imunidade passiva, que é induzida pela administração de anticorpos contra uma infecção específica e dura apenas algumas semanas.

A imunização passiva pode ser obtida de maneira natural ou artificial; a imunização passiva natural é aquela conferida ao recém-nascido através da passagem de anticorpos do tipo IgG pela placenta, protegendo a criança contra determinadas infecções bacterianas e virais. Essa proteção irá diminuindo ao longo dos primeiros meses de vida, desaparecendo até os 15 meses de idade. Além disso, anticorpos do tipo IgA não atravessam a placenta, mas estão presentes no leite materno, especialmente no colostro. E o que é a imunização passiva artificial? Ela pode ser do tipo heteróloga, obtida através da transfusão de anticorpos obtidos do plasma de animais previamente vacinados, ou homóloga, obtida através da transfusão de anticorpos, obtidos do plasma de seres humanos. A imunização do tipo homóloga é extraída de voluntários, sendo muito menos reatogênica do que os soros (imunização do tipo heteróloga, obtidos de cavalos). A Figura 2.1 resume as características relacionadas com a imunidade ativa e passiva.

Figura 2.1 | Imunidade ativa e passiva



Fonte: <<https://goo.gl/nrWjXr>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

E por que estamos relembrando esses conceitos em imunologia? Iremos abordar, desta unidade em diante, como são realizados os imunoensaios e, para isso, precisamos recapitular alguns conceitos. As técnicas imunológicas detectam a reação entre o antígeno e o anticorpo, e de acordo com esse princípio, qualquer substância que se comporte como um antígeno pode ser identificada por esses ensaios. O objetivo de um imunoensaio é que este consiga determinar com precisão a concentração do analito. Dessa forma, conceitos como sensibilidade, exatidão e precisão serão discutidos a seguir, tendo em vista o diagnóstico laboratorial das doenças imunes, infecciosas e virais. Reações cruzadas podem afetar a especificidade de um imunoensaio, pois correlaciona-se com o grau que outros analitos reagem de forma cruzada no imunoensaio, interferindo em sua especificidade.

Sorologia: sensibilidade, especificidade, eficiência e prevalência

A evolução do conhecimento na área de saúde levou ao aperfeiçoamento do diagnóstico clínico laboratorial, além da necessidade da utilização de exames laboratoriais para confirmar ou eliminar uma hipótese diagnóstica, conseqüentemente exigindo testes que estabeleçam com precisão e exatidão um diagnóstico. Um laboratório de análises clínicas precisa trabalhar em condições adequadas, com reagentes de qualidade, técnicas de diagnóstico precisas, profissionais qualificados, equipamentos vistoriados em termos de calibração, além da realização de controle de qualidade interna e externa. Essas características, intrínsecas à qualidade laboratorial, permitem que a hipótese diagnóstica seja ou não confirmada pelo resultado no exame laboratorial, tornando-se essencial que os testes tenham alta sensibilidade e especificidade, sejam reprodutíveis e precisos. Por que isso é necessário? Os métodos empregados nos laboratórios devem garantir que os exames sejam capazes de quantificar ou detectar substâncias, fornecendo indicações fundamentais sobre uma doença, estado de saúde, como deve ser a condução terapêutica assim como o monitoramento da doença. Os principais marcadores usados para acusar a confiabilidade de um exame laboratorial são a especificidade, a sensibilidade, a exatidão e a precisão. E o que eles indicam? A exatidão e a precisão sinalizam a qualidade diária das metodologias

realizadas; por outro lado, a especificidade e a sensibilidade mostram como o teste é capaz de diferenciar a doença em relação à ausência de doença. Mas você sabe o significado desses termos?

- **Reprodutibilidade ou precisão:** é a capacidade do exame em obter resultados consistentes. Em outras palavras, é ter repetibilidade quando realizados em mais de uma vez e sob as mesmas condições de procedimentos. Essa característica é importante em todos os testes laboratoriais, sejam bioquímicos ou imunológicos.
- **Sensibilidade:** é a habilidade que um teste tem em discriminar, entre as diferentes hipóteses diagnósticas, as amostras efetivamente positivas. Em outras palavras, a sensibilidade expressa a “positividade na doença”.
- **Especificidade:** é a capacidade que o mesmo teste tem em ser negativo, tendo em vista uma amostra de indivíduos que comprovadamente não tem a doença em questão. Em outras palavras, é a negatividade em pessoas saudáveis.
- **Exatidão:** uma metodologia é considerada exata quando o valor do resultado tem um número próximo do valor absoluto verdadeiro comparativamente com uma amostra avaliada. Esses resultados devem ser comparados com valores conhecidos obtidos de controles positivos e negativos.

Outros fatores relacionados com a qualidade de um diagnóstico são a incidência e a prevalência. A incidência sinaliza o número de casos novos ocorridos em um determinado período de tempo em uma população específica. Por outro lado, a prevalência indica o número de casos (antigos e novos) verificados em uma população específica em um determinado período de tempo.



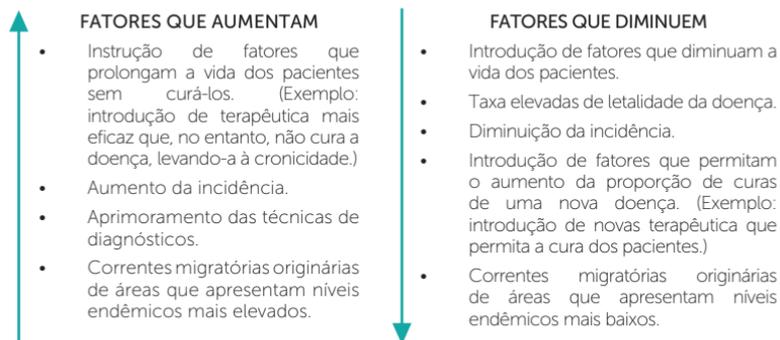
Refleta

Visto que a prevalência pode ser influenciada por muitos fatores que não estão diretamente relacionados às causas da doença – nas investigações sobre prevalência –, geralmente não são relatados os fatores de causalidade. No entanto, os estudos de prevalência são úteis na avaliação de medidas necessárias na área de saúde. Tais

ações podem ser preventivas ou curativas, assim como são usadas para o planejamento de serviços. A Figura 2.2 apresenta os fatores que aumentam ou diminuem a incidência de doenças. Reflita se esses fatores têm influência também sobre a prevalência de doenças.

Figura 2.2 | Fatores que influenciam a incidência de doenças

Figura 3 Fatores que influem na magnitude das taxas de prevalência



Fonte: Disponível em: <<https://goo.gl/97bd25>>. Acesso em: 25 abr. 2018.



Exemplificando

A relação entre incidência e prevalência varia entre as doenças e, desta forma, doenças como o diabetes podem apresentar baixa incidência e alta prevalência. Por outro lado, o resfriado, em determinado período, apresenta alta incidência e alta prevalência. E por que essas diferenças? Isso porque o resfriado ocorre com maior frequência do que o diabetes, mas em um curto período do ano, enquanto que o diabetes aparece com menor frequência, mas por um longo período. Essas são, basicamente, as diferentes maneiras de quantificar a ocorrência de doenças nas populações.

Sorologia limiar de reatividade e reprodutibilidade

Quando um teste sorológico é padronizado, é preciso estabelecer o limiar de reatividade dos soros. E o que significa esse limiar de reatividade? É o valor do teste acima do qual os resultados serão considerados como positivos e indicam o quadro de doença e,

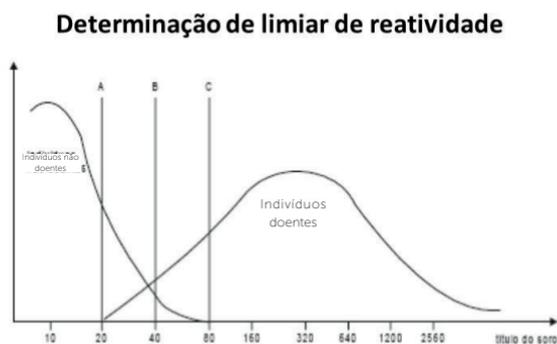
abaixo desse valor, os resultados serão considerados como negativos e indicam o quadro de ausência da doença. Em sorologia, isso é obtido através da diluição limite ou *cut-off*, e para se estabelecer esse limite, deve-se saber inicialmente qual a finalidade para que o exame seja padronizado: identificação de casos, no diagnóstico clínico-laboratorial, no estabelecimento de cura, se o objetivo será triagem etc. E, dessa forma, tendo em vista o objetivo para cada um dos casos descritos, o valor de *cut-off* irá variar. Como exemplo, para fins de triagem em bancos de sangue, o teste deve distinguir os verdadeiros positivos assim como os falsos negativos e, desta forma, o reagente utilizado deverá ter o máximo de sensibilidade.



Assimile

Assimile mais sobre a importância do estabelecimento de valores de *cut-off* analisando a Figura 2.3. De acordo com o objetivo da análise (triagem, estudos epidemiológicos ou diagnóstico), o valor do limiar de reatividade será variável.

Figura 2.3 | Determinação do limiar de reatividade



A – Limiar de máxima sensibilidade - triagem

B – Limiar com máximas sensibilidade e especificidade – estudos epidemiológicos

C – Limiar de máxima especificidade – diagnóstico

Fonte: <<https://goo.gl/88Tmk3>>. Acesso em: 25 abr. 2018.

Introdução ao diagnóstico molecular das doenças infecciosas

Nos últimos anos, os avanços conquistados têm sido significativos em relação ao genoma de diversos organismos e a participação dos genes nas doenças. Conseqüentemente, tem sido possível a aquisição de conhecimentos significativos das enfermidades; esse melhor entendimento das doenças, principalmente relacionado à patogênese, permite a descoberta de métodos alternativos de tratamento assim como métodos de diagnóstico molecular.

Diversas doenças genéticas e infecciosas são agora conhecidas pela facilidade com que foram obtidos avanços na manipulação dos ácidos nucléicos (DNA e RNA). O diagnóstico de uma doença infecciosa pode ser conseguido pela detecção direta do agente causador ou, indiretamente, pela detecção da presença de antígenos ou anticorpos em amostras do paciente através de análises imunológicas. Os métodos clássicos de diagnóstico, tais como o cultivo celular, imunológicos ou através da microscopia apresentam algumas limitações, tais como a sensibilidade baixa ou a incapacidade de distinguir um doente de uma pessoa imunizada (por exemplo, a tuberculose). Essas limitações podem ser minimizadas com a utilização de técnicas moleculares que buscam identificar o agente infeccioso reconhecendo seu genoma.

Diversos testes baseados em análises moleculares utilizados para o diagnóstico de doenças infecciosas já estão disponíveis no mercado laboratorial, tais como o diagnóstico da tuberculose, hepatite C, HIV (vírus da imunodeficiência humana) e HPV (vírus do papiloma humano). O principal método de diagnóstico molecular é a reação da cadeia da polimerase (PCR) que tem se consolidado tanto no diagnóstico quanto no monitoramento da doença. Essa técnica baseia-se na multiplicação *in vitro* de fragmentos de DNA, usando uma enzima termo-resistente (DNA polimerase termo-resistente).

Uma região do DNA que tenha sido submetida a uma amplificação por PCR pode ter um aumento em até um milhão (10^6) o número de cópias presentes na amostra do paciente. Isso aumenta muito a sensibilidade do teste e é ideal para os testes de diagnóstico realizados com número reduzido de microrganismos. Desta forma, a utilização de novas metodologias de biologia molecular na rotina laboratorial têm sido importante, tendo em vista os resultados conquistados.

No entanto, sempre que possível, o ideal é que a definição do diagnóstico seja realizada comparando-se os resultados obtidos por novas técnicas com os resultados das metodologias usualmente realizadas no diagnóstico do agente infeccioso.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre o desenvolvimento de métodos de diagnósticos mais precisos lendo o artigo intitulado *Avanços biotecnológicos para o diagnóstico das doenças infecciosas e parasitárias*. Acesse o link e veja como técnicas diagnósticas decorrentes dos avanços na área de biologia molecular podem produzir resultados confiáveis em poucos minutos ou em algumas horas.

Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/viewFile/4026/3601>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

Pesquise mais sobre a técnica de PCR assistindo a vídeo aula:

Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=5YlfZwzRPa4>>.

Acesso em: 24 abr. 2018.

Sem medo de errar

Você se lembra que a Helen precisava resumir os conceitos básicos usados na validação de um imunoenensaio? Ela irá apresentar essas terminologias em um seminário para o grupo pertencente ao Laboratório de Imunofarmacologia. Por isso ela fez o seguinte resumo:

- Precisão: uma técnica é considerada precisa quando uma grande quantidade de análises é realizada repetidamente com uma mesma amostra e fornece resultados semelhantes.
- Exatidão: uma técnica é considerada exata quando o valor do resultado tem um valor aproximado ao verdadeiro para a amostra analisada. Isso é obtido comparando uma amostra

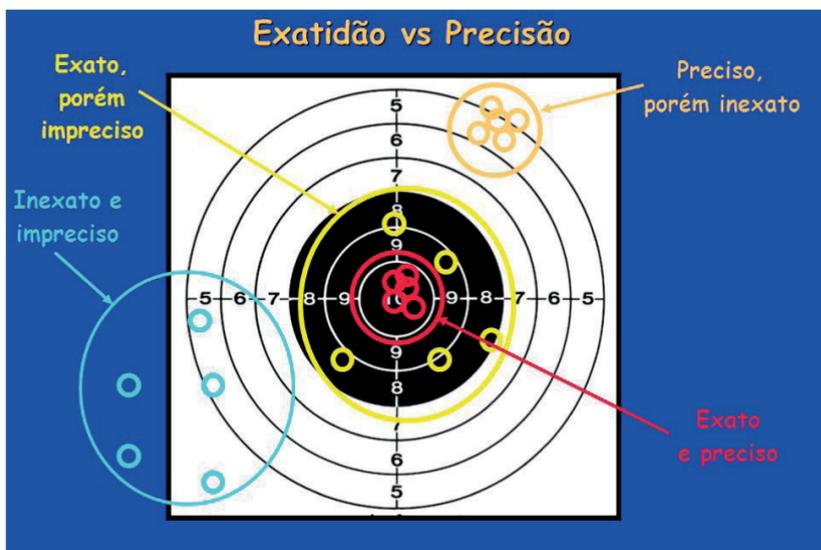
desconhecida com valores conhecidos provenientes de controles positivos e negativos.

- Sensibilidade: é a capacidade que um teste tem em diferenciar, dentre os suspeitos de uma patologia, aqueles efetivamente doentes, ou seja, a “positividade na doença”.

- Especificidade: é a capacidade que o mesmo teste tem de ser negativo, em vista de uma amostra de indivíduos que reconhecidamente não têm a doença, ou seja, é a “negatividade na saúde”.

Helen também fez um esquema para melhorar o entendimento da diferença entre exatidão e precisão (Figura 2.4), fazendo uma analogia com tiros a um alvo.

Figura 2.4 | Exatidão versus precisão



Cultivo de micobactérias ou análises moleculares?

Descrição da situação-problema

No estágio no laboratório de imunofarmacologia, Helen estava auxiliando nos testes diagnósticos para a identificação de tuberculose. O laboratório estava comparando a cultura de escarro com a análise pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Nessa avaliação comparativa eles tinham os seguintes dados: os testes utilizando a técnica de PCR em tempo real apresentavam sensibilidade e especificidades próximas a 99%, valores esses encontrados quando realizados a partir de amostras com baciloscopia positiva. Entretanto, em amostras em que a baciloscopia foi negativa, a sensibilidade dos testes por PCR não ultrapassou 70% nas análises realizadas com o mesmo material. E o que isso significa? Um resultado negativo não exclui a hipótese diagnóstica, por isso é recomendado o isolamento em cultura, que ainda é o exame mais sensível para o diagnóstico das infecções provocadas por micobactérias. A desvantagem do isolamento em cultura de micobactérias é a demora na obtenção dos resultados, tendo em vista que o crescimento de bactérias do tipo *Mycobacterium tuberculosis* é lento. E quais são as vantagens da técnica de PCR? Esse é o questionamento de Helen!

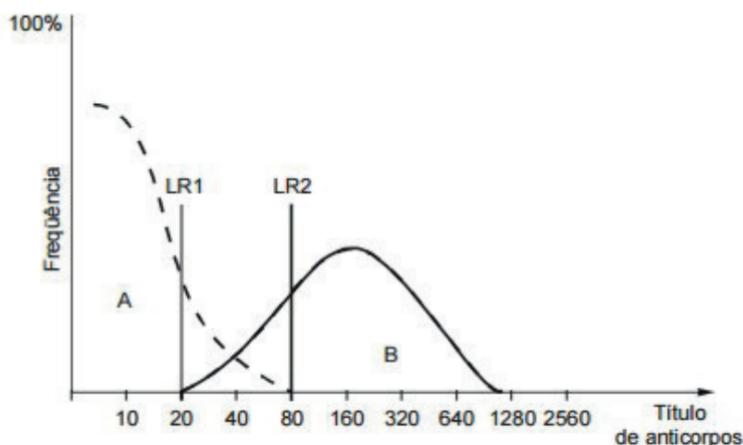
Resolução da situação-problema

Nesse contexto observado no Laboratório de Imunofarmacologia, Helen constatou que as técnicas de Biologia Molecular têm sido cada vez mais usadas como testes complementares, uma vez que são satisfatoriamente sensíveis. Fora essa vantagem, a identificação da bactéria é muito mais rápida por PCR do que o isolamento em cultura. Assim, pode-se dizer que a vantagem da realização da PCR para *Mycobacterium tuberculosis* em amostras biológicas obtidas de vias aéreas, em conjunto com as técnicas microbiológicas, é a associação de uma técnica mais sensível que a baciloscopia e que, ao contrário desta, é capaz de confirmar o agente etiológico em bem menos tempo que a cultura celular.

Faça valer a pena

1. Em exames de diagnóstico laboratorial é conveniente estabelecer um limiar de reatividade (LR) ou *cut-off* para determinar a sensibilidade e especificidade do método em estudo. Uma análise laboratorial perfeita seria aquela, sem falsos positivos e falsos negativos, o que não existe na prática clínico-laboratorial. De acordo com o objetivo da análise, devem ser usados valores de limiar de reatividade (LR) diferentes.

O gráfico apresenta a distribuição de títulos de anticorpos provenientes de indivíduos sadios (A) e doentes (B).



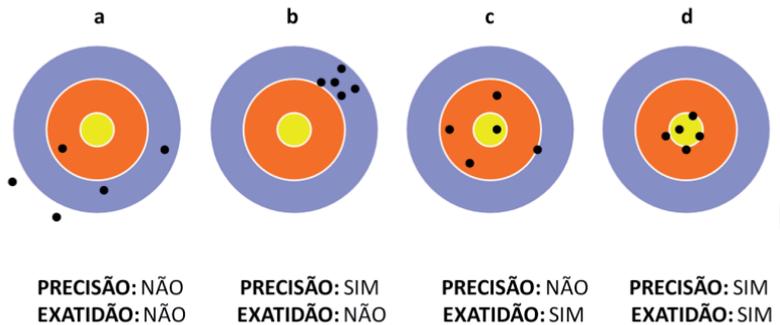
Fonte: <<http://papaprova.com/uploads/20150422/novo-12.jpg>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

De acordo com a análise do gráfico, marque a alternativa correta:

- a) Em bancos de sangue o teste necessita apresentar maior sensibilidade e LR1 diminui a chance de resultados falsos positivos.
- b) Em laboratórios clínicos o teste necessita apresentar maior sensibilidade e LR2 diminui a chance da obtenção de falsos negativos.
- c) Em bancos de sangue o teste necessita apresentar maior sensibilidade e LR1 diminui a chance da obtenção de falsos negativos.
- d) Em laboratórios clínicos o teste necessita apresentar maior especificidade e LR2 diminui a chance da obtenção de falsos negativos.
- e) Em bancos de sangue o teste necessita apresentar maior especificidade e LR1 diminui a chance da obtenção de falsos positivos.

2. Visto que uma única análise não garante informações sobre a variabilidade dos resultados, geralmente os analistas clínicos utilizam entre 2 e 5 replicatas de uma amostra para realizar uma análise laboratorial. A reprodutibilidade das medidas é designada como precisão. Por outro lado, a exatidão é a proximidade de um dos valores medido comparativamente com um valor verdadeiro determinado através de uma amostra conhecida (controle positivo).

Figura 2.5 | Exatidão versus precisão



Fonte: <<https://goo.gl/37TXa1>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

Usando a analogia dos dardos, identifique os que indicam baixa exatidão e alta precisão:

- a) Somente o observado na figura (a).
- b) Somente o observado na figura (b).
- c) Somente o observado na figura (c).
- d) Somente o observado na figura (d).
- e) Observados nas figuras (a) e (b).

3. Em testes laboratoriais, a técnica de amplificação de DNA utilizando a reação da polimerase em cadeia é muito usada. No diagnóstico de infecção viral, por um determinado vírus, essa metodologia permite a amplificação específica do material gênico viral.

Como a especificidade da reação pode ser garantida?

- a) Através das temperaturas utilizadas na reação, as quais permitem a amplificação apenas do DNA do vírus.

- b) Pela DNA polimerase viral, que irá amplificar a sequência do DNA viral.
- c) Através de nucleotídeos e tampões utilizados, que irão reconhecer o DNA do vírus.
- d) Através da coloração final da reação, que irá corar apenas o DNA viral.
- e) Através dos nucleotídeos iniciadores, que são complementares à sequência do DNA do vírus.

Seção 2.2

Técnicas de laboratório comumente utilizadas em imunologia

Diálogo aberto

Caro aluno, você se lembra do Laboratório de Imunofarmacologia e da nossa estudante de farmácia, a Helen? Ela continua sendo estimulada a entrar em contato com diversas metodologias de estudo na área imunológica! Agora ela terá que pesquisar sobre uma técnica chamada ELISA. E o que significa essa sigla? ELISA – *Enzime Linked Immuno Sorbent Assay*, também conhecido como ensaio imunoenzimático. Em biologia e em biotecnologia é um ensaio utilizado para detectar e quantificar antígenos e anticorpos presentes em uma determinada mistura em pequenas concentrações. Na validação do teste de ELISA são usados os parâmetros que Helen investigou na seção anterior (linearidade, precisão, limite de detecção, sensibilidade e especificidade). Além disso, os testes do tipo ELISA podem ser categorizados segundo o tipo de reação em: indireto, direto ou sanduíche, competitivo (antígeno marcado e anticorpo marcado) e de terceira geração. Helen já sabe que os testes diagnósticos atuais, para a pesquisa de HIV usam o teste ELISA de terceira geração.

O pesquisador principal do grupo de imunofarmacologia solicitou que a Helen fizesse um pôster explicando a metodologia do tipo ELISA para os outros integrantes do grupo. Ele explicou que ela poderia usar esquemas demonstrando:

- Como é o ensaio do tipo ELISA?
- Vantagens e desvantagens.
- O que pode ser quantificado no ensaio e quais as doenças que podem ser identificadas?

E agora? Helen está animada em fazer esse pôster informativo! Vamos ajudá-la?

Métodos de diagnóstico: conceito, classificação, importância e propriedades

O diagnóstico diferencial de um quadro infeccioso é alcançado pela demonstração do patógeno ou de seus metabólitos nos tecidos ou fluidos biológicos dos hospedeiros, entretanto, essa constatação nem sempre é conseguida, seja pela ausência do agente infeccioso, seja pela ineficácia na sensibilidade dos testes usados, dentre outros fatores. Desta maneira, os ensaios imunológicos diretos ou indiretos têm sido amplamente difundidos com o intuito de suprirem as deficiências em outros métodos, pesquisando a presença de antígenos, anticorpos ou imunocomplexos. E as vantagens são a rapidez, a facilidade na execução, a capacidade de automação e valor econômico adequado.

A realização adequada, assim como a interpretação correta dos testes sorológicos constituem ferramentas fundamentais para clínicos, patologistas e pesquisadores, na obtenção do diagnóstico correto. Na identificação de anticorpos, os testes sorológicos têm sido usados de forma satisfatória, auxiliando no diagnóstico individual ou em investigações epidemiológicas. Desta forma, os testes sorológicos são fundamentais na elucidação de processos patológicos com sintomas e sinais clínicos confusos. Com isso, podemos citar alguns exemplos, como a toxoplasmose e mononucleose infecciosa, as hepatites B e C, quadros alérgicos com dermatovirose, dentre outros.

De forma individual, o encontro de anticorpos específicos por ensaios padronizados assegura a definição específica da doença, assim como na diferenciação da fase da doença e na seleção de doadores de sangue e de doadores/receptores para transplante de órgãos. Além disso, a pesquisa de anticorpos específicos auxilia no diagnóstico de doença congênita, na avaliação de prognóstico de doenças, na avaliação da eficácia terapêutica e/ou do agravamento de uma determinada patologia, na avaliação da imunidade específica naturalmente adquirida ou artificialmente induzida. Além disso, de forma coletiva, é importante a pesquisa de anticorpos em inquéritos soro-epidemiológicos, visto que a prevalência de uma determinada doença pode ser determinada pela pesquisa de

anticorpos IgG em amostras de sangue coletadas com o intuito de serem utilizadas em investigações epidemiológicas. Outros usos e vantagens da utilização da pesquisa de anticorpos em inquéritos epidemiológicos: - verificar a erradicação de uma doença e, - reintrodução de novos casos em áreas consideradas erradicadas. Por outro lado, torna-se importante a pesquisa de antígenos em inquéritos epidemiológicos – na definição de um agente etiológico – como critério de cura, na triagem de doadores de sangue. O intuito é pesquisar o agente etiológico de uma doença passível de ser transmitida na transfusão sanguínea.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre Sorologia: Importância e Parâmetros, lendo o capítulo 1 do livro *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes: Correlações Clínico-Laboratoriais*. FERREIRA(2017, p.3-10).

As reações imunológicas baseiam-se na interação molecular entre antígeno e anticorpo nos testes de detecção de patologias em ensaios imunes usando substâncias não marcadas, capazes de detectar e quantificar os efeitos dessa interação molecular (reação antígeno-anticorpo). E quais são esses efeitos que podem ser observados? Precipitação, aglutinação e atividade hemolítica. Por outro lado, os testes que utilizam substâncias marcadas são capazes de detectar e quantificar diretamente a interação antígeno-anticorpo usando marcadores específicos, na maioria das vezes fluorescentes. Como exemplos desses testes, podemos citar os testes do tipo ELISA (*Enzyme Lynked Immunosorbent Assay*), imunohistoquímica, imunofluorescência, *Western blotting* e a citometria de fluxo.

Tanto a sensibilidade quanto a precisão dos diferentes tipos de imunoensaio variam bastante, assim como outras características inerentes a cada teste: a facilidade no manuseio, o prazo de validade e uma menor probabilidade de interferências no método. O avanço tecnológico tem permitido uma miniaturização dos ensaios, usando uma quantidade muito menor de amostras, entretanto, nesses micro-sistemas é necessário atentar quanto à especificidade e sensibilidade desses ensaios.

Aspectos gerais das técnicas de sorologia

A otimização dos imunoenaios permite a detecção de quantidades inferiores a 0.1 pg/mL de antígeno presente no sangue. Um resumo dos principais imunoenaios é mostrado no Quadro 2.1).

Quadro 2.1 | Classificação dos vários imunoenaios e suas características

	Indicadores (Grupos relacionados)	Separação L/F*	Deteção de sinal	Sensibilidade
Imunoenaios de precipitação	Não necessária	Não necessária	A olho nu, turbidez, nefrometria	~10µg/mL
Imunoenaios com partículas	Células sanguíneas, partículas artificiais (gelatina, partículas, látex, etc.)	Não necessária	A olho nu, analisador padrão, espectrofotometria, contagem de partículas	~ 5ng/mL
Radioimunoenaios	Radioisótopos (¹²⁵ I, ³ H)	Necessária	Contagem de fótons	~ 5pg/mL
Imunoenaios enzimáticos	Enzimas	Necessária	Espectrofotometria, fluorimetria, contagem de fótons	~ 0.1 pg/mL
Imunoenaios fluorescente	Fluoróforo	Necessária	Fluorimetria	~ 5pg/mL
Contagem quimioluminescente	Compostos quimioluminescentes	Necessária	Contagem de fótons	~ 5pg/mL

*A etapa de lavagem para separação de marcadores ligados em imunocomplexo dos marcadores livres. Os ensaios homogêneos incluídos não requerem separação L/F.

Fonte: McPherson(2016, p. 99).

Analisando o Quadro 2.1, podemos perceber que os imunoenaios de precipitação consistem no teste mais simples pelo qual antígenos e anticorpos reagem entre si sem a necessidade de utilizar indicadores para a detecção. O complexo antígeno-anticorpo resultante pode ser visualizado qualitativamente como um precipitado a olho nu ou quantitativamente utilizando um detector. Por outro lado, o imunoensaio de aglutinação de partículas, utiliza partículas inertes como indicadores, desta maneira, antígenos ou anticorpos ligados à partículas (hemácias, látex ou metal) unem-se com o analito na amostra. Nessa reação imune, as grandes partículas apresentam padrões de aglutinação significativa que podem ser visualizadas

a olho nu. As reações de aglutinação são muito empregadas no diagnóstico clínico laboratorial de doenças induzidas por vírus, bactérias, parasitas e fungos, doenças autoimunes, assim como na identificação de hormônios, na classificação dos grupos sanguíneos, entre outras utilizações.

Comparadas com a precipitação, os testes de aglutinação, embora sejam considerados como determinações semi-quantitativas, apresentam maior sensibilidade e necessitam de uma quantidade de anticorpos 500 vezes menor, visto que as partículas conseguem amplificar a reação. Vários fatores afetam a produção de agregados ou a formação da aglutinação, tais como o tipo do anticorpo (a classe IgM é 750 vezes mais eficiente do que IgG), eletrólitos, pH (ideal entre 6 e 8), enzimas (impedem reações inespecíficas), tempo e temperatura. As reações de aglutinação são utilizadas para o diagnóstico laboratorial de doenças autoimunes, doenças causadas por vírus, bactérias, protozoários e fungos, na detecção de hormônios, na tipagem de grupos sanguíneos etc.



Exemplificando

Como exemplo de um teste de aglutinação temos a tipagem sanguínea:

Figura 2.6 | Tipagem sanguínea: sistema ABO

SORO anti-Rh	SORO anti-A	SORO anti-B	SORO anti-A anti-B	Tipo sanguíneo determinado pela AGLUTINAÇÃO das hemácias
				A Rh-
				B Rh+
				AB Rh-
				O Rh-

Fonte: <<https://goo.gl/7eJM5S>>. Acesso em: 21 maio 2018.

O desenvolvimento de radioimunoensaios utilizando radioisótopos como indicadores garantiu a detecção quantitativa de um nível bem pequeno, considerado como traços de analitos. Um exemplo de utilização de radioimunoensaio é a quantificação de insulina. Apesar da eficiência como método de detecção de quantidades mínimas de amostra/analito, novos métodos foram desenvolvidos com o intuito de substituir a utilização de radioisótopos (considerados perigosos para a saúde humana e ambiental).

Assim, o avanço tecnológico levou ao desenvolvimento de imunoensaios não radioativos que usam enzimas, indicadores fluorescentes e outros tipos de substâncias. O ensaio que utiliza indicadores como enzimas tem como vantagem o fato de as enzimas serem agentes que conseguem amplificar os sinais, constituindo a base dos imunoensaios enzimáticos. O aumento na sensibilidade foi obtido com a introdução de cromóforos, substâncias quimioluminescentes e fluoróforos, modificando a terminologia do ensaio para imunoensaio enzimático fluorescente ou quimioluminescente (utilizam como marcadores fluoróforos ou quimioluminescentes, respectivamente). No próximo tópico avançaremos nos conceitos e procedimentos relacionados com técnicas de sorologia específicos.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre "Testes Sorológicos", lendo o capítulo 1 do livro *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes: Correlações Clínico-Laboratoriais* (FERREIRA, 2017, p.13-41).

- Técnicas de sorologia: testes de marcadores radioativos, imunoenzimáticos, microscopia imunoelétrica.
- Testes com marcadores radioativos: como enfatizado anteriormente, o radioimunoensaio é um dos métodos mais sensíveis para a análise quantitativa das reações antígeno-anticorpo, tendo como principais vantagens a obtenção de medidas rápidas e precisas – mesmo em preparações não purificadas, além de possuir um limiar de detecção da ordem de nanogramas ou picogramas. Como desvantagens, podemos destacar o elevado custo do teste, a meia-vida dos reagentes e o risco operacional. Apesar dessas

desvantagens, que são inerentes à utilização de radioisótopos, essa técnica ainda é muito utilizada na pesquisa, embora na prática laboratorial venha sendo substituída por ensaios que não utilizam substâncias radioativas. O radioimunoensaio tem ampla utilização nas áreas de toxicologia, imunologia, endocrinologia, imunologia, dentre outras. Desta forma, pode ser usado na dosagem de substâncias ilícitas, na pesquisa de alergênicos e anticorpos relacionados à alergia, na presença de antígenos e anticorpos em infecções virais e bacterianas, na quantificação de hormônios e fármacos etc. Existem diferentes tipos de radioimunoensaios, mas o princípio do ensaio é o mesmo: a quantidade de reagente marcado, seja um antígeno ou anticorpo, quantifica o antígeno ou anticorpo não marcado na amostra. O anticorpo utilizado pode tanto ser um anti-soropoliclonal preparado através de imunização com a substância que se quer quantificar purificada, ou pode ser um anticorpo monoclonal sintetizado in vitro. Quanto aos radioisótopos utilizados eles devem possuir uma meia-vida compatível com o teste usado, e os mais empregados na área imunológica são o ^{125}I (1/2 vida de 57.5 dias) e ^{131}I (1/2 vida de 8 dias). Para a realização de ensaio utilizando ligantes, o radioimunoensaio possui três etapas: confecção da curva de calibração, a interpolação dos resultados e o controle de qualidade, sendo que esses estágios são comuns a todos os testes que utilizam ligantes. A curva de calibração é confeccionada a partir de diluições sucessivas da substância a ser determinada (são conhecidos como padrões ou calibradores). A quantificação da resposta é realizada por contagem radioativa, cuja técnica depende do tipo de radiação emitida. No caso de radiações alfa e beta, é utilizado um contador de cintilações e, no caso de radiações gama, um contador gama de cristal sólido. A partir da construção da curva de calibração, que informa a relação entre a concentração do calibrador e a resposta observada com a amostra analisada. Da mesma forma que ocorre na maioria dos ensaios laboratoriais, para minimizar os erros, os resultados devem ser verificados através de limites de confiança estatisticamente definidos. Além disso, como medida adotada como controle de qualidade, é importante a realização de controles esporadicamente, com a inclusão de amostras de concentração conhecida em cada bateria de ensaios (controles positivos e negativos). Uma etapa crítica no radioimunoensaio é a separação das frações livre e

ligada da substância marcada, existindo diversos métodos para essa separação, sendo empregados a imunoprecipitação, a separação química e a utilização de técnicas com adsorventes diversos (resinas, talco, celulose, sílica etc.).

- Testes imunoenzimáticos: os testes imunoenzimáticos são baseados no uso de antígenos ou anticorpos marcados com enzimas, permitindo a detecção, titulação e quantificação de agentes diversos. Dessa forma, diversos testes imunoenzimáticos foram incrementados com o intuito de localizar constituintes celulares, medir pequenas quantidades de antígenos, anticorpos e haptenos e detectar imunoprecipitados. No emprego dessas reações imunoenzimáticas, vários fatores são fundamentais para o sucesso do ensaio, dentre eles a eficiência do conjugado empregado, antígeno/anticorpo, enzima e um processo satisfatório de conjugação. Para localizar constituintes celulares, a técnica utiliza o mesmo princípio dos testes de imunofluorescência, sendo que ao invés de se utilizar um fluoróforo, usa-se um sistema enzimático que possui maior capacidade de amplificação. Uma das enzimas utilizadas é a peroxidase, desta forma a enzima transforma o componente cromogênico (substrato + um doador de hidrogênio) em um produto insolúvel que formará um precipitado no meio da reação. Esses precipitados podem ser visualizados no microscópio óptico comum ou por microscopia eletrônica. A peroxidase é a principal enzima utilizada porque a coloração é fácil, fornecendo resultados satisfatórios e reprodutíveis, características fundamentais para um bom ensaio laboratorial. Entretanto, outras enzimas podem ser utilizadas na localização de antígenos, tais como a fosfatase alcalina e a glicose oxidase. Comparando com a imunofluorescência, o teste imunoenzimático ou da imunoperoxidase tem a vantagem de fornecer preparações duradouras e de não necessitar da microscopia de fluorescência.

- Microscopia imunoelétrica: A microscopia imunoelétrica é uma técnica fundamental para a identificação de antígenos e de anticorpos em nível ultra-estrutural, utilizando globulinas conjugadas a marcadores elétron-densos. Conseguem ser usados anticorpos policlonais ou monoclonais, assim como nas demais metodologias usadas para a pesquisa de antígenos. Os anticorpos policlonais apresentam maior sensibilidade, no entanto são menos específicos do que os monoclonais. Essa

inespecificidade ou reação de fundo é devido às reações dos anticorpos antissoro policlonais que reagem com outros antígenos, induzindo uma coloração de fundo. A sensibilidade do sistema utilizando anticorpos monoclonais pode ser aumentada usando misturas de anticorpos monoclonais dirigidos contra diferentes epítomos do antígeno. Da mesma forma que é necessária a utilização de um controle de qualidade em reações de imunocoloração, especialmente relacionadas com a especificidade das reações, na microscopia imunoelétrica, isso também é fundamental. Em relação aos microscópios eletrônicos, existem dois tipos: o microscópio eletrônico de transmissão, o qual projeta elétrons através de uma camada fina da amostra, formando uma imagem em duas dimensões na tela. Em contraste, o microscópio eletrônico de varredura forma uma imagem em três dimensões, através de detectores de elétrons que são produzidos quando os feixes de elétrons incidentes colidem com os átomos da amostra, obtendo-se imagens das estruturas abaixo da superfície, com resolução entre 50 e 200 nm.

- Padronização e controle de qualidade de reagentes e de provas imunológicas utilizadas em laboratório de análises clínicas: os testes sorológicos têm progredido e estão cada vez mais refinados e de execução simples. Porém, com o intuito de manter a qualidade dos resultados é necessário manter um controle bem rigoroso. Nesse sentido, as metodologias devem ser padronizadas, tendo atenção em relação à concentração do antígeno, à especificidade dos anticorpos, ao título dos conjugados, ao tempo, à temperatura e aos diluentes. Medidas visando o controle de qualidade são fundamentais para avaliar equipamentos, reagentes, conduta experimental, com o intuito de eliminar erros sistemáticos. Os ensaios devem ser avaliados de forma sistemática, utilizando-se amostras de painel de soros rigorosamente padronizados. As condições de realização dos imunoenaios e, de observação e interpretação dos resultados devem ser padronizadas em cada laboratório. O objetivo de um imunoenasão e/ou de um teste laboratorial é a quantificação precisa de um analito, sendo que, para esses testes, utilizam-se o termo potência estimada – é utilizada para estimar a concentração da substância a ser dosada em M, ng/mL, mUI/mL, como exemplos. Outras características importantes nas dosagens laboratoriais, incluindo os imunoenaios são a sensibilidade, especificidade e

exatidão (conceitos abordados na Seção 2.1 deste livro didático). A avaliação da qualidade em imunoenaios compreende a avaliação de que o teste conduzido encontra-se livre de erros sistemáticos, assim como a estimativa dos erros randômicos.



Refleta

Os laboratórios clínicos constituem um elo importante na rede de assistência à saúde, desempenhando, historicamente, um auxílio inestimado nas decisões clínicas. A complexidade na realização dos exames laboratoriais é compreendida quando se analisa o ambiente laboratorial, onde coexistem metodologias, equipamentos, tecnologia e suporte humano, com o intuito de fomentar resultados que direcionem decisões diagnósticas e terapêuticas. Desta forma, informações laboratoriais errôneas, induzidas por falhas no processo laboratorial e repassadas aos clínicos, afetam diretamente a conduta clínica, assim como os resultados da assistência e a segurança do paciente. Tendo em vista o exposto, reflita sobre a necessidade do controle de qualidade laboratorial, especificamente definindo e inter-relacionando os erros sistemáticos e randômicos.

Por consenso geral, a reação cruzada de uma substância em particular em um imunoenensaio é usualmente expressa em percentagem, desta forma, uma potência relativa de 0.01 significa 1% de reação cruzada. Quando determinamos a especificidade de um imunoenensaio, é fundamental que sejam criadas estratégias racionais para monitorar a reação cruzada.



Exemplificando

Com o intuito de exemplificar as reações cruzadas em um imunoenensaio para quantificar a testosterona, é primordial o conhecimento se o teste reage de forma cruzada com outros hormônios androgênicos (tais como o dehidroepiandrosterona, o androstenediona, o 5α -dihidrotestosterona e androstenediol), assim como com metabólitos do androgênio (tais como 5α -androstenediol, androsterona e eticolanolona), com precursores esteroidais (tais como colesterol, pregnenolona, progesterona, 17-hidroxipregnenolona e 17hidroxiprogesterona)

e esteróides pertencentes a outras classes que usualmente estão presentes em fluidos corporais como estrógenos, glicocorticóides e mineralocorticóides. Se o teste for utilizado para quantificar testosterona em pacientes que estejam fazendo uso de esteróides sintéticos, como anticoncepcionais e glicocorticóides sintéticos, a reação cruzada com estas substâncias também deve ser investigada. Se o teste for utilizado em uma situação específica, onde certos compostos estão presentes em altas concentrações, é fundamental que se demonstre que estes não são capazes de interferir cruzadamente com o analito. Um exemplo específico dessa situação pode ser descrita quando se usava o radioimunoensaio para quantificar a testosterona para diagnosticar o efeito das prostaglandinas na síntese de andrógenos: nesses casos era necessário comprovar que a testosterona podia ser medida com exatidão na presença de altas concentrações de prostaglandinas.

Substâncias presentes na amostra podem influenciar na estimativa de potência, e, em um imunoensaio, tudo que esteja presente na amostra diverso do analito forma o que denominamos como matriz da amostra. Matrizes comuns de amostra são o soro, o plasma, a saliva, a urina e extratos de tecidos. Os fluidos corporais são constituídos por um misto de substâncias que podem interferir com o imunoensaio de várias maneiras, tais como: competindo com o analito de forma não específica, promovendo um ligante competidor, como esteróides ou proteínas ligantes do hormônio da tireóide, interferindo com a ligação do analito ao anticorpo primário. Além disso, podem interferir com os reagentes utilizados para separar formas ligadas e livres e/ou por interferir com o método de detecção (radiométrico, fluorescente ou enzimático).

Essas matrizes influenciam de forma negativa os imunoensaios, levando a resultados imprecisos. Como saber se o imunoensaio fornece uma resposta confiável? Outras medidas para garantir a qualidade em um imunoensaio incluem o cuidado com a coleta da amostra (coleta adequada, identificação com dados precisos, acondicionamento adequado, dentre outros cuidados). Além disso, devem ser observadas as interferências relativas à amostra biológica que envolvem a observação se o material tem hemólise, se está lipêmico ou com excesso de bilirrubina. Em alguns desses casos é difícil a rejeição da amostra, pois essas alterações podem ser devido a algum estado patológico do paciente.

Em outras situações, tais como soro lipêmico, isso pode ser remediado através da centrifugação a alta velocidade do soro. Vale a pena destacar que o acondicionamento adequado dos kits, dentro dos prazos de validade e de acordo com as indicações do fabricante também são cuidados essenciais que influenciam na qualidade dos exames laboratoriais. Além disso, a utilização de padrões primários, secundários e materiais de referência nos imunoenaios.



Assimile

Assimile alguns conceitos relacionados imunodiagnósticos, especificamente entre a interação entre antígeno e anticorpo:

- Afinidade de um anticorpo é a força da reação entre um único determinante antigênico e um único sítio de combinação no anticorpo. Resulta das forças de atração e repulsão que operam entre o determinante antigênico e o sítio de combinação do anticorpo.
- Avidéz de um anticorpo resulta da força total de ligação de um antígeno contendo muitos determinantes antigênicos e anticorpos multivalentes. A avidéz é influenciada tanto pela valência do anticorpo como pela valência do antígeno.
- Especificidade se refere à habilidade de um local de combinação de anticorpo em particular de reagir com apenas um antígeno.
- Reatividade cruzada se refere à habilidade de um local de combinação de um anticorpo específico em interagir com mais de um determinante antigênico ou a habilidade de uma população de moléculas de anticorpos de reagir com mais de um antígeno.

Sem medo de errar

Nessa semana Helen teve que pesquisar sobre uma técnica chamada ELISA, que significa *Enzime Linked Immuno Sorbent Assay*, também conhecida como ensaio imunoenzimático. Helen já sabe que os testes diagnósticos atuais para a pesquisa de HIV usam o teste ELISA de terceira geração.

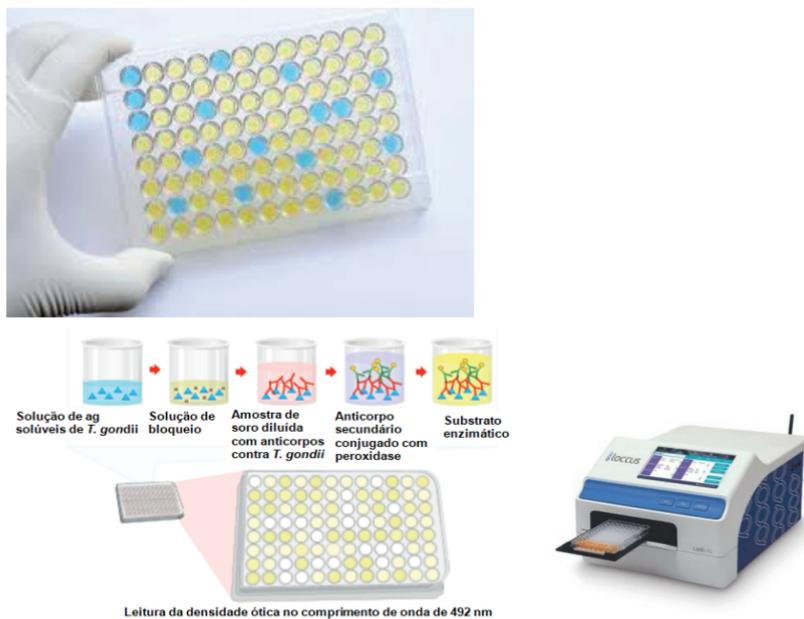
O pesquisador principal do grupo de Imunofarmacologia solicitou que Helen fizesse um pôster explicando a metodologia do

tipo ELISA para os outros integrantes do grupo. Ele explicou que ela poderia usar esquemas demonstrando:

Como é o ensaio do tipo ELISA?

Nesse método, uma enzima é covalentemente ligada a um anticorpo específico que reconhece um antígeno alvo; se houver esse reconhecimento a enzima irá reagir com um substrato incolor formando um **produto colorido**. Se o antígeno estiver presente, o complexo anticorpo-enzima irá ligar-se a ele e a enzima catalisará a reação. Desta forma, a presença de cor na reação indica a presença de antígeno (Figura 2.7). A ligação do antígeno ao anticorpo ocorre usualmente em microplacas contendo várias cavidades, onde são depositados os reagentes. Após a reação colorimétrica, a placa é lida em um espectrofotômetro (leitor de microplacas). Helen esquematizou como é o ensaio para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no soro.

Figura 2.7 | Placa do tipo ELISA



Fonte: <<https://goo.gl/D4SwFE>>; <<https://goo.gl/vLA1ub>>. Acesso em :5 maio 2018.

Vantagens

Elevada sensibilidade, pois detecta substâncias na ordem de nanograma, apresenta menor risco de falsos negativos (elevada especificidade), menor risco de falsos positivos, permite o teste de várias amostras simultaneamente, teste relativamente simples e de custo relativamente baixo.

Desvantagens

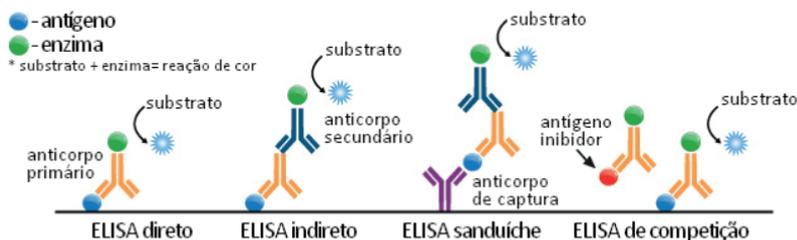
Necessidade de profissional especializado, susceptível a erros de pipetagem e outros erros na metodologia, causando alterações nos reagentes.

O que pode ser quantificado no ensaio e quais as doenças que podem ser identificadas?

O ensaio imunoenzimático do tipo ELISA pode ser utilizado para a realização de testes de bioquímica, imunologia, dosagem hormonal e microbiologia. Na área de análises clínicas esse ensaio pode ser utilizado para a realização de diversos tipos de exames de rotina, por exemplo, HIV, HBsAg (hepatite B), PSA, ferritina etc.

O teste de seleção para infecção do HIV é realizado usando a técnica de ELISA. Nesse ensaio, proteínas virais (os antígenos) estão adsorvidas nas cavidades da placa. Em seguida, é adicionado soro do paciente contendo anticorpos que se ligam aos antígenos. Ao final, anticorpos ligados à enzima ligam-se aos anticorpos humanos, causando a alteração de cor devido à reação enzimática. Na figura a seguir encontram-se esquematizados os diferentes tipos de ELISA.

Figura 2.8 | Diferentes tipos de ELISA (direto, indireto, sanduíche e de competição)



Fonte: <<https://goo.gl/qpjhzS>>. Acesso em: 5 maio 2018.

Pesquisa do diagnóstico de cisticercose em inquéritos sorológicos por ELISA

Descrição da situação-problema

Helen estava acompanhando uma pesquisano Laboratório de Imunofarmacologia que visa padronizar o uso do ensaio de ELISA em inquéritos sorológicos de cisticercose. Os pesquisadores relataram que o diagnóstico sorológico da cisticercose tem sido estudado com o intuito de se validar uma forma alternativa, segura e eficaz na investigação da doença. A vantagem dos testes do tipo ELISA se baseia principalmente em relação ao custo e a facilidade de execução. O problema relativo à utilização desse teste para o diagnóstico de cisticercose está no uso de extratos antigênicos capazes de produzir no ensaio, parâmetros compatíveis para a pesquisa de anticorpos em soros de comunidades com baixa prevalência. Os resultados iniciais, verificados pelo grupo de pesquisa, demonstram que o teste de ELISA para determinação de antígenos de cisticercos de *Taenia solium* apresentou nos estudos experimentais 100% em relação à sensibilidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. O que significam esses resultados? Vamos juntamente com a Helen analisar esses resultados?

Resolução da situação-problema

Helen verificou que valores elevados de especificidade e sensibilidade, são teoricamente os ideais na padronização de um teste para imunodiagnóstico. E resumiu o significado de cada um dos conceitos relatados na pesquisa e relacionados com esta:

- **Sensibilidade:** é a probabilidade de um indivíduo avaliado e doente de ter seu teste alterado (positivo).
- **Especificidade:** é a probabilidade de um indivíduo avaliado e normal (sadio) ter seu teste normal (negativo).
- **Prevalência:** é a fração de indivíduos doentes na população total avaliada.
- **Valor preditivo positivo (VPP):** é a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado positivo ser de fato doente.

- **Valor preditivo negativo (VPN):** é a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado negativo ser de fato sadio/normal.

Helen procurou relacionar a pesquisa com a rotina em um banco de sangue e em um laboratório de análises clínicas, e esquematizou em seu caderno a Figura 2.9, demonstrando outro conceito importante na área de controle de qualidade: o limiar de reatividade ou *cut-off*, visto na Seção 2.1.

Figura 2.9 | Limiar de reatividade (*cut off*)

LIMAR DE REATVIDADE OU CU Clip slide

Imagine que você trabalha num banco de sangue e precisa selecionar um teste para detectar determinado antígeno...

Este teste não pode apresentar resultados falso-positivos
Então deverá ter máxima.... **SENSIBILIDADE !!!** Portanto:

Onde seria o limiar de reatividade ou *cut off*?

Ponto de máxima sensibilidade

100% Probabilidade

10 20 40 80 160 320 640 1.280 2.560 Título

10 20 40 80 160 320 640 1.280 2.560 Título

→ Reagentes → Reagentes

Pode aumentar o número de resultados FALSO-POSITIVOS!!

LIMAR DE REATVIDADE OU CUT OFF

Imagine que você trabalha num laboratório de análises clínicas e precisa selecionar um teste para detectar determinado antígeno...

Este teste deverá ter máxima....

ESPECIFICIDADE!!! Portanto:

Onde seria o limiar de reatividade ou *cut off*?

Ponto de máxima especificidade

100% Probabilidade

10 20 40 80 160 320 640 1.280 2.560 Título

10 20 40 80 160 320 640 1.280 2.560 Título

→ Reagentes → Reagentes

Pode aumentar o número de resultados FALSO-NEGATIVOS!!

Fonte: <<https://goo.gl/CsAVns>>; <<https://goo.gl/NWi8uy>>. Acesso em: 6 maio 2018.

Faça valer a pena

1. Nos últimos anos, houve um grande avanço nos testes para imunodiagnóstico, principalmente em relação aos anticorpos e antígenos utilizados, assim como em relação aos métodos empregados. Alguns testes utilizados em análises laboratoriais são baseados na ligação específica e seletiva do antígeno ao anticorpo.

O radioimunoensaio utiliza como biomarcador um isótopo radioativo; já o teste de ELISA, que é a primeira escolha para diagnóstico do HIV, utiliza que tipo de marcador?

- a) Uma enzima.
- b) Uma proteína.
- c) O radioisótopo ^{131}I .
- d) Uma isoforma do sistema complemento.
- e) Um reagente inespecífico, porém com exatidão.

2. Na área de análises clínicas, várias metodologias empregam fundamentos imunológicos, com a aplicação principalmente no diagnóstico de doenças autoimunes e processos alérgicos, assim como na conduta clínica relacionada ao transplante e rejeição de órgãos.

Marque a alternativa correta contendo especificamente métodos usados de forma rotineira em testes imunológicos:

- a) Ensaio de aglutinação, cromatografia gasosa e imunodifusão radial.
- b) Imunofluorescência, espectrometria de massa e rocket eletroforese.
- c) Espectrometria de massa e citometria de fluxo.
- d) Imunoensaios cromatográficos, HPLC e teste com nefelômetro.
- e) Imunoensaios enzimático e radioimunoensaios.

3. Os imunodiagnósticos são testes realizados para a detecção de anticorpos ou antígenos. Desta forma, qualquer molécula que se comporte como um antígeno pode ser identificada. Alguns ensaios são considerados como primários porque detectam a interação direta entre antígeno e anticorpo, como a imunofluorescência, o radioimunoensaio e o teste do tipo ELISA. Por outro lado, os testes considerados como secundários detectam consequências da interação entre antígeno e anticorpo – mudanças no estado físico do antígeno, como ensaios de aglutinação, precipitação, imunodifusão, dentre outros.

São parâmetros que dependem do anticorpo utilizado no imunodiagnóstico:

I. Afinidade tem a ver com a força de ligação entre um único determinante antigênico e um sítio de combinação de um anticorpo específico, enquanto que avidéz se refere à força total de ligação entre antígenos e anticorpos.

II. Em geral, existe um grande grau de especificidade nas reações antígeno-anticorpo, sendo que os anticorpos podem ser capazes de distinguir diferenças em relação à estrutura (primária, secundária e terciária) de um antígeno, assim como formas isoméricas de um antígeno.

III. As reações cruzadas ocorrem devido à baixa especificidade dos anticorpos utilizados e o uso de anticorpos policlonais.

Em relação às afirmativas, marque a alternativa correta:

- a) Apenas a afirmativa I é verdadeira.
- b) Apenas a afirmativa II é verdadeira.
- c) Apenas a afirmativa III é verdadeira.
- d) Somente as afirmativas I e III são verdadeiras.
- e) As afirmativas I, II e III são verdadeiras

Seção 2.3

Diagnóstico laboratorial em imunologia

Diálogo aberto

Caro aluno, você se lembra do Laboratório de Imunofarmacologia e da nossa estudante de Farmácia? Helen teve mais uma atividade para desenvolver junto ao laboratório de Imunofarmacologia. Ela estava acompanhando uma pesquisa científica sobre as dosagens de anti-estreptolisina O. Você sabe o que é esse teste? Helen não sabia e procurou se informar sobre o assunto. Ela descobriu que esse teste mede a quantidade sanguínea da anti-estreptolisina O, que na verdade é um anticorpo contra a estreptolisina (o próprio nome indica isso), uma toxina produzida por bactérias do tipo *Streptococcus* do grupo A (*Streptococcus pyogenes*). Quando essa bactéria é identificada, ela pode ser tratada com antibióticos, eliminando a infecção. No entanto, quando o quadro infeccioso é assintomático e o tratamento não é conduzido (ou quando a infecção é tratada de forma ineficaz), podem ocorrer complicações. Que tipo de complicações? A partir dessas informações, Helen deveria complementá-las elaborando um folder bem didático para servir de material de leitura para os pacientes.

- O pesquisador responsável direcionou algumas perguntas que deveriam constar no folder:
 - O que está sendo pesquisado no teste de ASLO?
 - Por que fazer esse exame?
 - Qual deve ser a amostra?
 - Quando devo fazer esse exame?
 - É necessária alguma preparação?

Não pode faltar

Métodos de Diagnóstico Laboratorial – proteína C reativa (PCR)

A proteína C reativa foi a primeira de uma série de proteínas reconhecidas como reagentes de fase aguda, que têm as suas concentrações plasmáticas alteradas em decorrência de estímulos

inflamatórios diversos, tais como infecções, doenças inflamatórias, processos necróticos, câncer, queimaduras, traumas (incluindo os cirúrgicos), estresse e exercícios extenuantes. E quais são as outras proteínas de fase aguda, além da PCR? Proteínas do complemento, imunoglobulinas, fibrinogênio, fator VIII da coagulação, ferritina, lipoproteínas, haptoglobina, amilóide "A" sérico, ceruloplasmina, α 1-antitripsina e α 1-glicoproteína ácida.

Entre estes, a PCR e o amilóide "A" sérico são os melhores biomarcadores de fase aguda, visto que os valores se elevam precocemente e retornam rapidamente aos níveis fisiológicos com a resolução da situação clínica. Desta forma, os valores da PCR começam a se elevar entre quatro a dez horas após o início da injúria ou estímulo, atingindo valores até 1000 vezes superiores aos níveis basais em cerca de 48 horas, retornando rapidamente aos valores iniciais com a melhora no quadro clínico. Isso ocorre porque a meia vida da PCR é de cerca de quatro a nove horas. Atualmente, é conhecido que a proteína C reativa tem como funções participar na defesa em infecções por diferentes tipos de microrganismos, na regulação de processos inflamatórios e na reabsorção de material necrótico. Provavelmente, também participa nos processos inflamatórios que originam as lesões ateroscleróticas, visto que as placas ateroscleróticas são locais de produção extra-hepática da PCR, assim como linfócitos e neurônios obtidos de pacientes com Alzheimer. É sintetizada e degradada principalmente no fígado, sendo que o gene que codifica a síntese da PCR tem a sua transcrição regulada por citocinas.

E como a PCR pode ser quantificada? Inicialmente, utilizava-se a reação de precipitação em tubo capilar, metodologia qualitativa de sensibilidade baixa e diagnóstico clínico confuso, já que a PCR se encontrava positiva em vários processos ligados à inflamação ou lesão tecidual. Posteriormente, foi desenvolvido um exame semi-quantitativo por aglutinação do látex, mas ainda com limitações no diagnóstico clínico, principalmente relacionadas com a investigação da evolução e da resposta terapêutica de algumas doenças. Atualmente, são utilizados nos laboratórios a metodologia de ELISA e métodos automatizados de turbidimetria e nefelometria para quantificação de PCR, tendo como vantagens a rapidez na execução (15 a 30 minutos), volume pequeno de amostra (cerca de 50 μ L de soro para a sua realização) e elevada sensibilidade analítica (0,04mg/L).

Os primeiros testes imunológicos quantitativos desenvolvidos, utilizados até hoje, não têm sensibilidade suficiente para detectar a PCR no soro de indivíduos saudáveis que apresentam, geralmente, valores inferiores a 2mg/L. Entretanto esses ensaios têm validade clínica na observação da resposta de fase aguda em doenças infecciosas e inflamatórias.



Assimile

A determinação da PCR tem sido um teste muito útil para a avaliação das reações de fase aguda e o acompanhamento de sua concentração sérica, ao longo do tempo, é recomendado em diversas situações clínicas (Figura 2.10). Assimile em quais doenças a determinação da proteína C reativa pode auxiliar no diagnóstico ou no acompanhamento da terapia empregada.

Figura 2.10 | Recomendações para o uso da PCR

Pneumonia	Pequena utilidade na diferenciação de etiologia bacteriana ou virótica Dosagem seriada útil no acompanhamento do tratamento
Otite média aguda	Pequena utilidade clínica
ITU	Utilidade restrita no diagnóstico diferencial entre cistite e pielonefrite Pequena utilidade no acompanhamento do tratamento
Osteomielite	Dosagem seriada útil no acompanhamento do tratamento Útil na detecção de complicações
Meningite	Pequena utilidade na diferenciação entre infecção bacteriana e virótica Dosagem seriada útil no acompanhamento da eficácia terapêutica Dosagem da PCR líquórica de restrita indicação clínica
Sepse	Auxiliar no diagnóstico, avaliação de gravidade e prognóstico Dosagem seriada útil no acompanhemtno do tratamento
Sepse neonatal	Útil no diagnóstico Dosagem seriada indicada no acompanhamento do tratamento Pode ser útil na avaliação da decisão de suspensão da antibioticoterapia
Apendicite	Pequena utilidade clínica
DIP	Auxilia na avaliação da gravidade da doença Dosagem seriada útil no acompanhamento da resposta ao tratamento
Pancreatite aguda	Pequena utilidade para diagnóstico Útil na detecção de complicações Marcador tardio do prognóstico
Pós-operatório	Indicada na detecção de complicações
Queimaduras	Útil na detecção de infecções secundárias
Câncer	Tem valor prognóstico em alguns tipos de tumores
Artrite reumatóide	Indicação da dosagem seriada no acompanhamento do tratamento e evolução
LES	Útil na detecção de complicações infecciosas
Febre reumática	Auxilia no diagnóstico
Doença de Crohn	Pequena utilidade clínica
Aterosclerose *	Hs-PCR contribui na avaliação do risco cardíaco Marcador prognóstico em doença coronariana aguda

ITU: Infecção do trato urinário; DIP: Doença inflamatória pélvica; LES: Lúpus eritematoso sistêmico.
* dosagem de alta sensibilidade da PCR (hr-PCR).

Fonte: <<http://www.rmmg.org/exportar-pdf/579/v16n4a12.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2018.

Métodos de Diagnóstico Laboratorial – antiestreptolisina O (ASL O ou ASO)

O exame de antiestreptolisina O (ASLO) é o teste laboratorial mais rotineiramente utilizado para determinar uma infecção prévia por *Streptococcus pyogenes* e seu estado evolutivo. Por outro lado, outros testes laboratoriais, tais como a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C reativa, podem sinalizar um processo inflamatório recente. O exame de ASLO, realizado em conjunto com outros testes, pode ser usado em levantamentos epidemiológicos, auxiliando na determinação de processos infecciosos provocados por *S. pyogenes* quanto no diagnóstico da febre reumática. E por que o exame recebe essa denominação? As bactérias do tipo estreptococos beta hemolíticos do grupo A produzem dois tipos de estreptolisinas: estreptolisina O, assim denominada por ser sensível ao oxigênio, por isso precisa ser cultivada em meios de cultura contendo um agente redutor e no vácuo (uma das substâncias redutoras que podem estar presente no meio de cultura é o sulfato de sódio); e a estreptolisina S, estável na presença de oxigênio e não é antigênica.

Em contraste, a estreptolisina O é fortemente antigênica, induzindo a produção de anticorpos correspondente, ou seja, antiestreptolisina O (ASLO). Dessa forma, a determinação do título de ASLO apresenta um papel fundamental no diagnóstico da febre reumática e nas infecções provocadas pelo estreptococo do grupo A, beta hemolítico. E como o exame pode ser realizado? A determinação do ASLO pode ser conduzida através de um teste de aglutinação empregando partículas de látex revestidas com estreptolisina O. No entanto, em sistemas automatizados, também pode ser determinado pelo método de turbidimetria e nefelometria.

De acordo com dados clínico-laboratoriais, esses anticorpos antiestreptolisina O identificados no teste são oriundos de infecções por estreptococos beta hemolíticos, com resultados positivos em 85% dos casos de faringites, cerca de 80% na febre reumática e 50% dos casos de glomerulonefrite difusa aguda. Os estreptococos são bactérias Gram-positivas em forma de cocos, sendo a principal população de microrganismos da cavidade oral além de estarem envolvidos em diversas doenças. Os estreptococos de interesse na área de saúde são divididos em: estreptococos beta-hemolíticos (ou

estreptococos piogênicos), pneumococos, estreptococos do grupo D e estreptococos viridans. O *Streptococcus pyogenes* tem sido o agente relacionado a diferentes condições clínicas, principalmente a orofaringite, a febre reumática e a glomerulonefrite. Dados epidemiológicos sinalizam que a febre reumática é uma doença do tipo imune, sendo que há uma correlação em até 3% dos casos não tratados por infecções estreptocócicas evoluírem para febre reumática. A glomerulonefrite também é uma doença relacionada ao sistema imune e pode aparecer depois de episódios de faringite, amigdalite e piodermites.

A frequência de evolução para um quadro de glomerulonefrite é bastante variável, dependendo muito do sorotipo M do estreptococo causador da infecção prévia e de outros fatores de virulência, podendo ter uma frequência superior a 20% quando a infecção for causada por um tipo altamente nefritogênico. A infecção estreptocócica é mais frequente na população com idade entre 5 e 15 anos, entretanto possa ser detectada em qualquer fase da vida. Idade entre 5 e 15 anos, também é a faixa etária de maior incidência da febre reumática. Isso ocorre porque corresponde a uma faixa etária de maior susceptibilidade às infecções do trato respiratório superior, mais comuns em comunidades pobres e rurais.



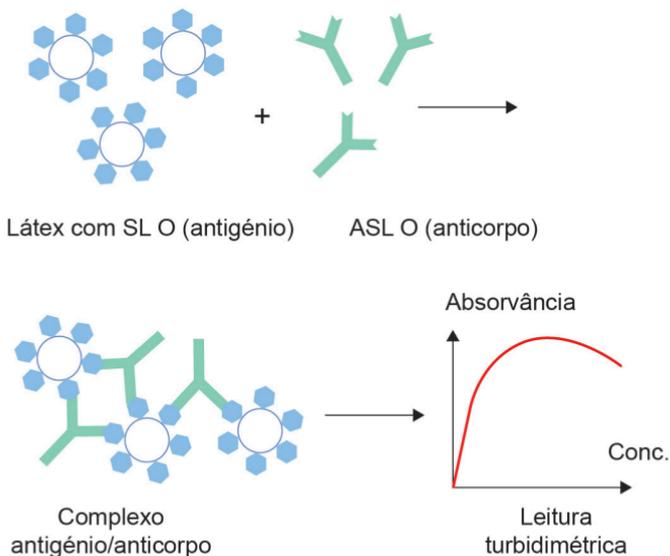
Exemplificando

Existem diversos métodos para a determinação da anti-estreptolisina O, tais como a aglutinação por látex e inibição da hemólise. Um exemplo de um teste ASL O automatizado fundamenta-se no princípio do exame da aglutinação imunológica, que usa como intensificador da reação, o látex. A figura a seguir mostra um esquema de um ensaio imunoturbidimétrico para a quantificação de ASL O.

Figura 2.11 | Ensaio imunoturbidimétrico para dosagem de ASL O

Ensaio imunoturbidimétrico

- Amostra e adição do R1 (tampão)
- Adição do R2 (látex de estreptolisina O) e início da reação:



A estreptolisina O que reveste o látex reage com os anticorpos na amostra e formam um complexo anticorpo/antígeno. Após a aglutinação, este é determinado por turbidimetria

Fonte: <http://biodinamica-ltda.com.br/documentos/bulas_H-902/ASLO.pdf>. Acesso em: 12 maio 2018.

Métodos de Diagnóstico Laboratorial: Fator reumatóide

O fator reumatóide constitui um grupo de autoanticorpos capazes de reagir com determinados epítomos presentes na parte denominada fragmento cristalizável (Fc). No soro a imunoglobulina mais frequentemente dosada para a determinação do fator reumatóide é a IgM, no entanto *in vivo* o fator reumatóide pode ser das classes IgA e IgG. O fator reumatóide é um teste que apresenta sensibilidade, porém tem pouca especificidade (em torno de 70%), mesmo assim é um ensaio de suma importância para o diagnóstico e prognóstico da artrite reumatóide. O fator reumatóide pode ser

dosado no soro de pacientes antes do aparecimento dos sintomas, mas nessa fase inicial, o teste tem uma sensibilidade baixa (em torno de 40%).

Resultados negativos para o fator reumatóide não excluem o diagnóstico da artrite reumatóide e resultados positivos também devem ser interpretados em conjunto com outros ensaios e com a sintomatologia clínica, visto que diversos outros processos, reumatológicos ou não, podem dar resultados positivos para o fator reumatóide. Desta forma, algumas patologias como a Síndrome de Sjodren, a hanseníase, algumas parasitoses (malária, esquistossomose, filariose), o lúpus eritematoso sistêmico e a hepatite podem apresentar resultados positivos para o fator reumatóide, mas com baixos títulos. E mais: o fator reumatóide pode ser dosado no soro de pacientes com doenças autoimunes, infecciosas, neoplasias e hiperglobulinemias. A dosagem do fator reumatóide no laboratório de análises clínicas pode ser realizada através da técnica de aglutinação em látex, turbidimetria e nefelometria. A técnica de aglutinação em látex tem como vantagem o baixo custo, e a turbidimetria, assim como a nefelometria têm como principal vantagem a automação.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre as técnicas de nefelometria e turbidimetria lendo o capítulo 2 sobre testes sorológicos (p. 41-43), em *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes: Correlações Clínico-Laboratoriais* (2017).

Métodos de Diagnóstico Laboratorial: VDRL, determinação de grupos sanguíneos.

Reação de microaglutinação: diagnóstico VDRL

O diagnóstico da sífilis baseia-se na avaliação clínica e nos testes sorológicos. Na maioria das vezes o diagnóstico sorológico é o mais utilizado, visto que, de acordo com a evolução da doença, em sua maior parte, o paciente procura atendimento médico após a fase inicial da doença (caracterizada pelo surgimento de úlcera ou cancro). Desta maneira, a única forma de identificar a forma latente

da sífilis adquirida é o diagnóstico sorológico laboratorial, sendo dois testes os mais utilizados: testes antigênicos não treponêmicos ou testes lipídicos (VDRL – *veneraldiseaseresearchlaboratory* e RPR – *rapidplasmreagin*); testes treponêmicos ou pesquisa de anticorpos verdadeiros (FTA-ABS – *fluorescent treponema antigenabsorvent*, EIA/ELISA – *enzymeimmunoassay for antibodyanti-Treponema*, MHA-TP – *micro hemagglutination for Treponema pallidum* e PCR – *polimerase chainreaction*).

O treponema tem uma fração lipídica em sua constituição antigênica que é semelhante ao fosfolípido cardiolipina, desta forma os testes denominados como não treponêmicos ou lipídicos reagem com a cardiolipina, detectando os anticorpos do tipo reaginas. Em outras palavras, o princípio do método é a combinação de lecitina, colesterol e cardiolipina (a cardiolipina possui semelhança imunológica com antígenos do *Treponema pallidum*), constituindo um antígeno não treponêmico. A interação das reaginas da amostra (soro ou líquido cefalorraquidiano) com este antígeno produz floculação que pode ser observada pela microscopia óptica. Algumas situações patológicas, tais como determinadas infecções virais e bacterianas, algumas parasitoses, doenças autoimunes e outras situações fisiológicas, como idade avançada, gravidez e uso de algumas substâncias químicas, podem levar a resultados falso-positivos para sífilis, uma vez que podem liberar antígenos lipídicos, levando à síntese de reaginas. Esses resultados falso-positivos ressaltam a não-especificidade das reações não treponêmicas.

Os testes treponêmicos, que utilizam antígenos de *T. pallidum* através de reações imunológicas de elevada especificidade e sensibilidade, são ideais para a exclusão dos resultados falso-positivos verificados pelos testes não-treponêmicos. A desvantagem dos testes treponêmicos é o elevado custo: por utilizarem procedimentos mais complexos, têm um alto custo, por isso mesmo não estão ainda disponíveis como testes de rotina. O teste do VDRL é um dos ensaios não treponêmicos mais utilizados na rotina laboratorial do diagnóstico da sífilis, tendo em vista o custo reduzido e a facilidade na execução, por isso ele é realizado em larga escala na maioria dos laboratórios. E como é realizado esse teste? É uma técnica rápida de microfloculação, que utiliza antígenos como cardiolipina, extraídos de tecidos. A cardiolipina forma um antígeno sorologicamente ativo, capaz de detectar anticorpos humorais

presentes no soro de pacientes com a sífilis ativa (cerca de uma a quatro semanas após o aparecimento do cancro primário) e, para isso a cardiolipina, um lipídio extraído de coração de bovinos, precisa se combinar com a lecitina e colesterol. As determinações quantitativas do VDRL, expressas em títulos, em geral se elevam até o estágio secundário. Os valores dos títulos tendem a diminuir, podendo ocorrer o desaparecimento da reatividade mesmo sem o tratamento da doença. Isso ocorre a partir do primeiro ano do aparecimento da doença em sua fase inicial. Com o tratamento da doença, o VDRL tende a apresentar valores negativos entre 9 e 12 meses, entretanto a reatividade em baixos títulos pode perdurar por toda a vida (títulos menores ou iguais a 1:8). Essa reatividade residual é denominada como memória sorológica, podendo significar em termos de título, uma infecção muito recente ou muito antiga, com ou sem tratamento.



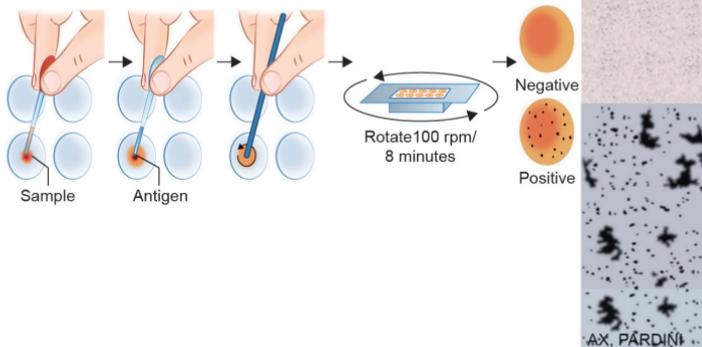
Exemplificando

Exemplificando como é realizado o teste do VDRL observando a figura a seguir:

Figura 2.12 | VDRL: teste de floculação, composto de cardiolipina, colesterol e lecitina

Sífilis - diagnóstico

VDRL: Teste de floculação, composto de cardiolipina, colesterol e lecitina.



Fonte: <<https://goo.gl/DDM2uA>>. Acesso em: 14 maio 2018.

Determinação de grupos sanguíneos

Os eritrócitos possuem antígenos de superfície em suas membranas que classificam o grupo sanguíneo de uma pessoa. Existem mais de 200 antígenos eritrocitários com importância médica herdados geneticamente, e os mais importantes são os pertencentes aos do grupo ABO e Rh. O sistema de grupo sanguíneo ABO foi o primeiro a ser descoberto e continua até hoje considerado o mais importante sistema de grupos sanguíneos na área de transfusão. Os anticorpos do sistema ABO são fracos ou não estão presentes no soro de recém-nascidos de 3 a 6 meses de idade, sendo que os níveis encontrados em adultos de ABO são alcançados em volta dos 5 a 10 anos de idade, diminuindo apenas um pouco com o avanço da idade.

Na determinação sorológica para a classificação ABO, diferentes níveis de expressão do antígeno A ou B nas hemácias podem ser encontrados, denominados subgrupos de A ou subgrupos de B. Para essa classificação em subgrupos alguns critérios são considerados: intensidade de aglutinação com soros anti-A, anti-B, anti-AB e anti-H, presença ou ausência de anticorpos contra antígenos ABO e, presença ou ausência de substância A e/ou B na saliva. Os dois principais subgrupos de A são A1 e A2 que podem ser diferenciados sorologicamente pela reatividade das hemácias. Clinicamente, os anticorpos ABO se desenvolvem devido à reações transfusionais hemolíticas e doença hemolítica do recém-nascido (DHRN). Os anticorpos ABO são também uma causa de rejeição aguda nos transplantes de órgãos sólidos, por isso, tais transplantes devem ter compatibilidade ABO verificadas com o soro do receptor. No transplante de medula óssea incompatível com relação ao sistema ABO, os anticorpos ABO podem causar hemólise e atraso na recuperação das linhagens eritróide e de megacariócitos.

A tipagem utilizada de forma rotineira para a classificação do sistema de grupo sanguíneo ABO é realizada empregando-se os testes denominados como tipagem direta e reversa. Na tipagem direta para a determinação da presença ou ausência dos antígenos do sistema de grupo sanguíneo ABO usam-se os soros anti-A e anti-B. Por outro lado, a tipagem reversa é realizada usando reagentes constituídos por suspensão de hemácias classificadas como pertencentes ao grupo A1 e B para a detecção

sérica de anti-A e anti-B. A incompatibilidade ABO pode ser fatal, por isso para a classificação do tipo sanguíneo ABO devem ser feitas simultaneamente a tipagem direta e reversa. No Quadro 2.2 podemos observar a relação existente entre aglutinógenos e anticorpos correspondentes nos respectivos grupos sanguíneos.

Quadro 2.2 | Relação entre aglutinógenos e anticorpos correspondentes aos grupos sanguíneos

GRUPO SANGUÍNEO	TIPAGEM DIRETA (aglutinógenos)	TIPAGEM REVERSA (anticorpos)
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A e B	-----
O	-----	Anti-A e anti-B

Fonte: elaborado pela autora.



Refleta

Refleta sobre a necessidade da determinação da classificação sanguínea conjuntamente pelos métodos da tipagem direta e reversa. Por que isso é necessário? Refleta sobre as consequências para o paciente de um diagnóstico errado em relação a classificação sanguínea em gestantes, em pacientes que irão receber transfusão sanguínea e em pessoas que irão receber transplantes.

Sem medo de errar

Helen estava acompanhando uma pesquisa científica sobre as dosagens de anti-estreptolisina O e teve que elaborar um pôster bem didático para servir de material de leitura para os pacientes (Figura 2.13). Veja o material que a Helen pesquisou e resumiu em um pôster informativo!

Figura 2.13 | Características sobre o teste ASO

Antiestreptolisina-O (ASO)

- O que está sendo pesquisado no teste de ASL O?
Este exame mede a quantidade sanguínea da antiestreptolisina O (um anticorpo contra a estreptolisina O), uma toxina produzida por *Streptococcus* do Grupo A.

- Por que fazer esse exame?
• Para determinar se uma pessoa teve uma infecção recente por estreptococos do Grupo A;
• Para auxiliar no diagnóstico de sequelas resultantes de infecções estreptocócicas, tais como febre reumática e glomerulonefrite.

- Quando devo fazer esse exame?
Quando o paciente apresentar os seguintes sintomas: febre, dor no peito, dificuldade para respirar, fadiga, edema ou outros sintomas relacionados a febre reumática ou a glomerulonefrite, principalmente quando o indivíduo teve inflamação recente da garganta sem confirmação de infecção estreptocócica no Gram ou na cultura.

- Qual deve ser a amostra?
• Sangue
• É necessária alguma preparação? Nenhuma.



Fonte: elaborada pela autora.

Avançando na prática

Tipos sanguíneos ABO

Descrição da situação-problema

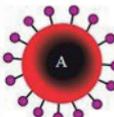
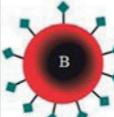
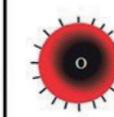
Helen estava lendo um artigo científico no laboratório de imunofarmacologia sobre um caso raro que aconteceu na Austrália. Uma criança precisou fazer um transplante de fígado aos nove anos, e alguns meses depois os médicos descobriram que a menina tinha trocado de tipo sanguíneo e, desta forma, o seu sistema imunológico se tornou igual ao doador do órgão que ela havia recebido. Qual poderia ser a explicação para essa alteração no tipo sanguíneo?

Resolução da situação-problema

Helen continuou procurando entender como houve a mudança de tipo sanguíneo na criança que recebeu um transplante de fígado. Os médicos que fizeram o transplante

disseram que provavelmente isso ocorreu depois que células-tronco do fígado transplantado migraram para a medula óssea da receptora. E qual a importância dessa descoberta, pensou Helen? Identificando como isso aconteceu, o desenvolvimento dessa técnica levaria a tolerância imunológica, característica ideal para a medicina dos transplantes. Além disso, Helen resolveu lembrar os tipos sanguíneos do tipo ABO, assim como são os antígenos expressos na membrana dos eritrócitos. Para isso ela fez o esquema apresentado na figura a seguir.

Figura 2.14 | Tipos sanguíneos – sistema ABO

	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Eritrócito				
Anticorpo	 Anti-B	 Anti-A	não tem	 Anti-A Anti-B
Antígeno	A antígeno 	B antígeno 	A B antígeno 	não tem

Fonte: <<https://goo.gl/hxrFSt>>. Acesso em: 14 maio 2018.

Faça valer a pena

1. A proteína C reativa (PCR) é uma das proteínas da fase aguda da inflamação, produzida pelo fígado em resposta às citocinas, e utilizada no diagnóstico de processos infecciosos e inflamatórios, além de outras patologias.

Em relação à detecção e quantificação deste biomarcador é correto afirmar que o melhor método utilizado atualmente, principalmente no que se refere à sensibilidade e automatização é a (o):

- Nefelometria.
- Precipitação em tubo capilar.
- Cromatografia.
- Eletrodo sensível.
- Espectrômetro de massa.

2. A estreptolisina O, produzida por algumas cepas de *Streptococcus pyogenes*, é uma hemolisina sensível ao oxigênio e muito antigênica. O anticorpo produzido contra esse antígeno é denominado antiestreptolisina O (ASO ou ASL O). A dosagem de ASL O tem sido útil no diagnóstico de infecções estreptocócicas assim como em outras situações.

Em relação a determinação de antiestreptolisina O (ASLO) em sorologia, assinale a alternativa correta:

- a) A determinação do ASLO pode ser conduzida através de um teste de aglutinação empregando partículas de látex revestidas com estreptolisina O.
- b) O exame de ASLO, realizado em conjunto com outros testes, pode ser usado em levantamentos epidemiológicos, auxiliando na determinação de processos infecciosos provocados por *S. pyogenes*, mas sem utilidade no diagnóstico da febre reumática.
- c) Dados epidemiológicos sugerem que a febre reumática é uma doença do tipo imune, sendo que não há correlação entre casos não tratados por infecções estreptocócicas evoluírem para febre reumática, por isso a determinação de ASL O não contribui na investigação dessa patologia.
- d) Para cada série de testes não há necessidade da realização de controles positivo e negativo com o intuito de se verificar a correta execução da técnica e o estado de conservação dos reagentes.
- e) A frequência de evolução de infecções estreptocócicas não tratadas para um quadro de glomerulonefrite é constante, independente do sorotipo M do estreptococo causador da infecção prévia e de outros fatores de virulência, podendo ter uma frequência superior a 20% quando a infecção for causada por um tipo altamente nefritogênico.

3. A sífilis é uma infecção que pode ser sexualmente transmissível ou por meio de transfusão de sangue infectado pela bactéria *Treponema pallidum*. Pode apresentar sintomatologia variada e diferentes estágios (sífilis primária, secundária, latente e terciária).

Tendo em vista os testes sorológicos para a detecção dessa doença, assinale a alternativa correta:

- a) O exame denominado como VDRL (veneraldiseaseresearchlaboratory) é um teste de microfloculação, treponêmico, usado para o diagnóstico da sífilis.

- b) O ensaio de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) é um teste do tipo não treponêmico, sendo ideal para a exclusão dos resultados falso-positivos verificados pelos testes treponêmicos.
- c) Uma reação negativa ou não reativa no teste VDRL é verificada pela presença de médios e grandes agregados.
- d) A amostra para o teste de VDRL deve ser exclusivamente de soro, sem a presença de hemólise e lipemia.
- e) No teste de VDRL a combinação de lecitina, colesterol e cardiolipina é imunologicamente semelhante com antígenos do *Treponema pallidum*, formando um antígeno não treponêmico. A interação das reagentes da amostra (soro ou líquido cefalorraquidiano) com este antígeno forma uma flocculação que pode ser detectada ao microscópio óptico.

Referências

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. **Imunologia básica**. Funções e distúrbios do sistema imunológico. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

BRASIL. **Determinantes Sociais de Saúde**: processo saúde doença. Disponível em: <https://www.unasus.unifesp.br/biblioteca_virtual/pab/7/unidades_conteudos/unidade05/unidade05.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2018.

BUSS, P. M.; FILHO, A. P. A Saúde e seus Determinantes Sociais. **PHYSIS: Rev. Saúde Coletiva**, 17(1):77-93. Rio de Janeiro, 2007.

CARVALHO, Al. Determinantes sociais, econômicos e ambientais da saúde. In FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **A saúde no Brasil em 2030-prospecção estratégica do sistema de saúde brasileiro**: população e perfil sanitário [online]. v. 2. Rio de Janeiro: Fiocruz/Ipea/Ministério da Saúde/Secretaria de Assuntos Estratégicos da Presidência da República, 2013.

CAVALCANTI, Milena P.; LORENA, Virginia M. B.; GOMES, Yara de M. Avanços biotecnológicos para o diagnóstico das doenças infecciosas e parasitárias. **Revista de Patologia Tropical**. 2008. v. 37 (1): 1-14. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/iptsp/article/viewFile/4026/3601>>. Acesso em: 25 abr. 2018.

FERREIRA, Antonio Walter; MORAES, Sandra do lago. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, 471 p.

FONSECA, A. F. Q. Ambiente e Saúde: Visão de Profissionais da Saúde da Família. **Ambiente & Sociedade**, v. 15, n. 2. maio/ago. (2012). São Paulo.

GREENE, Russell J.; HARRIS, Norman D. **Patologia e terapêuticas para farmacêuticos**: bases para a prática da farmácia clínica. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

MASTROMAURO, G. C. **Surtos epidêmicos, teoria miasmática e teoria bacteriológica**: instrumentos de intervenção nos comportamentos dos habitantes da cidade do século XIX e início do XX. Anais... julho (2011). São Paulo.

McPHERSON, Richard A. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais de Henry**. 21. ed. Barueri: Manole, 2012.

MINEO, José R. et al. **Manual ilustrado de práticas laboratoriais em imunologia**. Uberlândia: EDUFU, 2016.

ROSSETTI, Maria L.; DORNELLES DA SILVA, Cláudia M.; RODRIGUES, Jaqueline J. S. **Doenças infecciosas**: diagnóstico molecular. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SOUZA, C. L.; ANDRADE, C. S. Saúde, meio ambiente e território: uma discussão necessária na formação em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 19(10):4113-4122. 2014.

Mecanismos imunopatológicos das hipersensibilidades e fisiopatológicos das imunodeficiências e aspectos farmacológicos dos imunomoduladores

Convite ao estudo

Prezado aluno,

Neste momento estamos iniciando o estudo sobre mecanismos imunopatológicos das hipersensibilidades e fisiopatológicos das imunodeficiências e aspectos farmacológicos dos imunomoduladores. Veremos que as imunodeficiências primárias podem ser provocadas por defeitos na maturação dos linfócitos, por falhas na ativação e função dos linfócitos, anormalidades na imunidade inata, assim como por alterações linfocitárias associadas a outras doenças. Em relação às imunodeficiências secundárias, a principal é a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), provocada por infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), veremos como é o tratamento e o diagnóstico laboratorial da AIDS. Na seção dois aprenderemos que os distúrbios ocasionados por respostas imunes são denominados como doenças de hipersensibilidade e podem ser classificadas de I a IV. Investigaremos os fatores que contribuem para o aparecimento das doenças de hipersensibilidade, assim como os princípios básicos para a terapia das doenças de

hipersensibilidade. Finalmente, estudaremos os principais fármacos imunossupressores e os imunoestimulantes, além de compreender quando e por que usar esses processos farmacológicos antagônicos. Para assimilarmos o assunto, atingirmos as competências e os objetivos da disciplina, vamos acompanhar nas situações - problema alguns casos hipotéticos para que você se aproxime dos conteúdos teóricos juntamente com a prática. Você está animado? No decorrer desse livro didático, trabalharemos com situações que podem ocorrer em um laboratório de análises clínicas, interferindo no resultado final. Vamos juntos buscar soluções e práticas adequadas.

Seção 3.1

Imunodeficiências primária e secundária

Diálogo aberto

Helen, a estagiária no Laboratório de Imunofarmacologia, estava estudando sobre imunodeficiências primárias e secundárias, especificamente sobre as adquiridas, tais como a infecção pelo HIV. Em uma busca pela internet ela verificou que essa doença levou precocemente grandes talentos que são lembrados até o momento: Cazusa, Renato Russo, Fred Mercury, entre outros. Todos morreram entre os anos de 1980 a 1990 por complicações da doença, quando não havia ainda o tratamento que é utilizado atualmente. Hoje, os avanços científicos permitem que o paciente soropositivo tenha uma vida praticamente normal. Helen verificou que a infecção pelo HIV segue um padrão relativo a sintomas clínicos e respostas laboratoriais, que podem ser divididas em três etapas: uma fase aguda, uma assintomática e, por último, a fase sintomática. Como em outras doenças, a variabilidade individual é enorme e depende de diversos fatores, tais como a patogenicidade do vírus, mutações, resistência do hospedeiro, dentre outras características. Os avanços na área farmacológica levaram ao desenvolvimento dos fármacos antirretrovirais, diagnósticos laboratoriais eficientes, assim como melhorias no tratamento das infecções oportunistas, tão comuns em portadores do vírus HIV. Esses progressos modificaram a progressão natural da doença, melhorando a qualidade e o tempo de vida dos portadores do vírus HIV. Como dizia o grande poeta Cazusa, “o tempo não para” e diferente da poesia, a Helen espera que o futuro não repita o passado e que os avanços alcançados na medicina impeçam que outros grandes talentos deixem os palcos precocemente. Mas como era a progressão da síndrome da imunodeficiência antes da terapia com os antirretrovirais? E como os avanços no diagnóstico laboratorial têm auxiliado no controle dessa doença? Vamos ajudar a Helen nessa análise?

Não pode faltar

-Mecanismos fisiopatológicos da imunodeficiência primária: as alterações ocasionadas por deficiências no sistema imune são denominadas imunodeficiências. Existem as classificadas como primárias (ou congênitas) e as secundárias (ou adquiridas). As imunodeficiências primárias resultam de anormalidades genéticas em um ou mais integrantes do sistema imune. A característica comum entre as diversas imunodeficiências primárias é que o paciente estará mais susceptível a complicações infecciosas, no entanto apresentam enorme diversidade em relação aos sintomas e condições patológicas. Algumas dessas doenças causam susceptibilidade muito aumentada a processos infecciosos, o que pode ocorrer logo após o nascimento e ser fatal. Outros tipos de imunodeficiências induzem quadros infecciosos leves e podem ser descobertas no indivíduo adulto. Os defeitos na maturação dos linfócitos (B, T ou ambos) são ocasionados, por anormalidades genéticas, características das imunodeficiências primárias.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre as imunodeficiências congênitas e adquiridas lendo o capítulo 12 do livro *Imunologia Básica – Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico* (Abbas, 2007. p. 231-246).

O Quadro 3.1 resume as características diagnósticas assim como os sintomas clínicos que afetam o sistema imune.

Quadro | 3.1 Características das imunodeficiências primárias

TIPO DE IMUNODEFICIÊNCIA	ANORMALIDADES HISTOPATOLÓGICAS E LABORATORIAIS	CONSEQUÊNCIAS INFECCIOSAS COMUNS
DEFICIÊNCIA DA CÉLULA B	Folículos ausentes ou diminuídos nos centros germinativos dos órgãos linfóides.	Infeções bacterianas piogênicas.
DEFICIÊNCIA DA CÉLULA T	As zonas de células T podem estar reduzidas nos órgãos linfóides	

	Reações DTH reduzidas para antígenos comuns Deficiências nas respostas proliferativas de células T aos mitógenos <i>in vitro</i> .	Infecções virais e outras microbianas intracelulares (Pneumocystis <i>caninii</i> , micobactéria atípica, fungo) Malignidades associadas a vírus (linfomas associadas ao EBV).
DEFICIÊNCIAS IMUNOLÓGICAS INATAS	Deficiências nas respostas proliferativas de células T aos mitógenos <i>in vitro</i> .	Variável; infecções bacterianas piogênicas.

Fonte: Abbas, 2007 (p.232).

Quando as alterações no sistema imune afetam tanto as células B quanto as T, os tipos de doença são classificados como imunodeficiências graves combinadas. Diversas alterações gênicas diferentes induzem imunodeficiências graves combinadas, sendo que cerca de metade dessas imunodeficiências é ligada ao cromossomo X, afetando apenas indivíduos do sexo masculino. Dentre essas imunodeficiências ligadas ao cromossomo X, 50% são causadas por mutações na subunidade de sinalização de um receptor para citocinas, que é uma subunidade denominada como γ comum, isso porque é um componente dos receptores para diversas citocinas, incluindo as citocinas 2, 4, 7, 9 e 12. A IL-7 é o principal fator de crescimento para os linfócitos B e T, desta forma, respostas defeituosas para IL-7 induzem reduzida sobrevivência e maturação dos linfócitos T. Os efeitos dessa imaturidade celular é uma diminuição de linfócitos T maduros, deficiência na imunidade celular e humoral, Devido à ausência de células T auxiliares. A outra metade dos casos de imunodeficiências graves combinadas é do tipo autossômica e é causada por alterações em uma enzima chamada adenosina desaminase (ADA), que tem como função a quebra das purinas. A deficiência dessa enzima acarreta o acúmulo de metabólitos tóxicos de purina nas células que estão em proliferação, ou seja, nas células que estão continuamente produzindo DNA. A deficiência da enzima ADA induz uma perda da função do linfócito T auxiliar. Entre as imunodeficiências de células B, a mais comum é a agamaglobulinemia ligada ao X, induzindo uma

diminuição em todos os isotipos de imunoglobulinas, além da diminuição dos linfócitos B. Como consequências dessas deficiências funcionais, haverá uma diminuição importante ou ausência de linfócitos B maduros além da diminuição de imunoglobulinas séricas. De forma geral, as imunodeficiências graves combinadas são fatais no início da vida e o tratamento mais utilizado é o transplante de medula óssea, de forma a se restabelecer o sistema imunológico. Distúrbios seletivos na maturação de linfócitos T podem ser verificados na síndrome de DiGeorge, causada por um desenvolvimento anormal do timo. Por outro lado, algumas imunodeficiências primárias são induzidas por falhas na ativação e na função dos linfócitos, mesmo com a maturação normal dessas células, conforme pode ser exemplificado no Quadro 3.2.

Quadro 3.2 | Imunodeficiências congênitas associadas a defeitos na ativação linfocitária e funções efetoras

DOENÇA	DEFICIÊNCIAS FUNCIONAIS	MECANISMO DE DEFEITO
Síndrome hiper-IgM ligada ao X	Defeitos na ativação de macrófago e célula B dependente de célula T auxiliar.	Mutações no ligante CD40.
Deficiências seletivas no isotipo de imunoglobulina	Redução ou ausência de produção de isotipos ou subtipos de imunoglobulinas seletivos; susceptibilidade a infecções bacterianas ou ausência de problemas clínicos.	Desconhecido; pode ser defeito na diferenciação de célula B ou célula T auxiliar.
Expressão defeituosa do MHC da classe II: síndrome do linfócito desnudo	Perda de expressão do MHC da classe II e ativação da célula T CD4 ⁺ prejudicada; imunidade defeituosa celular e imunidade humoral dependente de célula T.	Mutações em genes que codificam fatores de transcrição necessários para expressão de gene do MHC da classe II.

Defeitos na sinalização ou expressão do complexo receptor de células T

Diminuição de células T ou taxas anormais de subsistemas CD4⁺ e CD8⁺; diminuição da imunidade celular.

Casos raros devido a mutações ou deleções na modificação genética de proteínas CD3, ZAP-70.

Fonte: Abbas, 2007 (p. 236).

Desta forma, a síndrome hiper-IgM, ligada ao cromossomo X, se deve a mutações no ligante CD40, induzindo falhas nas respostas dos linfócitos B dependentes das células T auxiliares, assim como ocorrem falhas na ativação dos macrófagos dependentes dos linfócitos T. Outro exemplo de imunodeficiência é denominado como síndrome do linfócito desnudo e é devido à expressão de proteínas do MHC da classe II com defeitos, induzindo deficiências na maturação e ativação das células T CD4⁺.



Exemplificando

O Quadro 3.3 exemplifica algumas imunodeficiências congênicas provocadas por falhas na imunidade inata.

Quadro 3.3 | Imunodeficiências congênicas devido a falhas em componentes da imunidade inata

DOENÇA	DEFICIÊNCIAS FUNCIONAIS	MECANISMOS DE DEFEITO
Doenças granulomatosas crônicas	Produção deficiente de intermediários reativos de oxigênio pelos fagócitos.	Mutações nos genes que codificam componentes da enzima oxidase dos fagócitos, mais frequentemente b558.
Deficiência-1 da adesão leucocitária	Ausência ou expressão deficiente de integrinas $\beta 2$ causando defeitos de funções dependentes de adesão leucocitária.	Mutações em genes que codificam a cadeia β (CD18) das integrinas $\beta 2$.

Deficiência-2 da adesão leucocitária	Ausência ou expressão deficiente dos ligantes leucocitários para seletinas E e P endoteliais causando falha na migração leucocitária no interior dos tecidos.	Mutações em genes que codificam uma proteína necessária para síntese do componente X sialil-Lewis dos ligantes seletinas E e P.
Deficiência no complemento C3	Defeito na cascata de ativação do complemento.	Mutações no gene C3.
Deficiência no complemento C2 e C4	Ativação deficiente da via clássica do complemento levando a falha na limpeza dos complexos imunológicos e desenvolvimento da doença semelhante ao lúpus.	Mutações nos genes C2 ou C4.
Síndrome de Chédiak-Higashi	Função lisossômica defeituosa nos neutrófilos, macrófagos e células dendríticas e função granular defeituosa em células <i>natural killer</i> .	Mutações em genes que codificam uma proteína regulatória de tráfico lisossômica.

Fonte: Abbas, 2007 (p. 238).

Mecanismos fisiopatológicos das imunodeficiências secundárias, também denominadas como imunodeficiências adquiridas, ocorrem quando falhas no sistema imunológico se desenvolvem devido a alterações que não são gênicas, mas

adquiridas durante a vida. Uma das mais importantes e conhecidas é a infecção pelo HIV (*human immunodeficiency virus*), que estudaremos no próximo item, abordando questões sobre prevenção, controle e diagnóstico. Em algumas situações, a imunidade pode se alterar, seja por desnutrição protéico-calórica; o que ocasiona deficiências em quase todos os constituintes do sistema imunológico, seja por estresse intenso, exposição a toxinas ambientais assim como a radiação; obesidade, ou algumas doenças crônicas. A terapia utilizada no tratamento do câncer por meio de quimioterápicos e radioterapia pode induzir lesões em células proliferativas, incluindo lesões em precursores da medula óssea, assim como em linfócitos maduros, causando imunodeficiência. Além disso, a utilização de substâncias imunossupressoras, embora necessária para a prevenção da rejeição de transplantes, também pode ocasionar quadros de imunodeficiências como complicação devido à utilização de imunossupressores. O Quadro 3.4 lista as principais causas de imunodeficiências adquiridas e como elas provocam alterações nas respostas imunológicas.

Quadro 3.4 | Imunodeficiências adquiridas (secundárias)

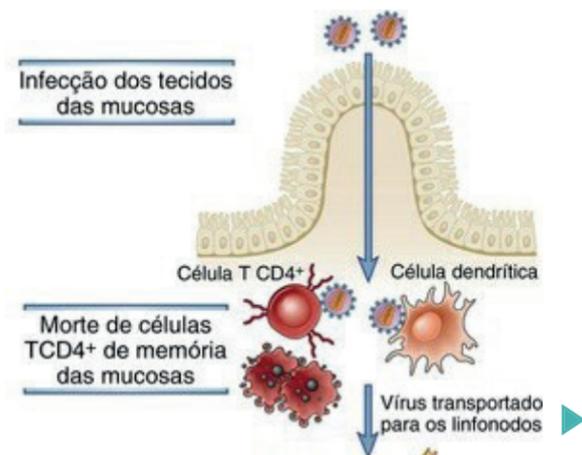
CAUSA	MECANISMO
Infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida	Depleção de células T CD4+ auxiliares
Desnutrição protéico-calórica	Desarranjos metabólicos inibem a função e a maturação linfocitárias
Radioterapia e tratamentos quimioterápicos para o câncer	Diminuição dos precursores da medula óssea para todos os leucócitos
Metástases para a medula óssea	Local reduzido de desenvolvimento leucocitário
Remoção do baço	Fagocitose diminuída dos microrganismos

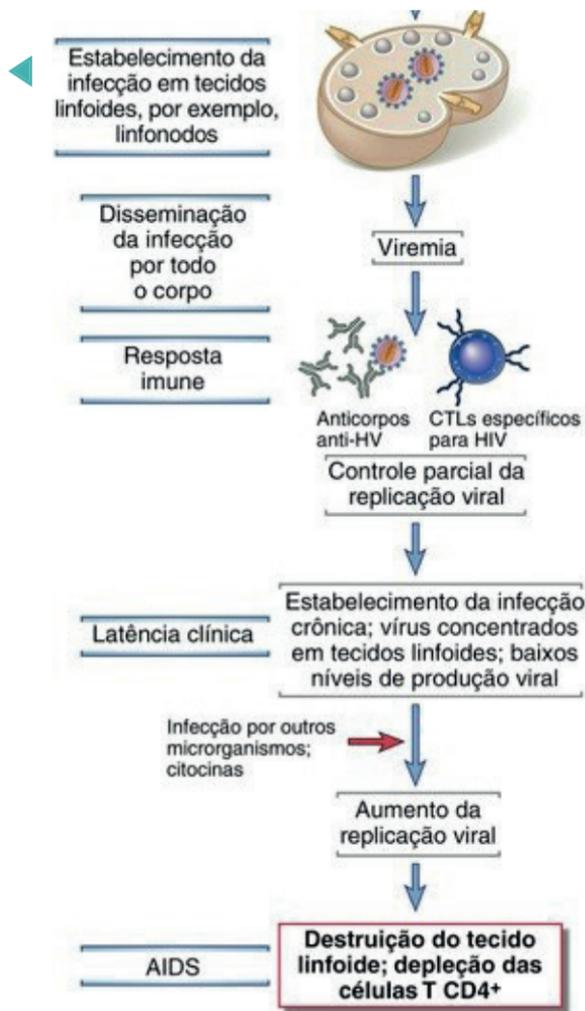
Fonte: Abbas, 2007 (p. 239).

A mais importante das imunodeficiências adquiridas é a infecção pelo HIV, um retrovírus que infecta principalmente as células T CD4⁺ e que afeta o sistema imunológico por provocar uma destruição progressiva dos linfócitos T CD4⁺, dos macrófagos e das células dendríticas. A AIDS

(síndrome da imunodeficiência adquirida) é causada por um retrovírus do gênero Lentivirus, com uma espécie, o HIV, subdividida em dois tipos biológicos (o HIV-1 e o HIV-2). Eles diferem no peso molecular de suas proteínas, assim como em alguns genes acessórios, sendo que ambos se replicam nas células T CD4⁺. Entretanto, o quadro clínico da AIDS induzida pelo HIV-2 tem uma evolução mais benigna, quando comparada com a imunodeficiência causada pelo HIV-1. E como ocorre essa doença? A evolução clínica da infecção pelo HIV em geral se inicia com uma viremia aguda, um período de latência no qual haverá uma perda progressiva de células CD4⁺ e destruição de tecidos linfóides, ocasionando a síndrome da imunodeficiência adquirida. A AIDS se caracteriza por um quadro de imunodeficiência grave, estando o organismo infectado susceptível a infecções oportunistas, perda de peso e processos neoplásicos. O HIV infecta os linfócitos T CD4⁺, assim como as células dendríticas e macrófagos utilizando-se de uma proteína do envelope viral denominada como gp120, que se liga ao linfócito T CD4⁺ e a receptores de quimiocina. O DNA viral, integrado ao genoma do hospedeiro, pode produzir a infecção viral. Durante esse processo de replicação viral, as células do sistema imune morrem, o que é a principal causa da imunodeficiência. Dessa forma, a doença começa com uma infecção aguda, que não é controlada pelo sistema imune, evoluindo para uma infecção crônica progressiva nos tecidos linfóides periféricos (Figura 3.1). A progressão para AIDS é devido ao estímulo por citocinas induzidas por outros microrganismos.

Figura 3.1| Evolução da infecção pelo HIV





Fonte: <<https://bit.ly/2PridWh>>. Acesso em: 25 maio 2018.



Assimile

Assimile como é a infecção pelo HIV e sobre uma enzima fundamental para a replicação viral, a transcriptase reversa, assistindo às vídeo-aulas: <<https://bit.ly/2PvSgVx>> ; <<https://bit.ly/2o4Nz8E>>; <<https://bit.ly/2xFot7L>>. Acesso em: 25 maio 2018.

Prevenção, controle e diagnóstico na infecção por HIV:

acredita-se que, para controlar de forma eficaz o avanço do HIV no mundo, será necessário o desenvolvimento de vacinas efetivas. Uma vacina eficaz deverá induzir no organismo do hospedeiro uma resposta imunológica inata, elevados títulos de anticorpos neutralizantes, respostas eficientes de células T, assim como elevar a imunidade de mucosas. Outro desafio relativo ao desenvolvimento de uma vacina eficaz é que ela deverá ser capaz de proteger contra todos os subtipos de HIV. Há cerca de trinta e cinco anos, a AIDS surgiu como um grave problema de saúde pública. De acordo com sistemas de informações sobre mortalidade, foram cerca de 200.000 óbitos declarados no período de 1980 a 2011. Em relação à assistência relativa a doença, as intervenções induziram mudanças efetivas na qualidade de vida dos indivíduos infectados, principalmente relacionadas ao tratamento usando antirretroviral tripla de alta potência, diminuindo as taxas de mortalidade, levando a classificação da AIDS como uma doença crônica. Vale relembrar que na década de 1980, a AIDS era classificada como uma doença aguda, visto que tinha uma evolução rápida levando rapidamente à morte. O tratamento com antirretrovirais, aliado às descobertas sobre o modo de infecção pelo HIV, assim como o desenvolvimento de técnicas laboratoriais eficientes no monitoramento da doença, tem proporcionado uma sobrevida maior aos pacientes contaminados. Em conjunto, são realizados estudos epidemiológicos que investigam o problema na comunidade, procurando conhecer os índices relativos à disseminação do vírus e os fatores de risco. Dessa forma, estratégias ligadas a políticas públicas de controle e prevenção do HIV se fundamentaram em identificar os comportamentos de risco relacionados à transmissão do HIV, como relações sexuais sem camisinha e o uso compartilhado de seringas por usuários de drogas injetáveis, principalmente. Além disso, com o objetivo de evitar a transmissão sanguínea do HIV, no fim da década de 80, foram criadas estratégias rígidas para a realização de transfusão de sangue, procedimentos que foram fundamentais para diminuir o impacto do avanço do HIV/AIDS em hemofílicos e pessoas transfundidas. O tratamento com antirretrovirais em gestantes soropositivas para o HIV, assim como em seus bebês até a sexta semana de vida, paralelamente com a recomendação

de não amamentar, foram medidas eficientes para reduzir, de forma drástica, a transmissão vertical do HIV. O diagnóstico da infecção pelo HIV é baseado na detecção de anticorpos contra o HIV (sorologia) ou na detecção de antígenos do HIV. As estratégias de ensaios laboratoriais têm como objetivo aprimorar a qualidade do diagnóstico da infecção recente pelo HIV. Os testes sorológicos mostram a presença de anticorpos contra o HIV em diferentes amostras biológicas (sangue, saliva e líquido). O teste padrão é constituído pela realização de um exame enzimático de imunoensaio (ELISA), seguida por um ensaio de Western blot confirmatório, essa sequência é realizada caso o primeiro exame seja positivo. No ensaio de ELISA, um resultado "reativo" significa a presença de anticorpos anti-HIV, indicando a infecção. A frequência de resultados falso-positivos em uma população de baixa prevalência é muito pequena ($< 0.0004\%$, $1/251.000$). Nos casos de testes falso-positivos, a causa mais provável é a presença de auto-anticorpos; como o lúpus eritematoso sistêmico, por exemplo, ou erro técnico, como a troca de amostras. O resultado "não reativo" significa que não há infecção pelo HIV, entretanto também pode haver resultados falso-negativos, o que usualmente ocorre devido à realização do teste durante a "janela imunológica", ou seja, o tempo transcorrido desde a infecção e a positividade da sorologia, que, em média, ocorre entre 14 a 21 dias. O Western blot é um teste confirmatório que detecta a presença de anticorpos contra diferentes antígenos proteicos do HIV. Essas proteínas virais podem ser oriundas da porção central do vírus (p17, p24, p55); da polimerase (p31, p51, p66) e do envelope viral (gp41, gp120, gp160). Para ser considerado positivo, devem existir ao menos três bandas relativas as principais proteínas virais (p24, gp41 e gp120/160). Com o avanço tecnológico, foram desenvolvidos os testes de quarta geração, capazes de detectar tanto antígeno quanto anticorpo, permitindo diminuir ainda mais o período de janela quando diagnosticado o HIV. Os ensaios complementares convencionais _Western blot, imunoblot ou imunoblot rápido são menos sensíveis que os testes de triagem de 3ª e 4ª gerações, por isso, são inadequados para a detecção de infecções recentes e elevam o custo do diagnóstico. Dessa forma, na atualidade, os ensaios moleculares são os mais eficazes para a confirmação diagnóstica, pois são capazes de realizar o diagnóstico de

infecções agudas e/ou recentes, além de apresentarem melhor custo-efetividade. Os testes para detecção da infecção pelo HIV são utilizados, principalmente, em três situações: na triagem sorológica do sangue doado, a fim de atestar a segurança em relação às transfusões ao uso de hemoderivados e aos órgãos para transplante; nas as investigações de vigilância epidemiológica; e na realização do diagnóstico de infecção pelo HIV.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre os testes utilizados no diagnóstico de infecção por HIV lendo o Manual **Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV** (2016. P 27 a 43). Disponível em: <<https://bit.ly/2BDfndL>>. Acesso em: 23 ago. 2018



Refleta

Refleta sobre como o controle da replicação viral é crucial para a eficácia na terapia antirretroviral altamente potente (TARV) e como, obviamente, a adesão ao tratamento é a base para o estabelecimento desse controle. Pense sobre quais podem ser os fatores individuais e externos que exercem influência quanto à adesão aos antirretrovirais (ARV). Você acha que a falta de adesão ao tratamento pode ter relação com a manifestação de reações adversas aos fármacos, ao grau de instrução ou escolaridade, à idade e/ou o uso de drogas ilícitas?

- Neoplasias Linfoides de células B e T, Linfoma de Hodgkin e Não-Hodgkin:

Os linfomas podem ser classificados como um grupo heterogêneo de neoplasias que se originam de células do sistema imune, sendo que a maior parte tem por origem as células B e, em menor parte, as células T. São divididos em linfomas de Hodgkin e linfoma não-Hodgkin, que correspondem respectivamente a 20% e 80% dos casos. Os linfomas não-Hodgkin são neoplasias sólidas oriundas do tecido linfoide, a partir de células B ou T ou NK (*natural killer*). A Figura 3.2 mostra a classificação da Organização Mundial da Saúde para as doenças linfoproliferativas.

Figura 3.2 | Classificação da OMS para doenças linfoproliferativas

Doença linfoproliferativas - classificação da Organização Mundial da Saúde	
80-30%	10-20%
Neoplasias de células B	Neoplasias de células T
Indolentes	
Leucemia linfóide crônica (LLC) Linfoma linfocítico de pequenas células Linfoma folicular (grau I e II) Linfoma de zona marginal/MALT Linfoma de zona marginal esplênico Leucemia de células pilosas Plasmocitoma/mieloma	Linfoma de grandes linfócitos granulares Linfoma de células T do adulto, tipo smoldering Micose fungóide
Moderadamente agressivas	
Leucemia pró-linfocítica Linfoma de células do manto Linfoma folicular (grau III)	Leucemia linfóide crônica/pró-linfocítica Linfoma de células T do adulto, tipo crônico Linfoma angiocêntrico Linfoma angioimunoblástico
Agressivas	
Linfoma difuso de grandes células B	Linfoma de grandes linfócitos granulares, tipo NK Linfoma de células T-periférico Linfoma intestinal de célula T Linfoma de células T do adulto, tipo agudo Linfoma anaplásico de grandes células
Altamente agressivas	
Precursor B-lymboblastico Linfoma de Burkitt Linfoma de alto grau de célula B, Burkitt like	Precursor T-lymboblastico
Linfoma de Hodgkin	

Fonte: <<https://bit.ly/2MrArJa>>. Acesso em: 27/maio 2018.

Quanto aos dados epidemiológicos, os linfomas de Hodgkin correspondem a 1% de todos os tipos de neoplasias existentes entre os humanos e sua incidência é estável. Os linfomas não-Hodgkin representam 4% de todos os tipos de neoplasias, sendo que, diferentemente dos linfomas de Hodgkin, a incidência tem aumentado globalmente. As justificativas para o aumento dessa incidência são o aumento da população de imunodeprimidos, marcada, principalmente, por pessoas transplantadas e infectadas pelo HIV. O envelhecimento da população também é um fator importante. A incidência de linfomas não-Hodgkin é ligeiramente maior no sexo masculino do que no feminino, sendo que a idade média desses pacientes é em torno de 50 anos. Em geral, a incidência de linfoma não-Hodgkin é maior em brancos do que em negros, entretanto o aumento da incidência tem sido maior em negros. Em relação aos aspectos etiológicos e/ou fatores de risco para o desenvolvimento dos linfomas não-Hodgkin, a causa ainda é desconhecida, no entanto a incidência é maior em trabalhadores que manipulam substâncias químicas diversas, como solventes

orgânicos, pesticidas, além de ter uma incidência maior em pessoas que foram submetidas à quimioterapia e/ou radioterapia. Além disso, alguns agentes infecciosos desempenham papel importante na evolução dos linfomas não-Hodgkin, entre eles podemos destacar o vírus Epstein-Barr (relaciona-se ao Linfoma de Burkitt, a linfomas associados à AIDS e linfomas de Hodgkin); o herpes vírus humano tipo 8 (linfoma de cavidade); vírus da hepatite C, *Helicobacter pylori* (linfoma do estômago), dentre outros. As principais características em termos de sintomas dos linfomas abrangem a presença de massas tumorais afetando estruturas nodais (60 a 75% dos casos) ou extranodais (cerca de 25 a 40% dos casos), além de fadiga, prurido cutâneo e sintomas mais comuns a outras infecções, tais como febre, emagrecimento (>10% do peso) e sudorese noturna. O diagnóstico do linfoma não-Hodgkin se concentra na biópsia do linfonodo ou da massa tumoral extranodal, sendo que o patologista irá classificar a doença de acordo com características morfológicas e imunohistoquímicas. Nessa classificação, de acordo com a presença de proteínas citoplasmáticas ou nucleares, o patologista irá estabelecer o tipo de tumor (linfoma ou carcinoma), o tipo de linfoma (Hodgkin ou não-Hodgkin) e se é oriundo de células B ou T. O tipo histológico do linfoma não-Hodgkin é a principal característica determinante relacionada à sobrevida e à chance de cura desse grupo de doenças.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre os linfomas, diagnóstico e tratamento, lendo o artigo **Linfomas: diagnóstico e tratamento**, no boletim de atualização da Sociedade Brasileira de Infectologia nº 10 de 2009.

Disponível em: <<https://bit.ly/2MrArJa>>. Acesso 27 maio 2018.

Sem medo de errar

Helen estudou que a infecção pelo HIV segue uma história natural de evolução da doença, de acordo com sintomas clínicos e diagnóstico laboratorial, podendo ser dividida em três fases: uma fase aguda, uma fase assintomática e por último a fase sintomática. Helen resolveu investigar

como era a progressão da síndrome da imunodeficiência humana antes da terapia com os antirretrovirais. Sem a existência de tratamento, a maioria dos pacientes apresentava a fase sintomática da doença após 10 anos da infecção. Na fase assintomática, os pacientes poderiam ter uma linfadenopatia generalizada ou ainda não ter nenhum sintoma clínico relacionado à infecção pelo HIV. Nessa fase, mesmo na ausência de manifestações clínicas, havia a replicação viral. Dessa forma, os avanços na área de diagnóstico laboratorial permitiram que o diagnóstico precoce auxiliasse tanto no tratamento quanto na prevenção da doença, ou seja, que se iniciasse a terapia precocemente melhorando a qualidade dos portadores do vírus HIV. Além disso, o diagnóstico laboratorial nessa fase assintomática permite que o portador tenha cuidados em relação à contaminação de outras pessoas (por relação sexual ou sendo doador de sangue e/ou órgãos para transplante). Essa fase dura cerca de 10 anos. A fase sintomática demonstra a destruição do sistema imunológico, que ocorria antes da descoberta do tratamento com os antirretrovirais. A deterioração do sistema imune pode ser verificada no laboratório constatando-se quedas nos níveis de linfócitos CD4⁺. As manifestações iniciais da doença são: perda expressiva de peso, sudorese noturna, febre intermitente, diarreia sem causa determinada, infecções diversas (herpes zoster, candidíase oral, dentre outras), assim como infecções de repetição por *Streptococcus pneumoniae*. Com a progressão da imunodeficiência, o paciente fica susceptível a infecções oportunistas, tais como pneumonia e toxoplasmose, assim como a linfoma cerebral e sarcoma de Kaposi. Graças aos avanços na área de saúde, relacionados com a terapia antirretroviral e diagnóstico precoce, a história natural dessa doença foi modificada. Se o tempo tivesse parado, contrariando a poesia do Cazusa, tantas pessoas não teriam falecido com as consequências dessa imunodeficiência.

Avançando na prática

Linfoma não-Hodgkin

Descrição da situação-problema

Helen, estudando sobre a evolução do vírus da imunodeficiência humana, aprendeu um pouco mais sobre o tratamento com

antirretrovirais e observou que a doença tem como características a incidência de infecções oportunistas e o sarcoma de Kaposi. Além disso, Helen lembrou-se do falecimento de grandes talentos musicais: os brasileiros Cazusa e Renato Russo. Nessas leituras, ela viu que uma outra doença tinha acometido recentemente várias personalidades da nossa história: Dilma Rousseff, Edson Celulari e o Reynaldo Gianechini. Todos tiveram que se tratar do linfoma não-Hodgkin. Helen quis entender melhor o que é essa doença: Quais são os sintomas e o tratamento? Vamos ajudar a Helen nesses questionamentos?

Resolução da situação-problema

O linfoma não-Hodgkin, na verdade, constitui um vasto grupo de doenças neoplásicas, originadas nos linfonodos. Caso não seja tratada corretamente pode levar o paciente a óbito porque os linfomas espalham-se pelo organismo, comprometendo vários grupos de gânglios linfáticos, acometendo o fígado, baço e a medula óssea. Os sintomas do linfoma não-Hodgkin são o aumento dos gânglios linfáticos, febre, sudorese noturna e um emagrecimento rápido sem causa aparente. A causa desse linfoma ainda é desconhecida, mas há alguns fatores de risco que podem estar relacionados com essa patologia, dentre esses a exposição a substâncias químicas diversas (agrotóxicos, pesticidas, solventes orgânicos, quimioterápicos) e exposição a elevadas doses de radiação. O diagnóstico é feito através de testes imunohistoquímicos e o tratamento é realizado com quimioterápicos e radioterapia, dependendo do tipo de linfoma e em que estágio do processo neoplásico o paciente está. Em alguns casos, é recomendado o transplante de medula óssea.

Faça valer a pena

1. Com o intuito de eliminar a pandemia da AIDS, há necessidade de serem utilizadas ferramentas profiláticas com o intuito de se prevenir que novas infecções ocorram, conjuntamente com o tratamento das pessoas infectadas.

De acordo com o exposto, uma vacina eficaz contra o HIV deveria:

- a) Estimular a transcriptase reversa viral.
- b) Induzir uma mudança no genoma do hospedeiro, estimulando a síntese de enzimas protetoras.
- c) Induzir no organismo do hospedeiro uma resposta imunológica inata, elevados títulos de anticorpos neutralizantes, respostas eficientes de células T, assim como elevar a imunidade de mucosas.
- d) Ser aplicada inicialmente em animais, visto que eliminando o vírus nos animais deteremos a principal fonte de transmissão do vírus para os humanos.
- e) Utilizar no tratamento fármacos antirretrovirais, reduzindo a carga viral, estimulando o sistema imunológico, curando o paciente.

2. Anormalidades no sistema imune desencadeiam uma maior susceptibilidade a infecções e a doenças autoimunes. Quando um indivíduo apresenta infecções de repetição, o clínico deve suspeitar sobre imunodeficiências, que podem ser congênitas (primárias) ou adquiridas (secundárias).

Analise as seguintes afirmativas sobre imunodeficiências primárias:

A síndrome hiper-IgM é ligada ao cromossomo Y e apresenta defeitos na ativação de macrófagos e células B dependentes de células T auxiliares.

Na síndrome do linfócito desnudo, há perda de expressão do MHC e prejuízos na ativação de linfócitos T CD4+.

Mutações em genes que codificam fatores de transcrição necessários para expressão de gene do MHC da classe II ocorrem na síndrome do linfócito desnudo.

Deficiências seletivas no isotipo de imunoglobulina provocam um declínio ou ausência na síntese de isotipos ou subtipos de imunoglobulinas seletivos, induzindo uma susceptibilidade maior a infecções bacterianas ou ausência de problemas clínicos.

Em relação às afirmativas, marque a alternativa correta:

- a) Apenas a afirmativa I é verdadeira.
- b) Apenas a afirmativa II é verdadeira.
- c) Apenas a afirmativa III é verdadeira.
- d) As afirmativas I, II e III são verdadeiras.
- e) As afirmativas II, III e IV são verdadeiras.

3. O linfoma de Hodgkin é um tipo de câncer que se origina nos linfonodos do sistema linfático, o qual é constituído por tecidos e órgãos que participa

da produção de células responsáveis pela resposta imune um conjunto composto por órgãos e tecidos que produzem células responsáveis pela imunidade e vasos que conduzem estas células através do corpo.

Analise as seguintes afirmativas:

- I. O linfoma correlaciona-se com exposição a produtos químicos e à radiação.
- II. O linfoma de Hodgkin pode ser subdividido em nodal e extramedular.
- III. Os pacientes portadores de linfoma de Hodgkin apresentam como sintomas: febre, sudorese noturna, dor nos gânglios, cansaço, perda de apetite e de peso.

Com relação ao linfoma de Hodgkin, assinale a alternativa correta.

- a) Apenas a afirmativa I é verdadeira.
- b) Apenas a afirmativa II é verdadeira.
- c) Apenas a afirmativa III é verdadeira.
- d) As afirmativas I e III são verdadeiras.
- e) As afirmativas I, II e III são verdadeiras

Seção 3.2

Hipersensibilidade

Diálogo aberto

Caro aluno,

Você se lembra do Laboratório de Imunofarmacologia e da nossa estudante de farmácia?

Ela estava no laboratório e ouviu uma história descrita por um residente do hospital sobre uma paciente do sexo feminino, natural da cidade do Rio de Janeiro, que chegou ao hospital com dores no peito e enorme dificuldade para respirar. O residente prontamente pensou que seria um quadro de infarto do miocárdio, mas a paciente relatou outros sintomas: vômitos, náuseas e, o mais importante, relatou que tinha comido bolinhos de camarão e que não era a primeira vez que se sentia mal ao ingerir camarões. A sra. Maria, paciente que comeu bolinhos de camarão, também disse que em outras vezes, após ingerir camarões, esses sintomas melhoravam cerca de duas horas depois. Helen logo associou o caso a doenças relacionadas às reações de hipersensibilidade, as quais são induzidas por uma reação exacerbada do sistema imune à determinado antígeno e podem ser classificadas em reações do tipo I, II, III e IV. Helen não se recordava das diferenças entre essas classificações e nem mesmo quais as células estão envolvidas.

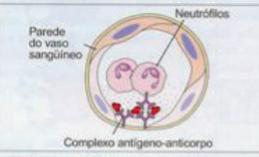
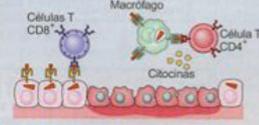
Vamos ajudar a Helen a entender os tipos de hipersensibilidade? E a sra. Maria? Qual foi o tipo de hipersensibilidade ocorrida com ela? Quais as orientações que devem ser dadas para a sra. Maria? E qual o tratamento?

Não pode faltar

- **Hipersensibilidade – conceitos gerais:** Doenças induzidas por respostas imunes, denominadas doenças provocadas por hipersensibilidade, podem ter como origem as respostas descontroladas ou alteradas a antígenos estranhos ao organismo

ou respostas autoimunes (contra antígenos próprios). As doenças de hipersensibilidade podem ser classificadas em tipo I, II, III e IV, de acordo com o mecanismo de lesão tecidual. É importante enfatizar que, *in vivo*, estas reações não ocorrem isoladamente. Os três primeiros tipos de reações de hipersensibilidade são mediados por anticorpos, enquanto o quarto tipo é mediado primariamente por células T e macrófagos. Podemos também definir a hipersensibilidade como sendo uma resposta imunológica excessiva e inapropriada do organismo a uma substância inócua (alérgeno). DesSa forma, as doenças de hipersensibilidade são classificadas, fundamentalmente, no principal mecanismo imune responsável pela lesão tecidual e pela doença, conforme demonstrado na Figura 3.3.

Figura 3.3 | Tipos de doenças de hipersensibilidade

Tipo de hipersensibilidade	Mecanismo imune patológico	Mecanismos da lesão tecidual e da doença
Hipersensibilidade imediata (Tipo I)	Célula T _H 2, anticorpo IgE, mastócitos, eosinófilos 	Mediadores derivados dos mastócitos (aminas vasoativas, mediadores lipídicos, citocinas) Inflamação mediada por citocina (eosinófilos, neutrófilos)
Doenças mediadas por anticorpo (Tipo II)	Anticorpos IgM, IgG contra os antígenos de superfície celular ou da matriz extracelular 	Recrutamento mediado pelo receptor Fc e pelo complemento e ativação dos leucócitos (neutrófilos, macrófagos) Opsonização e fagocitose das células Anormalidades na função celular, p. ex., sinalização do receptor hormonal
Doenças mediadas por complexo imune (Tipo III)	Complexos imunes dos antígenos circulantes e anticorpos IgM ou IgG depositados na membrana basal vascular 	Recrutamento mediado pelo receptor Fc e pelo complemento e ativação dos leucócitos
Doenças mediadas por célula T (Tipo IV)	1. Célula T CD4 ⁺ (hipersensibilidade tardia) 2. CTLs CD8 ⁺ (citólise mediada por célula T) 	1. Ativação do macrófago, inflamação mediada por citocina 2. Lise celular direta ao alvo, inflamação mediada por citocina

Fonte: Abbas (2007, p. 215).

Na figura, podemos observar que nos quatro principais tipos de reações de hipersensibilidade, diversos mecanismos efetores imunes induzem lesão tecidual e doença.

A hipersensibilidade tipo I, ou do tipo imediata, é um tipo de reação provocada pela liberação de mediadores de mastócitos, sendo geralmente desencadeada pela produção de anticorpo do tipo IgE contra antígenos presentes no meio ambiente. Por outro lado, anticorpos que não sejam imunoglobulinas E podem desencadear processos patológicos de duas formas: (i) Anticorpos direcionados contra antígenos celulares ou teciduais podem induzir lesões, interferindo com as funções celulares e teciduais. São classificadas como hipersensibilidade do tipo II (mediadas por anticorpos); (ii) Anticorpos contra antígenos solúveis podem produzir complexos denominados imunocomplexos depositando-se nos vasos sanguíneos de tecidos diversos, induzindo uma lesão tecidual e um processo inflamatório, sendo denominadas reações de hipersensibilidade do tipo III ou doenças dos imunocomplexos. No caso da hipersensibilidade do tipo IV, as doenças são o resultado das reações dos linfócitos T, usualmente contra antígenos próprios.



Exemplificando

O Quadro 3.5 exemplifica os tipos de hipersensibilidade, citando as principais doenças correlacionadas com os diferentes tipos de hipersensibilidade I, II, III e IV.

Quadro 3.5 | Comparação de diferentes tipos de hipersensibilidade

Comparação de Diferentes Tipos de hipersensibilidade				
CARACTERÍSTICAS	TIPO-I (ANAFILÁTICO)	TIPO-II (CITOTÓXICA)	TIPO-III (COMPLEXO IMUNE)	TIPO-IV (TIPO TARDIO)
Anticorpo	IgE	IgG, IgM	IgG, IgM	Nenhum
Antígeno	Exógeno	superfície celular	solúvel	tecidos & órgãos
Tempo de Resposta	15-30 minutos	minutos-horas	3/8 horas	48-72 horas
Aparência	inflamação	lise e necrose	eritema e edema, necrose	ERITEMA E CALOSIDADE
Histologia	basófilos e eosinófilos	anticorpos e complemento	complemento e neutrófilos	MONÓCITOS E LINFÓCITOS
Transferido com Exemplos	asma alérgica, febre do feno	eritroblastose fetal, nefrite de Goodpasture	LES, doença pulmonar do fazendeiro	teste de tuberculina, hera venenosa, GRANULOMA

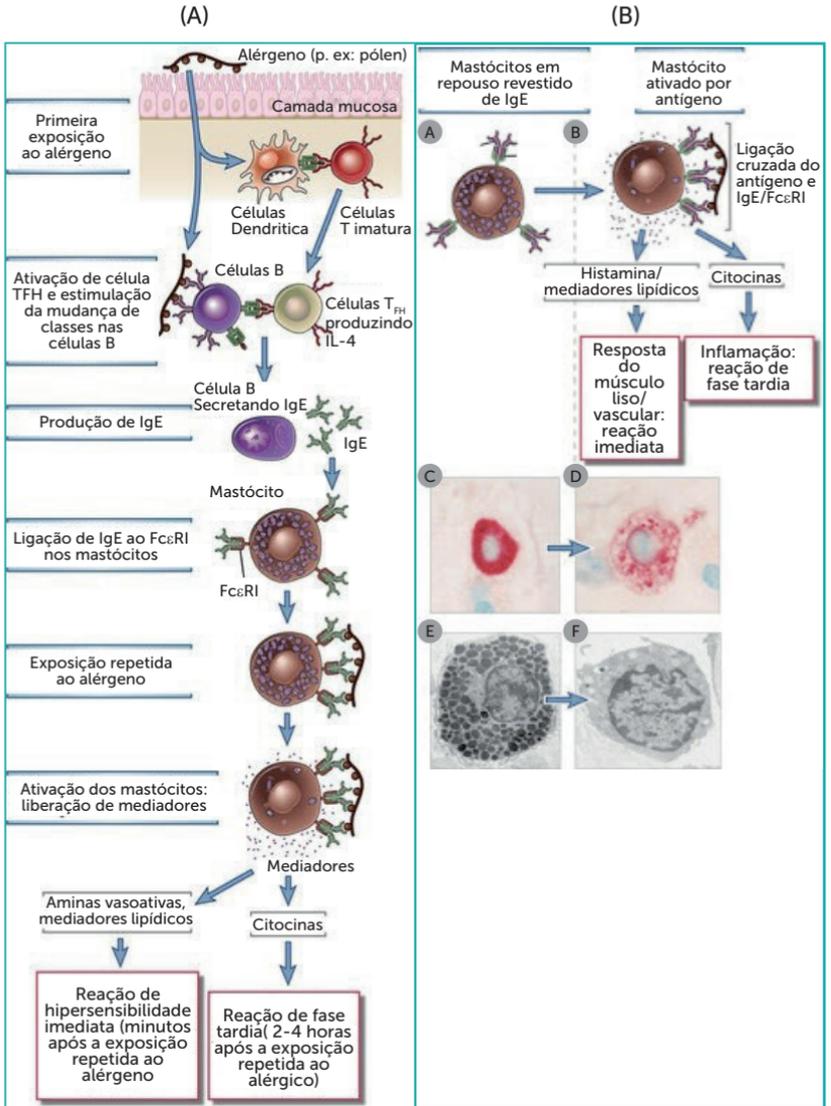
Fonte: <<https://bit.ly/2Mx1McW>>. Acesso em: 13 jun. 2018 2018.

A seguir, veremos quais são os aspectos importantes de cada tipo de doença de hipersensibilidade.

- **Hipersensibilidade tipo I, II:** as hipersensibilidades do tipo I e II são denominadas imediata e mediada por anticorpos, respectivamente.

Na hipersensibilidade do tipo I ocorre uma rápida reação vascular e do músculo liso, sendo mediada por anticorpos do tipo IgE e mastócitos, induzindo um processo inflamatório, que ocorre em pessoas expostas a determinados antígenos estranhos a que já tinham sido previamente expostos. A resposta ocorre em segundos e é devido a atividade da histamina e prostaglandinas, induzindo a secreção de muco, aumento na permeabilidade vascular, edema, broncoconstrição (devido a contração da musculatura lisa), prurido e formação de exantema (*rash*). As reações do tipo I são também denominadas alergias ou atropias e diz-se que as pessoas com propensão a desenvolver esses quadros alérgicos são descritas como "atópicas". Como exemplos podemos citar a febre do feno, as alergias alimentares, a asma e os quadros de anafilaxia. Na Figura 3.4, (A) mostra a sequência de eventos da hipersensibilidade imediata. Dessa forma, as reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgE, que se liga a receptores de Fc nos mastócitos; e uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata. Em (B), temos a ativação dos mastócitos, levando à desgranulação, como demonstrado nas imagens de microscopia óptica (os grânulos estão corados com um corante vermelho) e nas imagens de microscopia eletrônica de um mastócito em repouso (E) e um ativado (F). O tratamento das reações de hipersensibilidade imediata tem por objetivo inibir a desgranulação dos mastócitos, tendo efeitos antagônicos aos mediadores dos mastócitos, reduzindo o processo inflamatório. Dessa forma, são usados a epinefrina, no tratamento da anafilaxia; os corticosteróides, no tratamento da asma brônquica e, para a maioria das doenças alérgicas, são usados processos de "dessensibilização" (administração repetida de doses pequenas de alérgenos) e anti-histamínicos.

Figura 3.4 | Sequência de eventos na hipersensibilidade imediata e ativação dos mastócitos



Fonte: (A) <<https://bit.ly/2Mvtqr2>>; (B) <<https://bit.ly/2P1yf8g>>. Acesso em: 23 ago. 2018

Na hipersensibilidade do tipo II, as doenças são causadas por anticorpos, sendo formas comuns de doenças imunológicas do tipo

crônicas nos seres humanos. Anticorpos do tipo IgM e IgG induzem a fagocitose das células a que se ligam, provocando inflamação devido ao recrutamento dos leucócitos mediados por receptor do complemento, o que pode alterar as funções celulares. Os anticorpos que causam a hipersensibilidade do tipo II são mais frequentemente anticorpos contra antígenos próprios do que antígenos estranhos (por exemplo, antígenos microbianos). Dessa forma, a produção de autoanticorpos é devido a falhas no processo de autotolerância. O Quadro 3.6 apresenta alguns exemplos de doenças causadas por anticorpos celulares ou teciduais específicos. Na maioria das doenças exemplificadas, os anticorpos são detectados no sangue ou nas lesões. O tratamento dessas doenças e das induzidas por hipersensibilidade do tipo III tem por objetivo limitar a inflamação, utilizando, portanto, os corticóides e, em casos mais graves, é recomendado a plasmaferese.

Quadro 3.6 | Doenças mediadas por anticorpos humanos

Exemplo de doenças causadas por anticorpos celulares ou teciduais específicos			
Doença	Antígeno-alvo	Mecanismo de doença	Manifestações clínico-patológicas
Anemia hemolítica auto-imune	Proteínas da membrana dos eritrócitos (antígeno Rh)	Opsonização e fagocitose dos eritrócitos	Hemólise, anemia
Púrpura trombocitopênica auto-imune	Proteínas da membrana das plaquetas	Opsonização e fagocitose das plaquetas	Sangramento
Pênfigo vulgar	Proteínas nas junções intercelulares das células epidérmicas (caderina epidérmica)	Ativação de proteases mediada por anticorpo, ruptura de adesões intracelulares	Vesículas (bolhas) na pele
Vasculite causada por ANCA	Proteínas dos grânulos dos neutrófilos.	Desgranulação dos neutrófilos e inflamação.	Vasculite.

Síndrome de Goodpasture	Proteína não colagenosa nas membranas basais dos glomérulos renais.	Inflamação mediada por complemento e receptor a Fc.	Nefrite, hemorragia pulmonar.
Febre reumática aguda	Antígeno da parede celular estreptocócica, anticorpo reage cruzadamente com antígeno miocárdico.	Inflamação, ativação dos macrófagos.	Miocardite, artrite.
Miastenia grave	Receptor a acetilcolina.	Anticorpo inibe ligação de acetilcolina, modula para baixo os receptores.	Fraqueza muscular, paralisia.
Doença de Graves (hipertireoidismo)	Receptor a TSH.	Estimulação mediada por anticorpo dos receptores ao TSH.	Hipertireoidismo.
Diabetes insulino-resistente	Receptor a insulina.	Anticorpo inibe ligação de insulina.	Hiperglicemia, cetoacidose.
Anemia perniciosa	Fator intrínseco das células parietais gástricas.	Neutralização do fator intrínseco, absorção diminuída de vitamina B12.	Eritropoiese anormal, anemia.

Fonte: adaptado de <<https://bit.ly/2LnUNOp>>. Acesso em: 23 ago. 2018

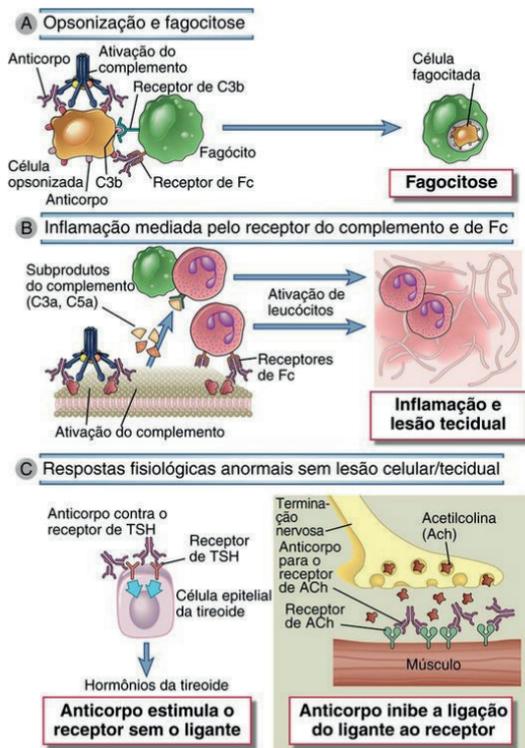


Pesquise mais

Pesquise mais sobre doenças de hipersensibilidade – distúrbios provocados por respostas imunes, lendo o capítulo 11 do livro de Imunologia Básica (Abbas, 2007. p. 213-228.)

- **Hipersensibilidade tipo III, Hipersensibilidade tipo IV:** na hipersensibilidade do tipo II e III, anticorpos específicos de antígenos tanto celulares quanto teciduais podem causar depósitos nos tecidos, resultando em várias lesões e induzindo uma inflamação local, o que interfere nas funções celulares. Anticorpos contra antígenos teciduais e imunocomplexos induzem processos inflamatórios ao atraírem e ativarem leucócitos. A figura 3.5 mostra os mecanismos causadores de doenças mediadas por anticorpos.

Figura 3.5 | Mecanismos causadores de doenças mediadas por anticorpos



Fonte: Abbas, 2007 (p.224). TSH: hormônio estimulador da tireoide. Ach: acetilcolina.

A figura 3.5 mostra que os anticorpos podem induzir doenças ao causar inflamação no local do depósito (A), opsonizando células para serem fagocitadas (B) e alterando as funções celulares normais, como ocorre com a sinalização de receptores hormonais (C). Todos os mecanismos mostrados na figura são visualizados com anticorpos que se

ligam diretamente aos antígenos-alvo, mas os imunocomplexos induzem doenças majoritariamente ao desencadearem processos inflamatórios (A). O Quadro 3.7 mostra as principais doenças do imunocomplexo humano, sendo que, nessas doenças, os imunocomplexos podem ser detectados tanto nos tecidos lesionados quanto no sangue.

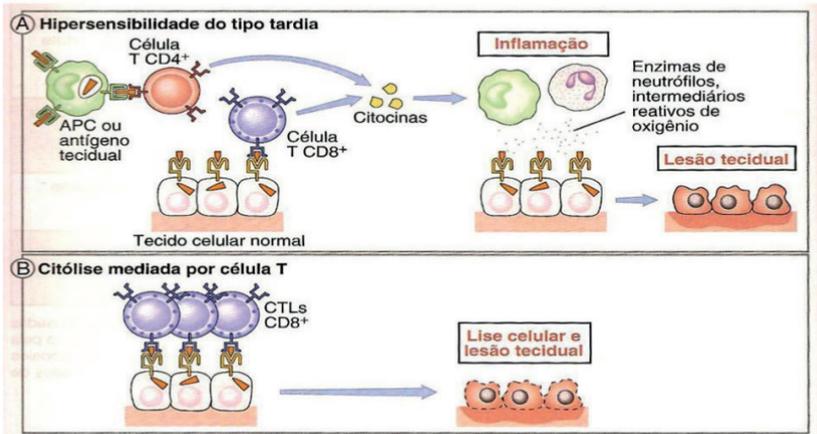
Quadro 3.7 | Doenças do imunocomplexo humano

Doença	Especificidade do anticorpo	Mecanismo da doença	Manifestações clinicopatológicas
Lúpus eritematoso sistêmico	DNA, nucleoproteínas, outros	Inflamação mediada por receptor de complemento e Fc	Nefrite, artrite, vasculite
Poliarterite nodosa	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B	Inflamação mediada por receptor de complemento e Fc	Vasculite
Glomerulonefrite pós-estreptocócica	Antígeno(s) da parede celular estreptocócica	Inflamação mediada por receptor de completo e Fc	Nefrite

Fonte: Abbas, 2007 (p. 226).

Na hipersensibilidade do tipo IV ou mediada por linfócitos T, as doenças são induzidas por reações do tipo tardia mediada por células T CD4⁺ ou são provocadas pela eliminação das células do hospedeiro por linfócitos T citotóxicos (CD8⁺). Reconhece-se que muitas das patologias mediadas por células T sejam causadas por autoimunidade e muitas vezes restringem-se a alguns poucos órgãos, ou seja, geralmente não são sistêmicas. A lesão tecidual pode ainda ser seguida por respostas completamente normais da célula T a microrganismos, um exemplo é o que ocorre na resposta imune contra a infecção pelo bacilo da tuberculose (*M. Tuberculosis*). Nesse caso, a resposta se cronifica, pois é uma infecção difícil de ser eliminada, levando a inflamação granulomatosa, provocando uma lesão em tecidos normais no foco da infecção comprometendo a função do órgão. Na hipersensibilidade do tipo tardia, a lesão tecidual é induzida por uma resposta mediada por células T CD4⁺ ou pela lise das células do hospedeiro induzidas pelos linfócitos T citotóxicos (CD8⁺). A Figura 3.6 mostra os mecanismos de lesão tecidual mediada por célula T.

Figura 3.6 | Mecanismos de lesão tecidual mediada por célula T



Fonte: Abbas, 2007 (p. 226).

(A) reações de hipersensibilidade tardia; (B) destruição direta de células-alvo, que é mediada por linfócitos T citotóxicos (CD8⁺). Em diversas doenças autoimunes mediadas por linfócitos T, tanto as células T CD4⁺ quanto células T CD8⁺ específicas para antígenos próprios participam da patogênese, sendo que ambas células cooperam para a lesão tecidual.

Reconhece-se que diversas doenças autoimunes específicas de órgãos em pessoas sejam provocadas por células T, tendo por base a identificação dessas células em lesões e em modelos animais correspondentes (Figura 3.7).

Figura 3.7 | Doenças mediadas por células T

Quadro 4 - Doenças imunológicas causadas por linfócitos T(2)			
Doença	Especialidade das células T patogênicas	Doença humana	Modelos animais
Diabetes mellitus tipo 1 (insulino-dependente)	Antígenos das células das ilhotas (insulina, ácido glutâmico descarboxilase, outros)	Sim, especialmente das células T não estabelecidas	Camundongo NOD, rato BB, modelos em camundongos transgênicos
Artrite reumatóide	Antígeno desconhecido na sinóvia articular	Sim, especialidade das células T e papel de anticorpo não estabelecidos	Artrite induzida por colágeno, outros

Esclerose múltipla encefalomielite auto-imune experimental	Proteína básica de mielina, proteína proteolípídica	Sim, células T reconhecem antígenos de mielina transgênicos	EAE induzida por imunização com antígenos de mielina do SNC, modelos com TCRs
Doença intestinal inflamatória (de Crohn, colite ulcerativa)	Desconhecida	Sim	Colite induzida por depleção de células T reguladoras, nocaute de IL-10
Neurite periférica	Proteína P2 de mielina dos nervos periféricos	Síndrome de Guillain-Barré	Induzida por imunização com antígenos da mielina dos nervos periféricos
Miocardite auto-imune	Proteína miocárdicas	Sim (miocardite pós-viral), especificidade das células T não estabelecida	Induzida por imunização com miosina ou infecção por vírus Coxsackie

Fonte: <<https://bit.ly/2w6Nw0s>>. Acesso em: 31 maio 2018.

O tratamento das alterações de hipersensibilidade mediadas por células T tem por objetivo reduzir o processo inflamatório. Dessa forma, são usados como fármacos de escolha, os corticoesteróides e antagonistas contra citocinas como o TNF, fora o uso de agentes imunossupressores, como a ciclosporina.



Refleta

Refleta sobre as reações de hipersensibilidade a fármacos: - Será que elas podem ser mediadas por linfócitos do sistema imune do tipo adaptativo? - Será que elas apresentam especificidade e memória imunológica? - Quais os mecanismos imunopatológicos envolvidos nessas reações? Se quiser aprimorar essa reflexão, leia mais no artigo intitulado **Mecanismos imunopatológicos das reações de hipersensibilidade a fármacos**. (Regateiro; Faria, 2016). Disponível em: <<https://bit.ly/2o6jUvO>>. Acesso em: 01 jun. 2018. . Acesso em 01 de junho de 2018.

Testes imunoalergênicos: o principal teste imunoalergênico utilizado é o da hipersensibilidade tipo tuberculínica. Esse método foi observado pelo mesmo médico que descobriu o bacilo da tuberculose ou bacilo de Koch (em homenagem ao dr. Robert Koch). Foi descrito que havia uma forma de hipersensibilidade observada em pacientes com tuberculose após a inoculação de tuberculina, que é um antígeno lipoproteico extraído do *Mycobacterium tuberculosis*. A reação é visualizada pela

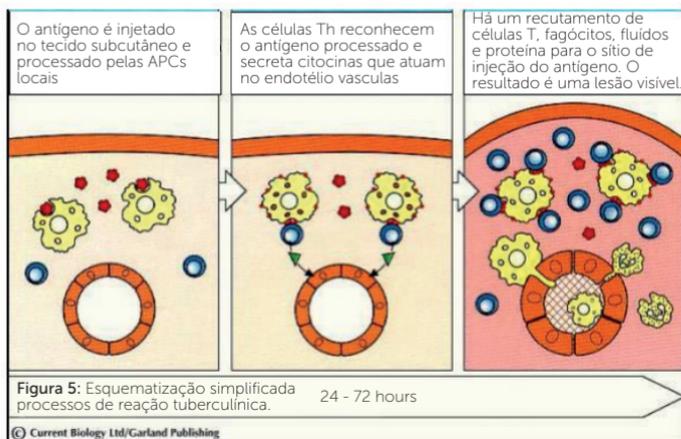
formação de um eritema na pele no local de administração da tuberculina. A importância relacionada ao conhecimento sobre a hipersensibilidade mediada pela tuberculina reside no fato de que esta reação pode ser usada no ensaio para avaliação da sensibilidade a um organismo após uma exposição prévia ao antígeno. Atualmente, utiliza-se um derivado proteico purificado (PPD) em substituição a tuberculina. Entretanto, nas pessoas infectadas com o bacilo da tuberculose existe uma grande variabilidade da intensidade da alergia, o que se observa verificando que a resposta individual varia com quantidades menores e maiores do inóculo. Além disso, em uma mesma pessoa, fases de maior ou menor reatividade ao teste podem ser alternadas. Inicialmente, o teste tuberculínico era utilizado como ensaio diagnóstico para fins clínicos. Atualmente, ele tem sido aplicado em indivíduos aparentemente saudáveis, com finalidades epidemiológicas.



Assimile

Assimile como é realizado um teste imunoalérgico apresentado de forma esquemática na Figura 3.8.

Figura 3.8 | Esquema simplificado do processo da reação tuberculínica



Fonte: <<https://bit.ly/2MT499H>>. Acesso em: 23 ago.

Sem medo de errar

Você se lembra do episódio relatado pelo médico residente? Ele disse que uma paciente do sexo feminino, natural da cidade do Rio de Janeiro,

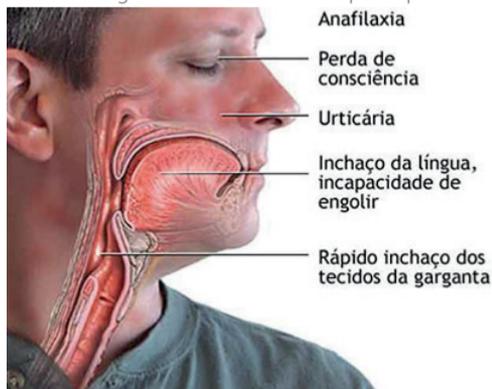
chegou ao hospital com dores no peito e enorme dificuldade para respirar. O residente prontamente pensou que seria um quadro de infarto do miocárdio, mas a paciente relatou outros sintomas: vômitos, náuseas e, o mais importante, relatou que tinha comido bolinhos de camarão e que não era a primeira vez que se sentia mal ao ingerir camarões. A sra. Maria, paciente que comeu bolinhos de camarão, também disse que, em outras vezes, após ingerir camarões, esses sintomas melhoravam cerca de duas horas depois. Helen logo associou o caso da sra. Maria a doenças relacionadas às reações de hipersensibilidade. Então, ela se perguntou:

Qual o tipo de hipersensibilidade ocorrida com a sra. Maria? As doenças por hipersensibilidade, como no caso ocorrido, são provocadas por uma reação "exagerada" do sistema imunológico a determinado agente antigênico e podem ser classificadas de acordo com o mecanismo imunológico que medeia a doença, em: tipo I, tipo II, tipo III e tipo IV. Na hipersensibilidade imediata (hipersensibilidade do tipo I), caso da sra. Maria, ocorre o choque anafilático, a resposta do sistema imune é mediada por linfócitos T_H2 , anticorpos IgE e mastócitos, induzindo a liberação de mediadores, como a histamina, que agem sobre os vasos e sobre a musculatura lisa, além de citocinas pró-inflamatórias, que recrutam novas células inflamatórias.

- Quais as orientações que devem ser dadas para a sra. Maria? Evitar o consumo de alimentos contendo camarões e frutos do mar.

- E quais os sintomas que a sra. Maria poderia apresentar durante esse episódio de alergia ou em outros? Helen esquematizou na Figura 3.8 as reações que ocorrem no caso de hipersensibilidade do tipo 1.

Figura 3.9 | Sintomas na alergia alimentar induzidas por hipersensibilidade do tipo 1



Fonte: <<https://bit.ly/2NcQV4t>>. Acesso em: 23 ago. 2018

- E qual o tratamento? De forma resumida, o tratamento consiste na administração imediata de adrenalina intramuscular (devido a reação anafilática), uso de corticoesteroides e anti-histamínicos, para reduzir os processos inflamatórios.

Avançando na prática

Teste tuberculínico – ensaio imunoalergênico

Descrição da situação-problema

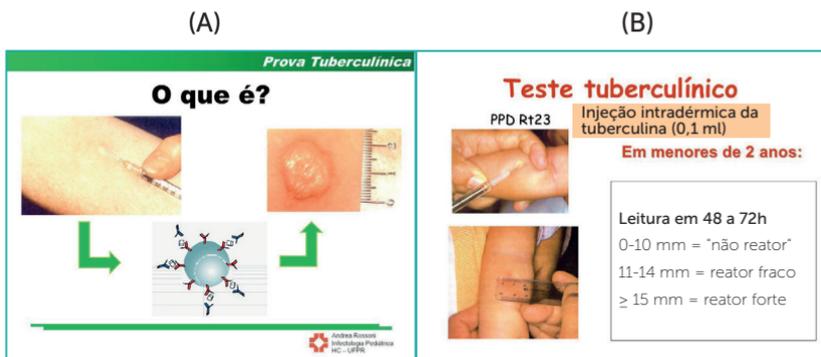
Helen estava acompanhando no hospital uma campanha de realização da prova tuberculínica. Ela aprendeu que quando o resultado é positivo à prova tuberculínica, isso não dá o diagnóstico da tuberculose ativa, no entanto significa que a pessoa foi infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis* em algum momento da vida. No hospital, o objetivo era a realização de uma investigação epidemiológica, cujos resultados seriam utilizados em uma dissertação de mestrado. Helen quis saber mais sobre o assunto: - O que é a tuberculina? - E qual é o fundamento da prova tuberculínica? - Como ela é aplicada e interpretada?

Resolução da situação-problema

E o que é a tuberculina? Helen verificou que é um produto obtido do cultivo de sete cepas diferentes de *M. tuberculosis*, sendo administrado como um líquido injetável, límpido, que pode ser incolor ou ligeiramente amarelado. **E qual é o fundamento da prova tuberculínica?** É um ensaio diagnóstico de infecção latente de tuberculose, baseado em uma reação de hipersensibilidade cutânea após a inoculação da tuberculina por via intradérmica, sendo recomendada a sua leitura entre 48 a 72h após a aplicação. A administração do antígeno induz uma reação do tipo antígeno-anticorpo, acompanhada de uma resposta dependente da reatividade celular de linfócitos T sensibilizados, ou seja, após uma nova exposição ao antígeno, tornam-se ativados e, conseqüentemente, são expressos no local de inoculação da tuberculina. Devido ao incremento da permeabilidade vascular, haverá a produção de eritema e edema localizado na derme, com pico entre 48 a 72

horas após a inoculação da tuberculina. A reação verificada nesse teste é um tipo de hipersensibilidade tardia. Esse teste é indicado na investigação da infecção latente pelo bacilo da tuberculose, que também é utilizada em estudos epidemiológicos. – **Como ela é aplicada e interpretada?** A Figura 3.10 mostra a aplicação e a leitura de um resultado da aplicação da prova tuberculínica.

Figura 3.10 | Teste tuberculínico



Fonte: (A) <<https://bit.ly/2LmrUSv>>; (B) <<https://bit.ly/2MsdSi>>. Acesso em 23 ago. 2018

Faça valer a pena

1. A reação de hipersensibilidade do tipo tardia (tipo IV) é mediada por linfócitos T CD4⁺ e por linfócitos T citotóxicos T CD8⁺. Acredita-se que diversas doenças de hipersensibilidade mediada por linfócitos T sejam induzidas por autoimunidade.

São exemplos de reação de hipersensibilidade mediada por células (Tipo IV), as doenças:

- Anafilaxia, esclerose múltipla, diabetes tipo 1, doença intestinal inflamatória.
- Diabetes tipo 2, artrite reumatoide, encefalomielite alérgica experimental.
- Miocardite autoimune, doença de Crohn, febre reumática aguda.
- Lúpus eritematoso sistêmico, neurite periférica, febre reumática aguda.
- Diabetes tipo 1, miocardite autoimune, neurite periférica.

2. A hipersensibilidade designa uma resposta imunológica do tipo adaptativa que ocorre de forma exacerbada. As reações de hipersensibilidade podem

ser desencadeadas por diversos antígenos e variam de indivíduo para indivíduo e são classificadas em quatro tipos: I, II, III e IV.

Na reação de hipersensibilidade do tipo I, a sequência de eventos que ocorre é:

a) As reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgE, esta se liga a receptores de Fc nos mastócitos. Uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata.

b) As reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgM, esta se liga a receptores de Fc nos mastócitos. Uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata.

c) As reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgG, esta se liga a receptores de Fc nos mastócitos. Uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata.

d) As reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgG e IgE, esta se liga a receptores de Fc nos mastócitos. Uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata

e) As reações do tipo imediata se iniciam pela introdução de uma substância alergênica, que estimula as reações dos linfócitos T (T_H2) e produção de IgG, IgE e IgM, esta se liga a receptores de Fc nos mastócitos. Uma próxima exposição à substância alergênica irá ativar os mastócitos, que irão secretar as substâncias mediadoras (aminas vasoativas, mediadores lipídicos), responsáveis pelas reações da hipersensibilidade imediata

3. Hipersensibilidade na área de saúde refere-se ao termo médico para uma reação exagerada do sistema imune a um agente reconhecido como estranho ao organismo. As reações de hipersensibilidade podem ser classificadas em quatro tipos: tipo I, tipo II, tipo III e tipo IV, tendo por base os mecanismos envolvidos e o tempo decorrido para a reação.

Em relação a hipersensibilidade do tipo III, analise as seguintes afirmativas:

- I. É produzida por complexos antígeno-anticorpo que induzem lesão tecidual como resultado de sua capacidade de ativar o sistema complemento;
 - II. O agente antigênico pode ser exógeno ou endógeno. O antígeno endógeno ocorre quando a pessoa produz anticorpo contra seus próprios elementos;
 - III. Os imunocomplexos formados na circulação podem induzir lesões em estruturas filtrantes, como os glomérulos renais, induzindo glomerulonefrite;
-
- a) Somente a afirmativa I está correta.
 - b) Somente a afirmativa II está correta.
 - c) Somente a afirmativa III está correta.
 - d) Somente as afirmativas I e II estão corretas.
 - e) As afirmativas I, II e III estão corretas.

Seção 3.3

Farmacologia aplicada ao sistema imune

Diálogo aberto

Helen estava acompanhando casos clínicos discutidos no laboratório de imunofarmacologia de pacientes que foram submetidos a transplante de fígado. Todos os pacientes transplantados necessitam de tratamento por toda a vida com fármacos imunossupressores, tendo por objetivo evitar a rejeição ao órgão. Helen aprendeu que as substâncias imunossupressoras possuem características farmacológicas intrínsecas aos mecanismos de ação, aos efeitos adversos e às indicações de uso. Dessa forma, o objetivo da terapia imunossupressora é encontrar um equilíbrio entre a prevenção contra rejeição do órgão transplantado e assegurar que os efeitos adversos sejam os mínimos possíveis. Helen se perguntou quais são as principais classes de imunossupressores e mais:

- Como os imunossupressores agem?
- Quais são os efeitos adversos mais comuns?
- E quais as principais interações farmacológicas?

Helen sabe que as interações entre fármacos podem elevar ou reduzir os níveis séricos dos imunossupressores, induzindo riscos ao tratamento.

Vamos ajudar a Helen nessas reflexões?

Não pode faltar

- **Principais fármacos imunossupressores:** os fármacos imunossupressores são utilizados em pacientes com doenças autoimunes e também naqueles que receberam transplantes. As substâncias imunossupressoras têm sido usadas há mais de 50 anos com a utilização dos corticosteroides, antimetabólitos e agentes alquilantes. Nas últimas décadas, a área da imunossupressão

começou a usar inibidores específicos da imunidade, que afetam vias imunológicas distintas. Essas alterações foram importantes, visto que melhoraram a eficácia e reduziram a toxicidade desses agentes, além do incremento no conhecimento sobre os mecanismos desses fármacos, a compreensão sobre o modo de atuação do sistema imune foi facilitada. Esses fármacos são utilizados na terapia dos distúrbios como rejeição imune aguda dos órgãos transplantados e doenças autoimunes. No entanto, esses tratamentos devem ser usados de forma contínua por toda a vida e a supressão é inespecífica, ou seja, afeta todo o sistema imune, expondo os pacientes a riscos significativamente maiores de infecção e câncer.

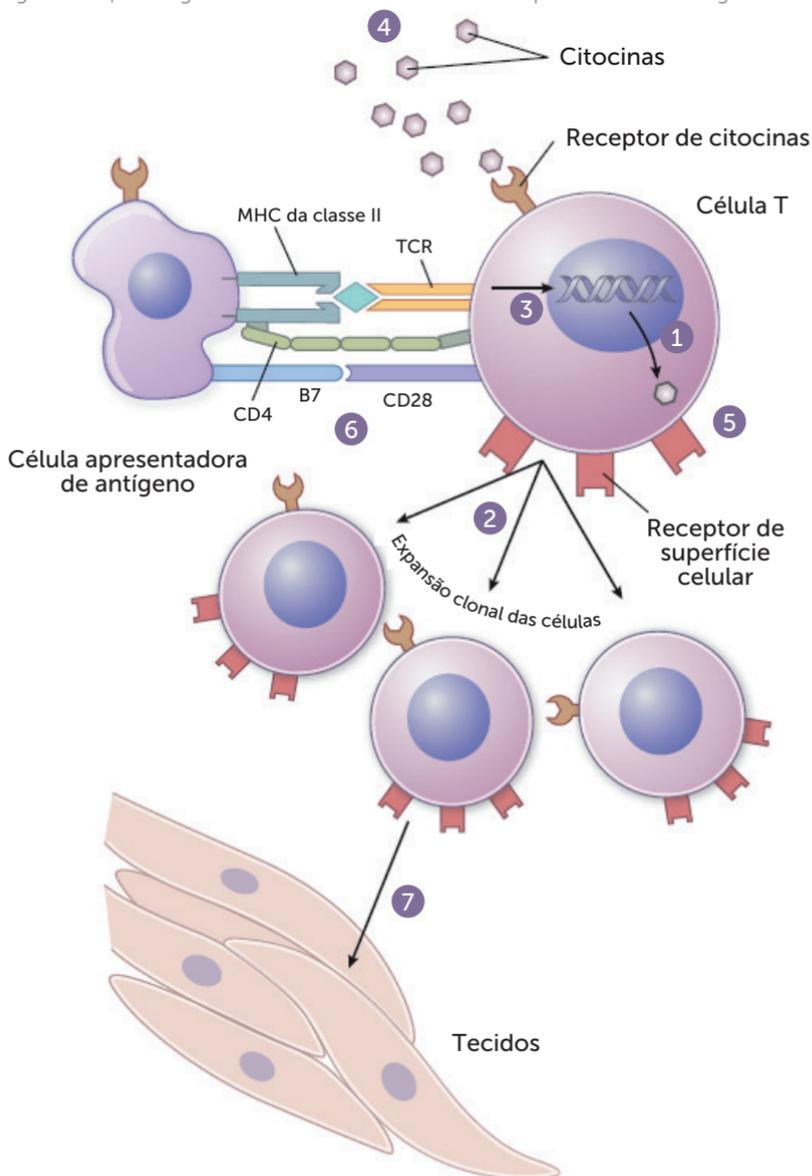
A supressão farmacológica do sistema imune utiliza oito abordagens terapêuticas com mecanismos de ação diferenciados:

1. Inibição da expressão gênica para modular respostas inflamatórias;
2. Uso de agentes citotóxicos para depletar populações de linfócitos em expansão;
3. Inibição da sinalização de linfócitos para interromper a ativação e expansão dessas células;
4. Neutralização de citocinas e receptores de citocinas que são cruciais na modulação da resposta imune;
5. Uso de anticorpos específicos contra células, induzindo a depleção de células imunes específicas;
6. Bloqueio da coestimulação para induzir anergia;
7. Impedir a adesão celular bloqueando a migração e o guiamento (*homing*) das células inflamatórias;
8. Inibição da imunidade inata, incluindo ativação do complemento.

Os mecanismos de ação dos fármacos imunossupressores podem ser vistos na Figura 3.11, sendo destacados os oito pontos principais de intervenção farmacológica por substâncias imunossupressoras. A interrupção na ativação das células T pode ser obtida por: (1) inibição da expressão gênica; (2) ataque seletivo em populações de linfócitos em expansão clonal; (3) inibição de sinalização intracelular; (4) neutralização das citocinas e de seus receptores necessários a estimulação das células T; (5) depleção seletiva de células T (ou outras células imunes); (6) inibição da coestimulação por células apresentadoras de antígeno; (7) inibição de interações

entre linfócitos e células-alvo. A supressão de células imunes inatas e a ativação do complemento também podem bloquear a iniciação das respostas imunes, porém não estão ilustradas na Figura 3.11.

Figura 3.11 | Visão geral dos mecanismos de imunossupressão farmacológica



Fonte: Golan (2014, p. 1889).

Conforme vimos, são diversas as abordagens para a supressão farmacológica da imunidade adaptativa, abrangendo desde as de menor especificidade, exemplificadas pelos glicocorticoides e agentes citotóxicos, até as mais específicas, tais como os inibidores de sinalização celular e terapias com anticorpos. A figura 3.12 apresenta os principais imunossupressores assim como resume os locais de ação dos imunossupressores que agem sobre a ativação dos linfócitos T.

Figura 3.12 | Locais de ação de agentes imunossupressores selecionados na ativação das células T

FÁRMACO	LOCAL DE AÇÃO
Glicocorticoides	Elementos de resposta aos glicocorticoides no DNA (regulam a transcrição dos genes)
Muromonabe-CD3	Complexo receptor das células T (bloqueia o reconhecimento dos antígenos)
Ciclosporina	Calcineurina (inibi a atividade da fosfatase)
Tacrolimo	Calcineurina (inibi a atividade da fosfatase)
Azatioprina	DNA (incorpora um nucleotídeo falso)
Micofenolato mofetila	Monofosfato de inosina desidrogenase (inibe sua atividade)
Declizumabe, basiliximabe	Receptor da IL-2 (bloqueia a ativação das células T mediada pela IL-2)
Sirolimo	Proteinocinase envolvida na progressão do ciclo celular (mTOR) (inibe sua atividade)

IL, interleucina; mTOR, alvo da rapamicina nos mamíferos

Fonte: Hilal-Dandan, (2015, p. 1843)

Apesar de serem eficazes como agentes supressores da resposta inflamatória e do sistema imune, os glicocorticoides causam muitos efeitos adversos, por isso as pesquisas avançam no sentido de encontrar moduladores dos receptores de glicocorticoides que mantenham as suas atividades anti-inflamatórias, mas com efeitos adversos menos graves sobre o metabolismo e a homeostasia mineral óssea. Da mesma forma,

os agentes citotóxicos apresentam efeitos adversos, pois, por terem como alvo a replicação do DNA, eles agem sobre as células do sistema imune, mas também em células normais do organismo. Fármacos que inibem as vias de sinalização dos linfócitos, tais como a ciclosporina, o tacrolimo, sirolimo e everolimo, são mais seletivos e outros inibidores de vias de transdução de sinais estão em fase de pesquisa. Pesquisas recentes têm por objetivo a manipulação do sistema imune, usando microRNA, visto que desempenham funções reguladoras importantes na imunidade. Usando modelos animais, acredita-se que a modulação seletiva de microRNA poderá levar a um maior controle sobre a imunossupressão.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre a farmacologia da imunossupressão lendo o capítulo 45 do livro *Princípios de Farmacologia – a base fisiopatológica da farmacologia*.

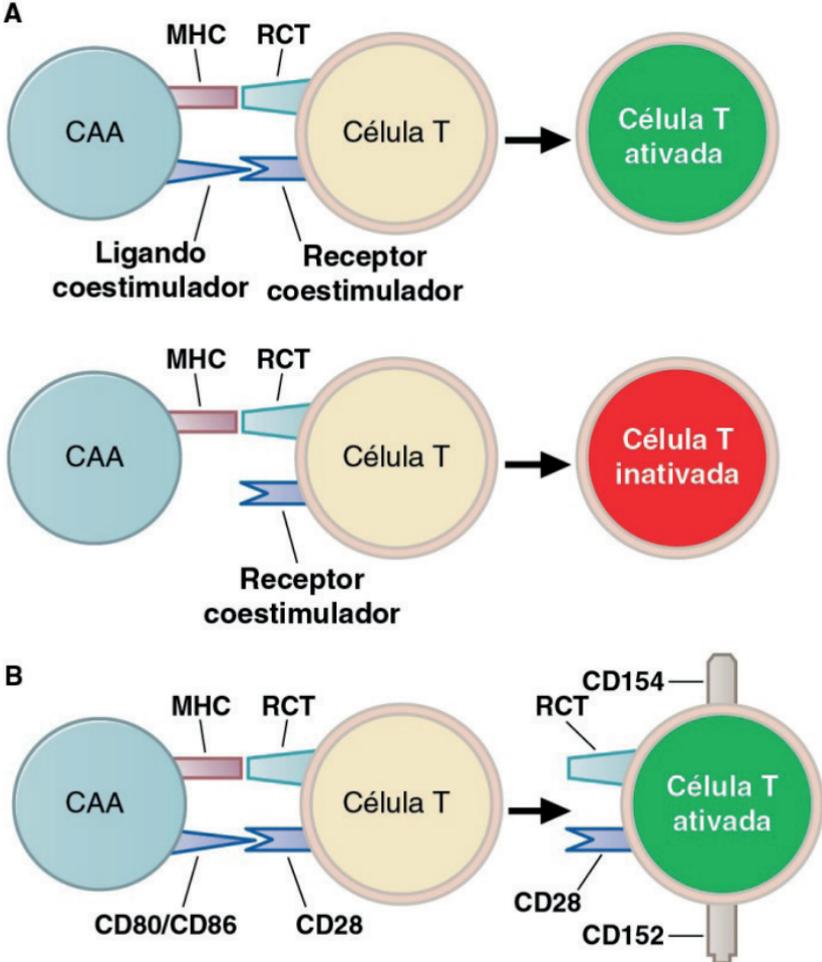
GOLAN. David E. et al. **Princípios da Farmacologia: a base fisiopatológica da farmacologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

- **Fármacos tolerógenos:** como vimos, a imunossupressão suscita riscos inerentes relacionados a infecções oportunistas e tumores secundários. Por isso, as pesquisas realizadas em relação à área de transplante de órgãos e patologias autoimunes têm como foco a manutenção da tolerância imunológica ou a indução de não reatividade aos antígenos específicos. Caso a tolerância fosse alcançada, isso representaria um avanço em relação aos efeitos adversos que ocorrem com o uso de imunossupressores. A classe dos inibidores da calcineurina bloqueia a indução de tolerância em alguns modelos pré-clínicos. O sirolimo, por sua vez, não impossibilita a tolerância, ao contrário, pode até mesmo auxiliar a sua indução. O sirolimo é um fármaco que inibe o sistema imunológico e é indicado para evitar a rejeição em transplantados renais. Uma maneira de se conseguir a tolerância é através do bloqueio do sinal coestimulatório, isso ocorre porque a indução das respostas específicas do sistema imune pelos linfócitos T resulta de dois

sinais: através de receptores nas células T o antígeno induz um estímulo específico e um sinal coestimulatório, induzido pela interação das moléculas com o CD28, presente nas células T, e por CD80 e CD86, presentes nas células apresentadoras de estímulo (APCs). A Figura 3.13 esquematiza como é a inibição desse sinal coestimulatório, demonstrando que dois sinais são imprescindíveis à ativação dos linfócitos T ((Figura 3.13 (A)). O primeiro sinal é transmitido via receptor dos linfócitos T (RCT), enquanto o segundo sinal necessita da formação de um par coestimulatório, representado pelo ligante e seu receptor. Na ausência do segundo sinal, o primeiro sinal origina em células T inativadas. Na Figura 3.13 (B), podemos observar uma via coestimulatória, que envolve o CD28, presente nos linfócitos T, e os CD80 E CD86, presentes nas células apresentadoras de antígeno. Após a ativação do linfócito T, essa célula irá expressar outras moléculas coestimulatórias. Tendo como alvo a inibição desses sinais coestimulatórios, várias moléculas e anticorpos estão sendo desenvolvidos para serem utilizados em pacientes portadores de linfoma não Hodgkin, mas, provavelmente, também são desenvolvidos para autoimunidade e transplantes. Como exemplo temos o abacepte (CTLA4-Ig), que age inibindo competitivamente a ligação do CD28 ao CD80 e CD86 e, assim, a ativação de células T. Essa proteína é eficaz no tratamento da artrite reumatoide em pacientes que não reagem bem ao tratamento com outros fármacos. Outro exemplo é o belatacepte, que possui maior afinidade com CD80 e com CD86, e está aprovado como imunossupressor em pacientes submetidos a transplante renal. Outra investigação potencial é a indução do quimerismo, que constitui a coexistência de células de duas linhagens genéticas na mesma pessoa. Isso é conseguido através da eliminação da função imune do receptor (radiação ionizante, fármacos e/ou tratamento com anticorpos). Em seguida, será fornecida ao paciente uma transferência adotiva de medula óssea ou células-tronco hematopoiéticas. Com isso, após o restabelecimento do sistema imune, o receptor não irá mais reconhecer como estranhos os antígenos novos que foram recém apresentados. A vantagem desse método é que a tolerância é duradoura. Outro tratamento se utiliza de antígenos específicos que induzem tolerância imunológica em

modelos pré-clínicos de esclerose múltipla, artrite e *Diabetes mellitus*. Nos estudos pré-clínicos, essa inibição é seletiva para as respostas imunes a antígenos específicos, sem a toxicidade relacionada aos tratamentos imunossupressores.

Figura 3.13 | Coestimulação



Legenda (Figura 3.13) *Coestimulação*. A. Dois sinais são necessários à ativação das células T. O sinal 1 é transmitido *via* receptor das células T (RCT), enquanto o sinal 2 depende de um par coestimulatório formado pelo ligante e seu receptor. Na ausência do sinal 2, o sinal 1 resulta em células T inativadas. B. Uma via coestimulatória importante envolve o CD28 presente na célula T e o B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) encontrados nas células apresentadoras de antígeno (CAA). Depois da ativação da célula T, ela expressa outras moléculas coestimulatórias. O CD152 é o ligante do CD40, que interage com o CD40 para formar um par coestimulador. O CD154 (CTLA4) interage com o CD80 e o CD86 para arrefecer ou infrarregular a resposta imune. Os anticorpos contra CD80, CD86 e CD152 estão sendo avaliados como agentes terapêuticos potenciais. A CTLA4-Ig, uma proteína quimérica formada por parte da molécula de uma imunoglobulina e parte do CD154, também foi avaliada como agente terapêutico.

Fonte: Hilal-Dandan(2015, p. 1843)

- **Principais fármacos imunoestimulantes:** os fármacos imunoestimulantes têm um mecanismo de ação oposto aos agentes imunossupressores: os primeiros são utilizados em processos infecciosos, imunodeficiências e no tratamento do câncer, enquanto que os imunossupressores inibem a resposta imune na rejeição aos transplantes e na autoimunidade. Entre os principais agentes imunoestimuladores, podemos citar a talidomida, a lenalidomida, o bacilo de Calmette-Guérin (BCG), o levamisol, além disso, as citocinas recombinantes (os interferons e as interleucinas) e, finalmente, as vacinas. O mecanismo de ação da talidomida como agente imunoestimulador ainda não é conhecido, entretanto o fato dela induzir anomalias congênitas graves, quando administrada em gestantes, é bem conhecido, por isso não pode ser utilizada em mulheres grávidas ou que possam engravidar durante a terapia. A talidomida é um fármaco indicado no tratamento do mieloma múltiplo em pacientes com eritema nodoso, além de ser indicada para o tratamento de infecções micobacterianas, doença de Crohn, lúpus, neoplasias cerebrais malignas, hanseníase, dentre outras patologias associadas ou não ao vírus da imunodeficiência humana, como o sarcoma de Kaposi. A lenalidomida é um análogo da talidomida e tem o mesmo risco de induzir anomalias congênitas, por isso as mesmas recomendações são indicadas (a gravidez deve ser evitada). É indicada para o tratamento de paciente com anemia dependente de transfusões, têm um risco significativo de provocar trombose venosa profunda (induz neutropenia e trombocitopenia significativas). Os bacilos vivos de Calmete-Guérin são obtidos a partir de uma cultura atenuada da bactéria *Mycobacterium bovis*, que induz uma reação granulomatosa no inóculo. Apresenta um mecanismo de ação ainda desconhecido, mas é ativo contra tumores e por isso é indicado no tratamento do carcinoma *in situ* da bexiga. Também possui efeitos adversos, tais como a indução de hipersensibilidade, calafrios, choque e doenças provocadas pela formação de imunocomplexos. O uso de citocinas recombinantes, entre elas, os interferons (α , β e γ). O mecanismo de ação é pela ligação a receptores específicos na superfície da célula, induzindo vários eventos intracelulares, indução enzimática, inibição da proliferação celular incrementando as atividades do sistema imune, incluindo a fagocitose por

macrófagos e a citotoxicidade mediada por linfócitos T. Fora isso, os interferons são conhecidos por terem atividade antiviral, além das propriedades imunomoduladoras. O IFN- α -2b é indicado para o tratamento de vários tumores (tricoleucemia, melanoma maligno, linfoma folicular e sarcoma de Kaposi associado a Aids) e para doenças infecciosas, hepatite B crônica e condiloma acuminado. Entre as reações adversas, podemos citar as que envolvem o sistema cardiovascular (hipotensão, arritmias e raramente miocardiopatia e infarto do miocárdio) e o desenvolvimento de hipertensão pulmonar. O IFN- β -1e o IFN- β -1b são glicoproteínas que possuem propriedades antivirais e imunomoduladoras. Esses dois tipos de interferon foram aprovados pelo FDA para o tratamento da esclerose múltipla recidivante com o intuito de reduzir a frequência das exacerbações clínicas. A imunização ativa, por meio da vacinação, é realizada através da administração de um antígeno (microrganismo inativado, atenuado ou uma parte proteica ou peptídica). A vacinação reduziu ou eliminou várias infecções significativas, tais como o sarampo, a caxumba, a coqueluche, a rubéola, dentre outros processos infecciosos. Uma nova geração de vacinas tem como alvo uma proteção parcial ou total contra cânceres e doenças autoimunes. Por último, a utilização de imunoglobulinas, que confere uma imunização passiva, é indicada para pessoas que apresentam deficiências de anticorpos provocadas por imunodeficiências congênitas ou adquiridas. Além disso, quando um paciente está sob elevado risco ao ter sido exposto a uma substância patogênica e não há tempo hábil para a imunização ativa, como sarampo, hepatite B e raiva ou, ainda, quando a patologia já está instaurada, mas pode ser atenuada pela administração de anticorpos passivos, como botulismo, tétano e difteria.



Exemplificando

Tratamentos atuais para esclerose múltipla: os tratamentos específicos têm como objetivos reduzir as recidivas, impedir os episódios agudos e retardar a progressão da incapacidade, que é característica da esclerose múltipla. Para isso, são utilizados glicocorticoides nos episódios agudos; já nas recidivas, são utilizadas terapias imunomoduladoras, tais como interferons β -1 [IFN- β -1a, IFN- β -1b] e acetato de glatiramer.



Pesquise mais sobre a farmacologia da imunomodulação lendo o capítulo 46 do livro *Princípios de Farmacologia – a base fisiopatológica da farmacologia*

GOLAN. David E. et al. **Princípios da Farmacologia**: a base fisiopatológica da farmacologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014

- **Farmacoterapia das alergias sistêmicas e cutâneas:** temos visto que o sistema imunológico é organizado tendo em vista a proteção do indivíduo, entretanto, em determinadas situações, ele pode induzir doenças. Desta forma, temos as doenças de hipersensibilidade, que estão relacionadas aos processos de resposta imune adaptativa. A denominação alergia tem sido utilizada de forma generalizada, como sendo a causa de sintomas relacionados a doenças de diferentes etiologias. O ponto em comum entre as diferentes doenças denominadas como alérgicas é a participação de um processo imunológico. Classicamente, as quatro reações de hipersensibilidade que vimos na seção 2 são processos do tipo alérgico, entretanto o termo alergia está frequentemente relacionado às reações mediadas por imunoglobulinas do tipo E (hipersensibilidade tipo I ou anafilática). Atualmente, o termo atopia é definido como sendo uma característica genética, em sintetizar anticorpos da classe IgE de modo contínuo e elevado, contra substâncias inócuas encontradas no meio ambiente, mas consideradas como antigênicas pelo sistema imunológico dos indivíduos alérgicos, podendo induzir condições clínicas como alergias alimentares, dermatite atópica, asma e rinite. Em uma sequência típica, os pacientes são acometidos por uma gama de doenças relacionadas aos processos alérgicos, denominada como “marcha atópica”. Os sintomas de asma, rinite e conjuntivite iniciam-se mais tardiamente e estão relacionados a substâncias alergênicas inalantes, enquanto que, nos primeiros anos de vida, os sintomas são em sua maioria gastrointestinais e a eczemas cutâneos. A influência genética é destacada por estimativas que indicam que a probabilidade de uma criança tendo os pais atópicos em desenvolver processos alérgicos chega a 70%. A influência ambiental é menor, visto que a probabilidade é de menos de 10% nas famílias não

atópicas, entretanto a prevalência dessas doenças alérgicas vem aumentando em países industrializados.



Refleta

Refleta sobre as hipóteses sugeridas para explicar o porquê do aumento dos processos alérgicos. Uma dessas hipóteses associa a falta de estímulos infecciosos, levando a uma desregulação do sistema imune. A diminuição nesses estímulos levaria a uma redução na produção de linfócitos Th1, direcionando o padrão de resposta imune para Th2, causando uma expressiva produção de IgE específica e a manifestação de doenças alérgicas.

As doenças mediadas por IgE caracterizam-se por uma fase de sensibilização e uma fase de provocação. Na primeira fase haverá a sensibilização dos linfócitos após um período de exposição ao alérgeno, levando à produção de IgE. Nessa fase, que pode durar de dias a anos, o paciente não apresentará os sintomas alérgicos, entretanto estará sensibilizado. A fase de provocação irá ocorrer após uma nova exposição a substância alergênica é representada pela reação de hipersensibilidade do tipo I. Tem por características ser uma fase imediata, tendo uma resposta rápida (ocorre minutos após a exposição alergênica), devido à ligação do antígeno às moléculas de IgE ancoradas nos mastócitos e basófilos. O contato do antígeno induz a transdução de sinais que ativam essas células, iniciando o processo de desgranulação com liberação de mediadores químicos responsáveis pela sintomatologia. Dentre elas, a histamina presente nos grânulos, citocinas e metabólitos de mediadores lipídicos, como leucotrienos e prostaglandinas que são rapidamente produzidos. Os sintomas podem ser localizados ou generalizados, induzindo um quadro potencialmente fatal, seguido de uma exposição sistêmica ao alérgeno (por exemplo, a um fármaco), conhecida como reação anafilática. A compreensão da natureza sistêmica das doenças atópicas tem sido proposta devido à participação da medula óssea, variação de eosinófilos no sangue periférico e o *homing* de células para os tecidos periféricos durante a exposição alergênica.

Desde o lançamento da fenbenzamina, considerada o primeiro anti-histamínico, essa classe medicamentosa é foco de interesse científico pelas suas múltiplas propriedades antialérgicas.



Assimile

Assimile sobre o mecanismo de ação dos anti-histamínicos, um antagonista do receptor H1 da histamina, principal mediador das respostas alérgicas. Podem ser classificados como de primeira e segunda geração, sendo que os anti-histamínicos de primeira geração, por serem lipofílicos, atravessam a barreira hematoencefálica, induzindo vários efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC), sendo o mais comum e conhecido do paciente, a sedação. Além disso, possuem atividades anticolinérgicas e potencializam o efeito depressor do álcool, dos inibidores da monoaminoxidase, dos barbitúricos e dos benzodiazepínicos. Para minimizar os efeitos adversos sobre o trato gastrointestinal (TGI), sugere-se ingerir os anti-histamínicos junto com as refeições, o que minimiza esses efeitos.

Sem medo de errar

Helen estava acompanhando casos clínicos discutidos no laboratório de imunofarmacologia sobre pacientes que foram submetidos a transplante de fígado. Todos os pacientes transplantados necessitam de tratamento por toda a vida com fármacos imunossupressores, tendo por objetivo evitar a rejeição ao órgão. O objetivo da terapia imunossupressora é encontrar um equilíbrio entre a prevenção contra rejeição do órgão transplantado e assegurar que os efeitos adversos sejam os mínimos possíveis. Helen se perguntou quais são as principais classes de imunossupressores e mais:

- Como os imunossupressores agem? Os fármacos imunossupressores são usados para diminuir a resposta imune no transplante de órgãos e nas doenças autoimunes.

- Quais são os efeitos adversos mais comuns? Helen resumiu no Quadro 3.8 alguns imunossupressores tendo em vista as indicações no transplante de fígado, o resumo de seus mecanismos de ação e seus efeitos adversos mais comuns.

Quadro 3.8 | Fármacos imunossupressores quanto à indicação no transplante, mecanismos de ação e efeitos mais comuns

Imunossupressor	Indicação no transplante	Mecanismo de ação	Efeitos adversos
Hidrocortisona	Indução e manutenção da imunossupressão; tratamento das rejeições celulares agudas.	Bloqueiam a expressão de citocinas das células T e das células apresentadoras de antígeno.	Hiperglicemia; Hipertensão; Dislipidemia; Obesidade; Hirsutismo; Retardo na cicatrização; Retardo no crescimento; Infecções oportunistas; Osteoporose; Supressão adrenal; Aparência cushingoide; Alterações do humor; Distúrbios do sono.
Metilprednisolona			
Prednisona			
Tacrolimo	Manutenção da imunossupressão	Liga-se à FKBP12 formando complexos que inibem a calcineurina	Nefrotoxicidade; Hipertensão; Dislipidemia; Neurotoxicidade; Diabetes pós-transplante; Hipercalemia; Hipomagnesemia; Hirsutismo; Hiperplasia gengival; Infecções oportunistas; Malignidades.
Ciclosporina		Liga-se à ciclofilina formando complexos que inibem a calcineurina	Semelhante ao tacrolimo, porém: - Mais problemas cardiovasculares; - Mais hirsutismo e hiperplasia gengival; - Menos diabetes pós-transplante; - Menos neurotoxicidade.

Micofenolato de Sódio	Manutenção da imunossupressão; tratamento das rejeições.	Inibem a IMPDH (Inosina monofosfato desidrogenase)	Náuseas e vômitos; Diarreia; Leucopenia; Trombocitopenia; Anemia.
Micofenolato de Mofetil			
Sirolimo	Manutenção da imunossupressão; tratamento das rejeições; interesses especiais para uso em doenças malignas.	Liga-se à FKBP12(proteína de ligação do FK506) formando complexos que inibem a mTOR	Retardo na cicatrização; Hipertensão; Edema; Dislipidemia; Diarreia; Anemia; Trombocitopenia; Cefaleias; Doença pulmonar intersticial; Trombose da artéria hepática; Aftas; Acne; Infecções oportunistas; Malignidades.
Everolimo			

Fonte: adaptado de Sá (2016, p. 114).

- E quais as principais interações farmacológicas? Helen esquematizou no Quadro 3.9 as principais interações farmacológicas. Helen sabe que as interações entre fármacos podem elevar ou reduzir os níveis séricos dos imunossupressores, induzindo riscos ao tratamento.

Quadro 3.9 | Principais interações medicamentosas que alteram os níveis séricos dos imunossupressores

Imunossupressor	Elevam os níveis séricos	Reduzem os níveis séricos
Corticoesteróides	<ul style="list-style-type: none"> • Itraconazol; • Fluconazol; • Ritonavir; • Lopinavir. 	<ul style="list-style-type: none"> • Barbitúricos; • Fenitoína; • Rifampicina; • Rifapentina;

Inibidores da calcineurina	<ul style="list-style-type: none"> • Antibióticos macrolídeos; • Antifúngicos azólicos; • Bloqueadores dos canais de cálcio; • Inibidores de protease; • Antiarrítmicos; • Inibidores da bomba de prótons; • Alopurinol; • Fluoxetina; • Álcool; • Toranja*. 	<ul style="list-style-type: none"> • Anticonvulsivantes (fenobarbital, carbamazepina e fenitoína); • Anfotericina; • Rifampicina; • Isoniazida; • Griseofulvina; • Caspofungina; • Efavirez; • Fenitoína; • Fosfenitoína; • Sirolimo; • Octreotida.
Antiproliferativos	<ul style="list-style-type: none"> • Aciclovir; • Ganciclovir; • Valaciclovir; • Salicilatos; • Furosemida; • Probenecida. 	<ul style="list-style-type: none"> • Corticosteroides; • Ciclosporina; • Quinolonas; • Metronidazol; • Rifamicina; • Inibidores da bomba de prótons; • Sequestradores de ácidos biliares; • Sevelamer; • Antiácidos.
Inibidores da mTOR**	<ul style="list-style-type: none"> • Antibióticos macrolídeos; • Antifúngicos azólicos; • Bloqueadores dos canais de cálcio; • Inibidores de protease; • Ciclosporina; • Procinéticos; • Toranja*. 	<ul style="list-style-type: none"> • Fenitoína; • Fosfenitoína; • Efavirez.

*Também conhecida como grapefruit, é uma fruta cítrica híbrida resultante do cruzamento do pomelo com a laranja. **mTOR: proteína alvo de rapamicina em mamíferos (do inglês: *mammalian target of rapamycin*).

Fonte: Adaptado de Sá (2016 p. 115).

Interações entre fármacos

Descrição da situação-problema

Helen ao acompanhar o caso clínico sobre uso de imunossupressores em pacientes que realizaram transplante de fígado e as interações farmacológicas, se interessou muito sobre o assunto. Especificamente, Helen quis aprender mais como as interações entre fármacos podem elevar ou reduzir os níveis séricos de fármacos, induzindo riscos ao tratamento. E mais: como plantas e alimentos podem influenciar nessas interações? Vamos ajudar a Helen a pensar sobre essas considerações?

Resolução da situação-problema

Os profissionais da saúde, especificamente os médicos e os farmacêuticos, reconhecem que a ciclosporina interage com vários fármacos, conforme a Helen visualizou acompanhando o caso clínico de pacientes submetidos ao transplante de fígado. E como isso ocorre? Qualquer fármaco que altere as enzimas microsossomais, especialmente o sistema enzimático das CYP3A, pode modificar as concentrações plasmáticas da ciclosporina. Desta forma, os fármacos que aumentam a atividade dessa enzima podem aumentar o metabolismo da ciclosporina, diminuindo as suas concentrações plasmáticas. O inverso, os que inibem essa enzima podem reduzir o metabolismo da ciclosporina, aumentando as suas concentrações plasmáticas. Além disso, algumas plantas podem modificar os parâmetros farmacocinéticos e/ou farmacodinâmicos de diferentes tipos de fármacos. Um desses alimentos, de acordo com as investigações realizadas pela Helen, é o alho, que pode aumentar ou diminuir a biodisponibilidade de alguns fármacos (relaxantes musculares e anti-retrovirais, respectivamente). Helen percebeu, conversando com os pacientes, que muitos deles tomam os fármacos receitados pelos médicos, mas, por desconhecerem os riscos, consomem ao mesmo tempo preparados à base de plantas. Helen explicou que no caso dos imunossupressores, tanto a

diminuição da concentração do fármaco quanto o seu aumento podem ser prejudiciais para o paciente, sendo um exemplo o caso dos imunossupressores

Faça valer a pena

1. Os imunossupressores são fármacos utilizados para suprimir a rejeição em receptores de transplante de órgãos e também no tratamento de diversas doenças inflamatórias e imunopatias.

Relacione os agentes imunossupressores listados na coluna da esquerda com o local de ação de cada fármaco, na coluna da direita.

1. Tracolimus.	() Inibição da atividade enzimática da fosfatase.
2. Micofenolato mofetila.	() Inibição enzimática (monofosfato de inosina desidrogenase/calcineurina).
3. Basiliximab.	() Bloqueio da atividade das células T mediada pela interleucina IL2.
4. Azatioprina.	() Incorpora um falso nucleotídeo do ácido desoxirribonucleico.

Assinale a alternativa que apresenta a numeração correta da coluna da direita, de cima para baixo:

- a) 4 – 3 – 1 – 2.
- b) 2 – 1 – 4 – 3.
- c) 1 – 2 – 3 – 4.
- d) 4 – 2 – 3 – 1.
- e) 4 – 3 – 2 – 1.

2. Os imunomoduladores são fármacos que, por diversos mecanismos, interferem na resposta imune, modificando a evolução das doenças. Podem ser classificados em fármacos imunossupressores, imunoestimulantes e tolerógenos.

Relacione os agentes imunomoduladores listados na coluna da esquerda com as características de cada fármaco na coluna da direita:

1. Fármacos imunossupressores	() São usados em processos infecciosos, imunodeficiências e no tratamento do câncer.
2. Fármacos imunoestimulantes	() Inibem a resposta imune na rejeição aos transplantes e na autoimunidade. São exemplos a talidomida e o BCG.
3. Fármacos tolerógenos	() Têm como foco a manutenção da tolerância imunológica ou a indução de não reatividade aos antígenos específicos.

Assinale a alternativa que apresenta a numeração correta da coluna da direita, de cima para baixo:

- a) 1 – 2 – 3.
- b) 3 – 2 – 1.
- c) 2 – 3 – 1.
- d) 3 – 1 – 2.
- e) 2 – 1 – 3.

3. A alergia é uma reação do sistema imune a uma série de substâncias consideradas pelo organismo do alérgico como alergênicas, tais como fungos, fármacos, pelos de animais, poeira, pólen, dentre vários outros. No tratamento das alergias, os fármacos mais utilizados são os anti-histamínicos que, de acordo com o próprio nome indica, atuam inibindo a ação da histamina.

Em relação aos anti-histamínicos, marque a alternativa correta:

- a) Um dos principais efeitos adversos desses fármacos é a euforia, induzida, principalmente, por fármacos de primeira geração.
- b) Sugere-se a ingestão dos anti-histamínicos em jejum, visto que isso potencializa o mecanismo de ação.
- c) Os anti-histamínicos possuem atividades colinérgicas e potencializam o efeito depressor do álcool, dos inibidores da monoaminoxidase, dos barbitúricos e dos benzodiazepínicos.

d) Os anti-histamínicos de segunda geração, por serem lipofílicos, atravessam a barreira hematoencefálica, induzindo vários efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC).

e) Os anti-histamínicos de primeira geração atravessam a barreira hematoencefálica, induzindo vários efeitos sobre o sistema nervoso central (SNC), incluindo a sedação.

Referências

- ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. **Imunologia básica**. Funções e distúrbios do sistema imunológico. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p. 354.
- COLLEONI, Gisele W.B. et al. Linfomas: diagnóstico e tratamento. **Infectologia Hoje**. São Paulo, 2009, p. 1 -9
- FERREIRA, Antonio Walter; MORAES, Sandra do Iago. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, p. 471
- FERREIRA, Orlando et al. **Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
- GOLAN, David E. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- HILAL-DANDAN, Randa; BRUNTON, Laurence. **Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman**. 2. ed. McGrawHill. 2015.
- MARTINS, Milton de Arruda; CARRILHO, Flair José; ALVES, Venâncio Avancini Ferreira. **Clínica Médica**. Vol.7. 2. ed. Barueri, SP: Manole. 2015, p. 842.
- McPHERSON, Richard A. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais de HENRY**. 21 ed. Barueri, SP: Manole, 2012, p.1611.
- SÁ, Raphael Colares de; SOARES, Camilo Reuber Souza. Terapia imunossupressora no transplante de fígado: contribuição para a enfermagem. **Rev. Atenção à Saúde**, São Paulo, v. 14, n. 50. 2016, p. 111-125.

Virologia

Convite ao estudo

Prezado aluno,

Vamos iniciar nossos estudos sobre virologia falando sobre o tamanho e a estrutura viral. Os vírus têm tamanhos variados, podendo se assemelhar ao tamanho de uma proteína grande (~20 nm) ou, até mesmo, a uma célula menor (~300nm). Na microscopia eletrônica, os são visualizados na forma de esferas ou bastões. Os vírus são compostos por DNA ou RNA, mas nunca são constituídos por ambos ácidos nucleicos, possuem uma cobertura proteica denominada de capsídeo. Existem vírus envelopados e não envelopados, ou seja, uma estrutura lipoproteica que se torna a superfície externa da superfície do vírus que não possui capsídeo. Os vírus possuem um ciclo de replicação viral onde é necessária a adsorção viral, em que haverá a interação de proteínas da superfície do vírus com receptores específicos na superfície da célula do hospedeiro. Isso varia de acordo com a especificidade viral e também com a especificidade viral a determinados órgãos. Uma estratégia viral de evasão do sistema imune do hospedeiro é a produção de variantes antigênicos de suas proteínas de superfície. Dessa forma, os anticorpos sintetizados contra um variante antigênico (sorotipo) serão incapazes de inibir um sorotipo diferente. E mais, alguns vírus produzem múltiplos sorotipos. Algumas proteínas internas, presentes nos vírus, podem ser DNA ou RNA- polimerase, constituem alvos moleculares para a terapia antiviral. Veremos que a toxicidade dos fármacos antivirais se baseia no fato de que os vírus necessitam do mecanismo bioquímico da célula do hospedeiro para que ocorra a síntese de seus componentes. Entretanto, o desenvolvimento de fármacos evoluiu juntamente com o conhecimento sobre

os processos de biossíntese virais que são específicos dos vírus e, dessa forma, servem como alvos para as substâncias antivirais. Como exemplo, podemos citar algumas enzimas virais como a timidino-cinase e a helicase-primase dos herpes vírus, assim como a transcriptase reversa e a protease, ambas fundamentais para a replicação do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). Veremos aspectos direcionados aos vírus que induzem doenças no organismo humano, tais como herpes vírus humano, o vírus da influenza, sarampo, caxumba e os vírus das diferentes formas de hepatite. Aprenderemos sobre as principais portas de entrada de patógenos virais importantes, destacando o trato respiratório, gastrointestinal, pele, sangue, via transplacentária e trato genital. Por último, observaremos que existem diferentes abordagens para o diagnóstico de doenças virais pelo uso de espécimes clínicos. Dessa forma, os vírus podem ser identificados pelo cultivo celular; pela identificação microscópica diretamente da amostra biológica; pela sorologia, em que se pode detectar um aumento no título de anticorpos ou a presença do anticorpo IgM; pela detecção de antígenos virais em fluidos corporais ou no sangue e pela detecção do ácido nucleico viral em amostras do paciente.

Para assimilarmos o assunto, atingirmos as competências e os objetivos da disciplina, continuaremos acompanhando nas situações-problema alguns casos hipotéticos para que você se aproxime dos conteúdos teóricos juntamente com a prática. Vamos lá! No decorrer desse livro didático, iremos trabalhar com situações que podem ocorrer em um laboratório de análises clínicas, interferindo no resultado final da análise. Vamos juntos buscar soluções e práticas adequadas.

Seção 4.1

Vírus, infecções, resposta imunológica e farmacoterapia

Diálogo aberto

Durante o seu estágio, Helen estava acompanhando casos clínicos relacionados a vírus junto ao Laboratório de virologia. Ela aprendeu como é difícil o tratamento viral, incluindo a evasão do sistema imune, assim como as mutações que ocorrem nos vírus, prejudicando ainda mais a terapia e a recuperação das condições fisiológicas do hospedeiro. Helen percebeu, de acordo com o trabalho dos cientistas, que a pesquisa voltada para a atividade antiviral de substâncias extraídas de plantas tem sido novamente alvo do interesse dos cientistas, como aconteceu no início do século passado, agora com um novo enfoque: a biotransformação das substâncias naturais ativas. Para buscarem novas substâncias antivirais, os pesquisadores realizam investigações visando encontrar moléculas que possam inibir eventos específicos dos vírus, no entanto, sem interferir no metabolismo fisiológico da célula. E como isso é possível? Existem etapas na replicação viral que podem ser usadas como potenciais alvos dos agentes antivirais?

E quais são esses sítios de atuação de um antiviral? Helen fez um resumo sobre esse assunto para auxiliar o grupo de pesquisadores. Vamos ver como ficou esse esquema?

Não pode faltar

Propriedades gerais dos vírus; Patogenia das infecções virais: Os vírus são partículas infecciosas subcelulares constituídas por ácidos nucleicos (DNA e/ou RNA), circundado por uma capa proteica, a qual pode ser revestida por lipídios e açúcares. Uma partícula viral completa, constituída pelos elementos citados (ácido (s) nucleico (s), envoltório proteico revestido por uma membrana lipídica), é denominado como vírion. O genoma viral é localizado internamente e pode ser constituído tanto por DNA, de fita simples ou dupla, quanto RNA, também de fita simples ou dupla. Esses seres não se

replicam de forma independente das células, por isso a função básica do vírion é carrear o material genético viral para o meio intracelular, para poder ser replicado e amplificado. E você sabe o tamanho dos vírus? São muito pequenos, menores que bactérias, por isso não podem ser visualizados pela microscopia óptica, são medidos em nanômetros (lembre-se de que um nanômetro, 1 nm, equivale a 10^{-9} m, ou seja, o equivalente a um metro dividido por 1.000.000.000). A maior parte dos vírus é visualizada pela microscopia eletrônica na forma de esferas ou bastões, a cobertura proteica denominada capsídeo, recobre o material genético viral. Essa cobertura proteica protege o vírus de agressões do meio ambiente e é um modo de transmissão de um hospedeiro para outro, sendo que em alguns vírus, o capsídeo é envolto por um envelope lipoproteico, constituindo a superfície externa do vírus e, em outros tipos o capsídeo representa a superfície externa. Dessa forma, alguns vírus são denominados como envelopados (aqueles cujos capsídeos estão recobertos por um envelope) e como exemplos temos o vírus da herpes, da influenza e o da imunodeficiência adquirida (HIV). Para fins de classificação, a aparência viral é importante. Dessa forma, as subunidades repetidas do capsídeo propiciam ao vírus uma aparência simétrica, helicoidal ou esférica (icosaédrica). Por outro lado, os vírus cujos capsídeos não estão envoltos por um envelope são denominados como vírus não envelopados; como exemplos temos o papiloma vírus (HPV) e o vírus da poliomielite. O Quadro 4.1 mostra as principais portas de entrada de patógenos virais importantes, destacando o trato respiratório, gastrointestinal, pele, sangue, via transplacentária e trato genital.

Quadro 4.1 | Principais portas de entrada de patógenos virais importantes

Trato respiratório	Vírus influenza	Gripe
	Rinovírus	Resfriado comum
	Vírus sincicial respiratório	Bronquiolite
	Vírus Epstein-Barr	Mononucleose infecciosa
	Herpes-vírus simples 1	Herpes labial
	Vírus da varicela-zóster	Catapora
	Citomegalovírus	Síndrome da mononucleose
	Vírus do sarampo	Sarampo
	Vírus da caxumba	Caxumba

Trato respiratório	Vírus da rubéola	Rubéola
	Hantavírus	Pneumonia
	Adenovírus	Pneumonia
Trato gastrointestinal	Vírus da hepatite A	Hepatite A
	Poliovírus	Poliomielite
	Rotavírus	Diarreia
Pele	Vírus da raiva	Raiva
	Vírus da febre amarela	Febre amarela
	Vírus do dengue	Dengue
	Papilomavírus humano	Verrugas
Trato genital	Papilomavírus humano	Verrugas
	Vírus da hepatite B	Hepatite B
	Vírus da imunodeficiência humana	Síndrome da imunodeficiência humana
	Herpes vírus simples 2	Herpes genital e herpes neonatal
Sangue	Vírus da hepatite B	Hepatite B
	Vírus da hepatite C	Hepatite C
	Vírus da hepatite D	Hepatite D
	Vírus linfotrófico de células T humanas	Leucemia
	Vírus da imunodeficiência humana	Síndrome da imunodeficiência humana
Transplacentário	Citomegalovírus	Síndrome da mononucleose ou pneumonia
	Citomegalovírus	Anormalidades congênitas
	Rubéola	Anormalidades congênitas
	Parvovírus B19	Hidropsia fetal

Fonte: Levinson (2016, p.249).

Outras características virais importantes:

- Os vírus possuem uma cópia do seu genoma, ou seja, são haplóides, com exceção dos retrovírus, que são diplóides (possuem duas cópias do seu material genético);
- A interação das proteínas virais em receptores celulares do hospedeiro propicia a especificidade do hospedeiro e de órgãos/tecidos do vírus.

- A inibição da replicação viral pode ser mediada pelos anticorpos, ou seja, os anticorpos ligam-se às proteínas de superfície virais impedindo que os vírus interajam com os receptores celulares.
- Uma estratégia viral de evasão do sistema imune do hospedeiro é a produção de variantes antigênicas de suas proteínas de superfície. Dessa forma, os anticorpos sintetizados contra um variante antigênico (sorotipo) serão incapazes de inibir um sorotipo diferente. E mais, alguns vírus produzem múltiplos sorotipos.
- Algumas proteínas internas, presentes nos vírus, podem ser DNA ou RNA polimerase, constituindo alvos moleculares para a terapia antiviral.



Assimile

Assimile algumas denominações usadas em virologia:

- Unidade proteica: usualmente uma cadeia polipeptídica;
- Subunidade estrutural ou protômero: constituída pela associação de uma ou mais unidades proteicas diferentes formando os capsômeros;
- Unidade de montagem: um grupo de subunidades ou de protômeros, formado durante a montagem do vírus, no processo de síntese viral;
- Matriz proteica: serve como ancoragem para as proteínas virais de superfície. Existente em alguns vírus e localizada entre o envelope e o capsídeo;
- Capsídeo: envoltório proteico cobrindo o ácido nucléico;
- Core ou cerne: é constituído pelo ácido nucleico viral mais as proteínas virais envolvidas na replicação e a ele associadas;
- Unidades morfológicas ou capsômeros: vistos através da microscopia eletrônica como protuberâncias vistas nas superfícies dos vírus não envelopados. Os capsômeros interagem entre si de maneira ordenada, geralmente seguindo um eixo de simetria. Essas unidades morfológicas formam o capsídeo que, geralmente, é formado por hexâmeros nas áreas planas dos vírus e pentâmeros nos vértices virais;

- Envelope: derivado da membrana oriunda da célula hospedeira, que envolve certas partículas virais (vírus envelopados), na qual se encontram inseridas as glicoproteínas conhecidas como peplômeros ou espículas virais.
- Vírion: é uma entidade viral completa, dessa forma, é infecciosa.

A morte das células infectadas por vírus leva a uma perda da função, que é característica da patogênese viral. Como exemplo, o vírus da poliomielite destrói as células neuronais causando a paralisia. Outros sintomas da infecção viral são ocasionados pelo sistema imune, em vez da morte celular induzida pelo vírus. Os linfócitos T citotóxicos são capazes de reconhecer os antígenos virais presentes na superfície celular e, nesse caso, as lesões hepáticas relacionadas aos vírus que causam hepatite ocorrem por esse mecanismo de imunopatogênese. Outro mecanismo, investigado na patogênese viral, é a formação de complexos vírus-anticorpos que são depositados em tecidos (como exemplos podemos citar a artrite relacionada a infecções por parvovírus B19 ou a infecção causada pelo vírus da rubéola). Existem, também, diferenças na virulência de um vírus para outro e entre linhagens diferentes existentes para o mesmo vírus. As vacinas usam as linhagens com vírus enfraquecidos, conhecidas como linhagens atenuadas. Outro mecanismo de escape se dá por meio da produção viral de receptores para substâncias imunomediadoras, tais como IL-1 e TNF (fator de necrose tumoral), evitando a resposta desses mediadores em ativar os processos antivirais. Além disso, a evasão viral às defesas do hospedeiro pode ocorrer pela produção de múltiplos antígenos, impedindo a inativação por anticorpos, assim como pela redução da síntese de proteínas de MHC de classe I, reduzindo a capacidade de uma célula em apresentar as substâncias antigênicas virais, impedindo, desse modo, a capacidade das células T citotóxicas de matar as células infectadas por vírus. As células dos hospedeiros desenvolveram mecanismos de defesa extremamente elaborados para impedir as infecções virais. Em contrapartida, os vírus desenvolveram mecanismos de contradefesa para continuarem infectando; tais processos variam de simples a elaborados, conforme pode ser observado no Quadro 4.2. Já foram identificadas mais de

50 proteínas virais capazes de modular os mecanismos de defesas das células do hospedeiro com o intuito de controlar as infecções virais e eliminá-las, uma vez que ocorra.

Quadro 4.2 | Estratégias usadas pelos vírus para sua evasão do sistema imunológico

Rápida interrupção da síntese de macromoléculas do hospedeiro
Comprometimento da produção de antígenos virais: Restrição da expressão gênica Infecção em sítios pouco acessíveis ao sistema imunológico Variações antigênicas
Interferência com a apresentação de antígenos pelo MHCI e MHCII
Interferência com a atividade das células NK
Interferência com a função das citocinas: Produção de homólogos virais de reguladores celulares de citocina Neutralização da atividade das citocinas Produção de receptores de citocinas solúveis
Inibição da apoptose

Fonte: Adaptado de SANTOS (2015).

- **Biologia do vírus e resposta ao tratamento farmacológico:** a replicação viral irá ocorrer apenas se a partícula viral encontrar uma célula que faça o processo de replicação. Além disso, alguns tipos virais são capazes de infectar diversos tipos celulares, enquanto outros são bastante específicos quanto ao tipo celular que infectam. Isso depende de uma série de fatores celulares, que determinarão a capacidade de uma célula replicar ou não determinado vírus. Vale a pena ressaltar que o fato de uma célula replicar o genoma viral não necessariamente está relacionado à produção de partículas virais infecciosas. Isso porque o mecanismo de infecção pode ser interrompido em qualquer etapa do ciclo de replicação, uma vez que basta faltar alguma substância necessária para tal finalidade no processo. As etapas da biossíntese viral são a adsorção e a penetração. A adsorção é a primeira etapa da biossíntese viral, em que irá ocorrer a ligação específica de uma ou mais proteínas virais com proteínas na superfície celular. Dessa forma, a existência de receptores na superfície celular que podem ser reconhecidos pelas proteínas dos vírus torna essa célula suscetível à infecção viral. A penetração ou

a internalização do vírus é um processo dependente de energia e envolve a etapa de transferência do vírus para o interior celular.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre as propriedades dos vírus lendo o capítulo 3 do livro **Virologia Humana** (SANTOS, 2015), em que estão apresentados os fundamentos gerais da virologia.

Anualmente, milhões de pessoas morrem devido a infecções virais mesmo com o avanço da medicina atual e da disponibilidade de algumas vacinas antivirais. Dessa forma, a vacinação é possível na prevenção de doenças induzidas por alguns vírus, como o da febre amarela (YFV), o poliovírus (PV), varicela-zoster (VZV), influenza A e B (FLUVA e FLUVB, respectivamente) e hepatite B (HBV), entretanto ainda não há vacinação para a maioria dos vírus que causam febre hemorrágica, para o vírus da hepatite C (HCV) e para o vírus da imunodeficiência humana (HIV). A área da terapia antiviral é relativamente nova, principalmente quando se compara com os antibióticos. Isso ocorre porque é muito mais difícil desenvolver um antiviral do que um agente antibacteriano, por causa do modo de replicação desses seres. Enquanto as bactérias se multiplicam independentemente do hospedeiro, os vírus são agentes patogênicos intracelulares, dependentes das células do hospedeiro para realizarem a replicação viral e a biossíntese das partículas virais. No início das pesquisas com antivirais, devido ao reduzido conhecimento sobre os aspectos moleculares virais e à toxicidade dos primeiros antivirais como a metisazona e análogos nucleosídicos, como a vidarabina e a iododesoxiuridina, acreditou-se que as dificuldades para a produção eficaz de antivirais seriam ainda maiores devido às interferências no metabolismo celular. Os primeiros fármacos antivirais foram produzidos a partir de 1955: - tiossemicarbazonas, que inibem o vírus vaccínia (VV); - N-metil-isatin- β -tiossemicarbazona, também denominada como metisazona ou Marboran[®], que foi eficiente na prevenção e tratamento da varíola. Esse fármaco não é mais usado devido aos efeitos colaterais e, principalmente, pelo sucesso da vacina que levou a erradicação da varíola no mundo. Entretanto, a Organização Mundial da Saúde tem

ressaltado a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos para a varíola, devido à possibilidade de virem a ser utilizados em atentados bioterroristas com o avanço no entendimento do mecanismo de ação dos análogos nucleosídicos, que surgiram em seleções como substâncias anticancerígenas (interferem na síntese do DNA celular). Os primeiros fármacos antivirais baseados em análogos nucleosídicos atuavam no DNA viral, mas também no DNA celular, ou seja, eram tóxicos para os pacientes. Com os avanços em relação às diferenças entre o metabolismo celular e o ciclo de replicação viral, chegou-se ao desenvolvimento do aciclovir, que, praticamente, não apresenta toxicidade.



Refleta

Refleta sobre o porquê de o aciclovir praticamente não apresentar toxicidade -os efeitos colaterais do aciclovir, em geral, são leves e incluem náusea e diarreia. O mecanismo de ação do aciclovir é decorrente da fosforilação no meio intracelular, passando à forma monofosfato, através da enzima viral timidino-cinase. Após essa primeira fosforilação, enzimas celulares o convertem na forma di e trifosfato (TP). Dessa forma, o aciclovir-TP compete com a desoxiguanosina-TP, sendo incorporado na cadeia do DNA viral que está sendo produzida. A enzima que utiliza o aciclovir-TP em vez de desoxiguanosina-TP como substrato é a DNA polimerase viral. A replicação do DNA é interrompida pelo fato do aciclovir não ter uma hidroxila na posição 3', necessária à ligação de outros nucleotídeos. Além disso, o aciclovir-TP forma uma ligação irreversível com a DNA polimerase viral, inativando a enzima. Entretanto, mutações nessas enzimas (DNA polimerase e timidino-cinase) podem produzir mutantes resistentes ao aciclovir.

- **Farmacoterapia nas infecções virais - conceitos gerais:** a toxicidade dos fármacos antivirais se baseia no fato de que os vírus necessitam do mecanismo bioquímico da célula do hospedeiro para que ocorra a síntese de seus componentes. Entretanto, o desenvolvimento de fármacos evoluiu juntamente com o conhecimento sobre os processos de biossíntese virais que são específicos dos vírus e, dessa forma, servem como alvos para as substâncias antivirais. Como exemplo, podemos citar algumas enzimas virais como a timidino-cinase e a helicase-primase dos herpes vírus, assim como a transcriptase reversa e a protease,

ambas fundamentais para a replicação do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV). A partir da década de 1980, os pesquisadores deveriam investir em investigações das viroses mais importantes do ponto de vista epidemiológico, isso ocorreu devido ao elevado custo necessário para o desenvolvimento de substâncias antivirais. Dessa forma, as viroses em que se concentram as pesquisas atuais são: as viroses respiratórias, as doenças causadas por herpes vírus e a síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV), assim como a eliminação de vírus emergentes e reemergentes, como as linhagens virais aviárias e suínas e as estirpes virais que podem ser utilizadas com o objetivo de serem utilizadas como bioterrorismo, tais como o vírus da varíola e os que induzem febres hemorrágicas. Infelizmente, existem poucas substâncias profiláticas ou terapêuticas para os vírus e os agentes que já encontram disponíveis podem ser classificados em 3 grandes grupos:

- Inibidores específicos para um alvo molecular, como os inibidores da protease do HIV, que são desenvolvidos para um vírus direcionado e que têm como desvantagens o desenvolvimento de resistência, não são capazes de agir em novos vírus emergentes ou oriundos de manipulação gênica, além da ocorrência de efeitos colaterais indesejados.
- Vacinas, que também são direcionadas de maneira específica para um determinado vírus, necessitam ser administradas antes da infecção e/ou imediatamente após a infecção para terem efetividade, da mesma forma que os inibidores não estão disponíveis para vírus emergentes e são difíceis de serem produzidas.
- Interferons e outros fármacos anti-inflamatórios ou imunomoduladores, possuem menor especificidade em termos de espectro de ação e agem apenas em alguns tipos de vírus, como o HBV e HCV, além de terem efeitos adversos devido a interação com o sistema imune e endócrino do organismo.

Diversas etapas da replicação que são específicas dos vírus já foram descobertas e constituem alvos em potencial do efeito de fármacos virais, conforme apresentados na Figura 4.1.

Figura 4.1 | Etapas da replicação viral inibidas por fármacos antivirais

Etapa da replicação viral inibida	Fármacos virais efetivos
Eventos precoces (entrada ou desnudamento do vírus)	Amantadina, rimantadina, enfuvirtida, maraviroque, palivizumabe
Síntese de ácido nucleico por herpes-vírus	Aciclovir, ganciclovir, valaciclovir, penciclovir, fanciclovir, cidofovir, vidabina, idoxuridina, trifluridina, foscarnet
Síntese de ácidos nucleicos pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)	zidovudina, lamivudina, lamivudina, telbivudina, tenofovir
Síntese de ácidos nucleicos pelo vírus da hepatite B (HBV)	Adefovir, entecavir, lamivudina, telbivudina, tenofovir
Síntese de ácidos nucleicos pelo vírus da hepatite C (HCV)	Sofosbuvir
Síntese de ácidos nucleicos por outros vírus	Ribavirin
Integrase que integra o DNA do HIV no DNA celular	Raltegravir, elvitegravir, dolutegravir
Clivagem de polipeptídeos precursores	Inibidores da protease do HIV, como saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfi-navir, amprenavir, atazanavir, darunavir, lopinavir, tipranavir. Inibidores da protease do vírus da hepatite C, como boceprevir, simeprevir, telaprevir
Síntese proteica direcionada por mRNA viral	Interferon, fomivirsen
Liberação do vírus <i>influenza</i> da célula infectada	Oseltamivir, zanamivir

Fonte: LEVINSON (2016, p.265).



Exemplificando

A Figura 4.1 exemplifica alguns fármacos antivirais que bloqueiam a síntese de ácido nucléico viral, incluindo a replicação do vírus HIV pela inibição da transcriptase reversa.

Figura 4.1 | Fármacos antivirais

Modo de ação	Fármacos antivirais
Inibição da DNA-polimerase de herpes-vírus	1. Inibidores nucleosídicos: aciclovir, ganciclovir, valaciclovir, valganciclovir, penciclovir, cidofovir, vidarabine, idoxuridine, trifluridine 2. Inibidores não nucleosídicos: foscarnet
Indicação da transcriptase reversa dos vírus da imunodeficiência humana (HIV)	1. Inibidores nucleosídicos: zidovudine, lamivudine, emtricitabine, didanosina, stavudine, abacavir, tenofovir 2. Inibidores não nucleosídicos: nevirapine, delavirdine, efavirez, etravirine, rilpivirene
Inibição da transcriptase reversa dos vírus da hepatite B	Adefovir, entecavir, lamivudina, telbivudina
Inibição da síntese de ácidos nucleicos por outros vírus	Ribavirin

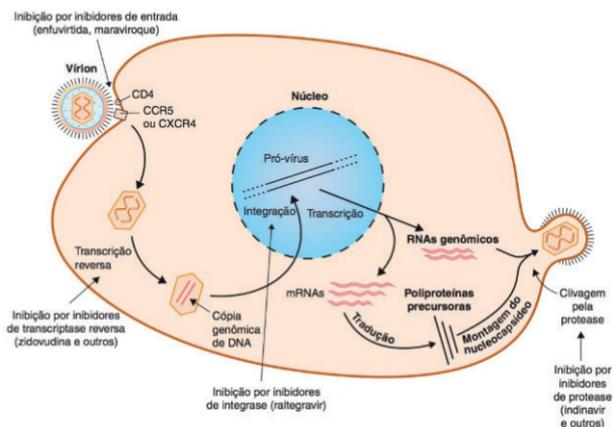
Fonte: LEVINSON (2016, p. 266).

Uma nova estratégia tem sido utilizada para superar as desvantagens da farmacoterapia antivirais e é baseada no conhecimento de que praticamente todos os vírus possuem um RNA de fita dupla durante o processo de biossíntese. Esse inibidor é denominado DRACO (*double-stranded RNA activated caspase oligomerizer*) e foi projetado para inativar os vírus em células infectadas, de forma seletiva, sem causar lesões nas células não infectadas. Além disso, utiliza um segundo mecanismo pelo qual há estímulo do processo de morte celular por apoptose devido a ativação de procaspases. Esse inibidor é eficaz contra muitas infecções virais, incluindo as induzidas por vírus que causam doenças hemorrágicas, tais como: vírus Marburg e Ebolavírus Zaire, vírus da dengue, arnavírus Amapari e Tacaribe, dentre outros. Infelizmente, esse inibidor encontra-se ainda em fase de pesquisa e há possibilidade de que esteja no mercado farmacêutico na próxima década.

- Antirretrovirais e inibidores de proteases no tratamento da infecção por HIV: Alguns fármacos foram sintetizados baseados na capacidade de inibirem a síntese de DNA pela transcriptase reversa do HIV em proporções muito maiores do que a inibição da síntese de DNA pela DNA-polimerase em células do organismo humano. Esses fármacos são conhecidos como inibidores nucleosídeos de transcriptase reversa, sendo que a Figura 4.2 ilustra o mecanismo de ação desses inibidores sobre o HIV: como exemplo, temos a Zidovudina–azidovudina (azidotimidina, AZT), que é um análogo de nucleosídeo que causa a terminação da cadeia de DNA durante sua síntese; apresenta um grupo azida no lugar do grupo hidroxil na ribose. O AZT é particularmente eficaz contra a síntese de DNA pela transcriptase reversa do HIV, inibindo o crescimento do vírus em cultura de células. No entanto, induz a supressão da medula óssea e miopatia. Por outro lado, os inibidores não nucleosídeos não causam terminação de cadeia. Os inibidores não nucleosídeos de transcriptase reversa tem como mecanismo de ação a ligação próxima do sítio ativo da transcriptase reversa, induzindo uma mudança conformacional, que inibe a síntese do DNA viral. Esses fármacos inibidores não devem ser utilizados como monoterapia, porque mutantes resistentes surgem de forma rápida, por isso, são utilizados em conjunto com um ou dois análogos nucleosídeos.

A Figura 4.2 mostra o ciclo replicativo do vírus da imunodeficiência adquirida mostrando o local de ação de fármacos usados para tratar a infecção pelo HIV.

Figura 4.2 | Ciclo replicativo do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) mostrando o local de ação de fármacos utilizados para tratar a infecção pelo HIV



Fonte: LEVINSON (2016, p. 267).

Pesquise mais

Pesquise mais sobre os fármacos antivirais lendo o capítulo 35 do livro *Microbiologia Médica e Imunologia* (Levinson, 2016), onde estão apresentados os recentes avanços na área dos antivirais.

Adicionalmente, temos fármacos que agem inibindo a protease codificada pelo HIV (azatanavir, saquinavir, tipranavir, indinavir, ritonavir, lopinavir/ritonavir, amprenavir e seu pró-fármaco fosamprenavir), conforme demonstrado na Figura 4.2. A protease cliva os polipeptídeos precursores de Gag e Pol para sintetizar diversas proteínas do nucleocapsídeo e enzimas, como a transcriptase reversa, imprescindíveis para a replicação viral. Esses fármacos inibem a produção de vírions infecciosos, mas não curam a infecção, visto que não afetam o DNA pró-viral. A monoterapia com inibidores de proteases não deve ser utilizada devido ao aparecimento de mutantes resistentes, por isso é indicada a prescrição em conjunto com inibidores de transcriptase reversa, como zidovudina e lamivudina. Entre os efeitos adversos dos inibidores da protease, podemos citar náuseas, diarreias e acúmulo anormal de gordura na parte posterior do pescoço, resultando na aparência de “dorso de búfalo”. Infelizmente, por questões estéticas associadas a essa lipodistrofia, muitos pacientes interrompem o tratamento.

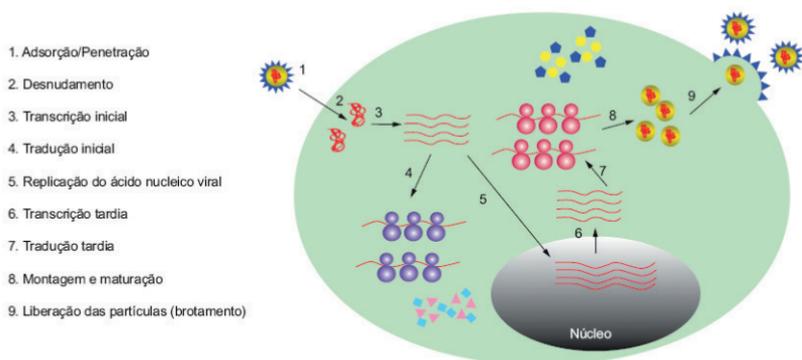
Sem medo de errar

Helen observou que os cientistas, com o intuito de descobrirem novas substâncias antivirais, realizam investigações para buscarem moléculas que possam inibir eventos específicos dos vírus, no entanto sem interferir no metabolismo fisiológico da célula. E como isso é possível? Existem etapas na replicação viral que podem ser usadas como potenciais alvos dos agentes antivirais.

E quais são esses sítios de atuação de um antiviral? Helen fez um resumo sobre esse assunto para auxiliar o grupo de pesquisadores. Vamos ver como ficou esse esquema?

Helen resumiu na Figura 4.3 os sítios de atuação de um antiviral e a forma como se dá a interferência dos antivirais nas etapas do ciclo de biossíntese de um vírus, assim como os alvos em potencial das substâncias antivirais.

Figura 4.3 | Interferência dos antivirais nas etapas do ciclo de biossíntese de um vírus



Os alvos em potencial das substâncias antivirais podem ser:

- 1) Interferência na adsorção dos vírus, bloqueio de receptores celulares e fusão do envelope viral com membranas celulares;
- 2) Inibição do desnudamento e consequente impedimento da liberação do ácido nucleico viral no interior da célula;
- 3) Inibição da transcrição inicial, tendo como alvo algumas enzimas virais, como as DNA e RNA polimerases, além de transcriptase reversa;
- 4) Interferência na tradução e no processamento de proteínas virais que regulam o ciclo replicativo;

- 5) Replicação (síntese de novos ácidos nucleicos virais);
- 6) Inibição da transcrição tardia de ácidos nucleicos virais e integração do genoma do vírus ao genoma da célula;
- 7) Interferência na tradução e no processamento de proteínas virais estruturais, agindo no processo de clivagem ou glicosilação;
- 8) Interferência no processo de montagem e maturação das proteínas virais;
- 9) Inibição do brotamento.

Fonte: Santos (2015).

Avançando na prática

E como agem os fármacos antivirais?

Descrição da situação-problema

Helen viu quais são as pesquisas relacionadas com os antivirais, no entanto, ela procurou estudar como está sendo realizada atualmente a terapia utilizada nas doenças virais. Ela descobriu que a terapia combinada usa fármacos que possam agir em dois ou mais estágios da replicação viral e que, nos dias atuais, tem sido usada com frequência, principalmente na terapia da infecção pelo HIV, com o intuito de diminuir a toxicidade e reduzir a possibilidade de seleção de mutantes resistentes. Helen esquematizou em um quadro alguns exemplos de alvos para as substâncias antivirais, correlacionando com os antivirais e respectivos vírus.

Resolução da situação-problema

Quadro 4.3 | Exemplos de alvos para os agentes antivirais

ALVO	ANTIVIRAL	VÍRUS
ADSORÇÃO	Sulfato de dextrana, heparina	HIV-1, HSV
Análogos peptídicos	Maioria dos vírus	
Anticorpos neutralizantes	Maioria dos vírus	

ALVO		ANTIVIRAL	VÍRUS
Penetração e desnudamento Disoxaril		Amantadina e rimantadina	FLUV
		Picornavírus	
Transcrição	Transcriptase reversa	Zidovudina (AZT)	HIV-1
		Lamivudina	HIV-1 e HBV
	DNA polimerase	Aciclovir	HIV-1 3 HBV
		Trifluridina	HSV
		Ganciclovir	HCMW
	Helicase-primase	AIC-316	HSV
Complexo terminase	AIC-246	HCMW	
Síntese de RNA e RNAm virais		Ribavirina	HRSV
Integração do genoma viral no genoma da célula		Raltegravir e elvitegravir	HIV-1
Síntese de proteínas virais não estruturais		Fomivirsen	HCMW
Síntese de proteínas virais e liberação de vírus		Interferon	HBV, HCV HPV
Processamento de proteínas virais Boceprevir e telaprevir		Saquinavir e ritonavir	HIV-1
		HCV	
Liberação das partículas virais		Oseltamivir, zanamivir, peramivir e lanimavir	HIV-1
Inativação da partícula viral Enviroxima		Nonoxinol-9	HIV-1
		HRV	

HIV-1 = vírus da imunodeficiência humana tipo 1; HSV = vírus herpes simplex; HBV = vírus da hepatite B; VZV = vírus da varicela-zoster; HCMW = citomegalovírus humano; VV = vírus vaccínia; HRSV = vírus respiratório sincicial humano; HCV = vírus da hepatite C; HPV = vírus do papiloma humano; FLUV = vírus da influenza; HRV = rinovírus humano. Algumas drogas podem ainda não ter sido licenciadas para uso em seres humanos.

Fonte: Santos (2015).

Faça valer a pena

1. A enzima viral envolvida na replicação do HIV, denominada como protease, é responsável pelo processamento das poliproteínas *gag* e *gag-pol*, envolvidas na síntese das proteínas estruturais e funcionais do vírus. Os inibidores da protease do HIV interferem na última etapa do processo de replicação viral, prevenindo a formação de novos vírus.

Tendo em vista o exposto, qual das alternativas apresenta um efeito adverso característico do uso dos inibidores de protease prescritos para tratamento de infecções por HIV?

- a) Hepatite induzida por farmacoterapia.
- b) Neuropatia periférica.
- c) Vômitos espumantes.
- d) Distúrbios no sistema nervoso central.
- e) Lipodistrofia.

2. Quando o vírus da imunodeficiência humana foi identificado no início dos anos de 1980, a ciência estava completamente despreparada para essa doença. Naquela época, não existia nenhum recurso terapêutico capaz de controlar o avanço da AIDS, levando à morte dos pacientes com o sistema imune debilitado pelo vírus. A droga Zidovudina–azidovudina (azidotimidina, AZT), foi a primeira a ter um efeito sobre o HIV.

Em relação ao exposto, marque a alternativa correta em relação ao mecanismo de ação do AZT (azidotimidina):

- a) Inibidores de protease.
- b) Inibidores da quinase.
- c) Inibidores da fosfatase ácida.
- d) Inibidores da fusão.
- e) Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos.

3. Os vírus são considerados parasitas intracelulares obrigatórios por não serem capazes de ter metabolismo próprio e não serem formados por células.

Analise as afirmativas que citam algumas características dos vírus:

- I. Os vírus possuem uma cópia do seu genoma, ou seja, são haplóides, com exceção dos retrovírus, que são diplóides (possuem duas cópias do seu material genético);
- II. A inibição da replicação viral pode ser mediada pelos anticorpos, ou seja, os anticorpos ligam-se às proteínas de superfície virais impedindo que os vírus interajam com os receptores celulares.
- III. A inibição da replicação viral pode ser mediada pelos anticorpos, ou seja, os anticorpos ligam-se às proteínas de superfície virais impedindo que os vírus interajam com os receptores celulares.
- IV. Algumas proteínas internas, presentes nos vírus, podem ser DNA ou RNA-polimerase, constituindo alvos moleculares para a terapia antiviral.

Agora, marque a alternativa correta:

- a) Apenas as afirmativas I e II estão corretas.
- b) Apenas as afirmativas III e IV estão corretas.
- c) Apenas as afirmativas I e IV estão corretas.
- d) Apenas as afirmativas I, II e III estão corretas.
- e) As afirmativas I, II, III e IV estão corretas.

Seção 4.2

Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial de viroses I

Diálogo aberto

Helen, a estagiária do Laboratório de Imunofarmacologia, estava acompanhando o caso clínico de uma paciente de apenas 12 anos, que relatou alguns sintomas que haviam ocorrido no ano anterior: ela teve febre, um mal-estar, ficou irritada, tendo aparecido umas “feridinhas na boca” que a mãe disse que era somente uma estomatite. A paciente relatou, depois de muita conversa, que, provavelmente, havia contraído essas feridinhas após beijar um rapaz, pois ele estava com umas lesões na boca e, pouco tempo depois, ela apareceu com as mesmas feridas. A paciente disse que estava com receio de ter novamente o problema, porque, “pressentia uma anunciação da doença”: estava tendo dor, uma certa queimação, coceira e formigamento na região dos lábios. A paciente relata, ainda, que foi assim que tudo começou até formar umas bolhas na boca. A equipe multidisciplinar que estava acompanhando esse caso clínico era constituída por médicos, farmacêuticos, assistentes sociais e o ortodontista, que foi quem levou esse estudo de caso para a equipe.

O dentista disse que o diagnóstico clínico desses sintomas é relativamente fácil: herpes simples. A equipe discutiu que a ausência de uma abordagem terapêutica adequada do herpes simples recorrente na boca pode estar relacionada à falta de respostas e ações imediatas para as seguintes indagações:

- 1) Como é realizado diagnóstico preciso do herpes simples recorrente na boca?
- 2) Qual orientação deve ser dada à paciente?
- 3) Qual a melhor forma de tratamento para o herpes simples recorrente na boca?
- 4) Como é realizado o diagnóstico laboratorial?

Não pode faltar

- Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Rubéola, Citomegalovírus

- **Rubéola:** a primeira descrição da rubéola ocorreu no início do século 18, na Inglaterra e a classificava como uma doença leve, cuja característica era o aparecimento de exantema maculopapular, adenopatia, com ou sem ocorrência de febre. Em meados do século 18, a rubéola obteve a sua designação atual, sendo que, anteriormente, era considerada "similar ao sarampo". O Quadro 4.4 mostra um cronograma de eventos importantes no controle da rubéola e da síndrome de rubéola congênita (SRC).

Quadro 4.4 | Cronograma de eventos importantes no controle da rubéola e da síndrome da rubéola congênita (SRC)

CRONOGRAMA DE EVENTOS IMPORTANTES NO CONTROLE DA RUBÉOLA E DA SÍNDROME DA RUBÉOLA CONGÊNITA (SRC)	
1866	Henry Veale propôs o nome rubéola.
1941	Norman McAlister Gregg descreveu os efeitos teratogênicos da rubéola na gravidez e as características clínicas da rubéola congênita.
1961	Identificação e cultura do vírus
1962-64	Pandemia de rubéola nos EUA e na Europa.
1970	Introdução da vacinação rotineira nos EUA para todas as crianças entre 12 e 15 meses de idade e da campanha de vacinação para crianças de 5 a 12 anos. Em 1970, a Grã-Bretanha iniciou a vacinação em mulheres na idade pré-puberal como forma de controle da SRC.
1979	A RA 27/3 foi escolhida como vacina adotada nos EUA.
1987-89	Declínio da SRC para menos de 0,1 por 100.000 nascimentos vivos nos EUA (queda de 99 % desde a introdução da vacina)
1992	No estado de São Paulo, houve a introdução do programa de controle da rubéola e da SRC, que incluía a vacina tríplice viral (sarampo, rubéola e caxumba), no calendário vacinal de rotina aos 15 meses e tornava compulsória a notificação da rubéola e da SRC.
2008	Campanha nacional de vacinação para eliminação da rubéola no Brasil.

Fonte: Ferreira (2017, p. 143).

Até 1941, a rubéola não havia despertado grande interesse perante a comunidade médica, no entanto, em 1941, uma publicação mostrando o aumento da catarata congênita em crianças nascidas de mães que haviam sido acometidas pela rubéola no início da gravidez despertou a atenção. Esse trabalho foi desenvolvido a partir dos dados obtidos durante uma grande epidemia que ocorreu na Austrália. Felizmente, o conhecimento se amplia a cada nova epidemia, e, atualmente, é conhecida como sendo a síndrome da rubéola congênita, constituindo variadas de manifestações clínicas. A transmissão da rubéola ocorre, principalmente, no inverno e na primavera, sendo que o ser humano é, provavelmente, o único hospedeiro do vírus da rubéola. A via de entrada é o trato respiratório superior, disseminando-se nos nódulos linfáticos regionais, por meio da viremia transitória ou pelo sistema linfático. Cerca de 9 dias após o início da infecção, o vírus é encontrado na circulação, podendo alcançar múltiplos tecidos, inclusive, a placenta. Em testes laboratoriais, o vírus pode ser detectado no trato respiratório, nos rins, no colo uterino, no trato gastrintestinal e em outros locais, mas, principalmente, em amostras provenientes da nasofaringe, sendo isolado com maior frequência entre 7 dias antes e 14 dias depois do início da doença. O pico da viremia ocorre imediatamente antes o aparecimento do exantema (entre o 10º e o 17º dia de infecção), sendo que, poucos dias depois, o vírus desaparece do sangue, quando os anticorpos se tornam detectáveis. A infecção é contagiosa durante o período prodrômico, cerca de uma semana após o aparecimento do exantema. Atualmente, usando técnicas moleculares de elevada sensibilidade, a excreção viral tem sido demonstrada por períodos maiores, principalmente no fluido oral e no material de nasofaringe. No caso da transmissão materno-fetal, pode ocorrer durante todo o período de gestação, sendo mais grave no início. Apesar do elevado índice de infecções congênitas, as anomalias nos recém-nascidos são observadas somente naqueles acometidos no primeiro trimestre de gravidez. O diagnóstico laboratorial é essencialmente sorológico e tem como objetivos principais a detecção da rubéola congênita e pós-natal, o controle de vacinação, a determinação da imunidade e as investigações soropidemiológicas. Dessa forma, os exames sorológicos baseiam-se:

- No efeito dos anticorpos sobre a função biológica específica do vírus, como as técnicas de neutralização (NT) e de inibição de hemaglutinação (IHA).

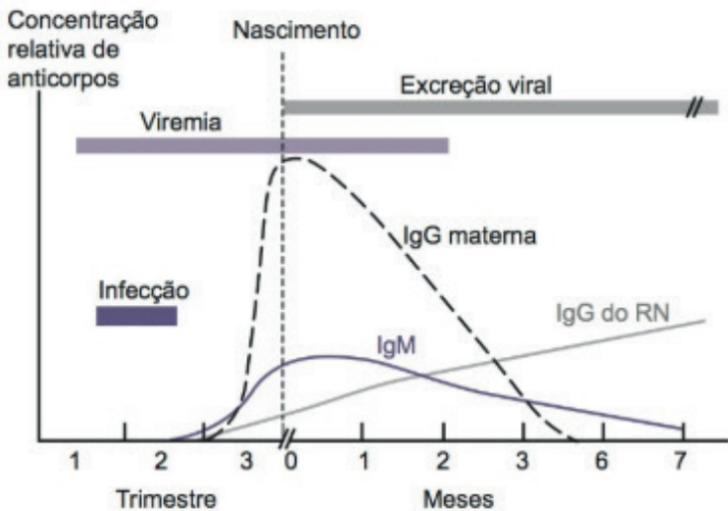
- Na reação entre o anticorpo e qualquer componente antigênico relevante do vírus da rubéola, como as técnicas imunoenzimáticas, de imunofluorescência, de aglutinação de partículas de látex, dentre outras.



Refleta

Refleta sobre o modo como os testes moleculares estão avançando a cada dia no diagnóstico de rubéola adquirida, principalmente, na identificação e na confirmação da rubéola congênita. Para facilitar a interpretação e a reflexão, o perfil sorológico da rubéola congênita pode ser observado na Figura 4.4.

Figura 4.4 | Perfil sorológico relativo na rubéola congênita consequente à infecção materna no início da gravidez



Fonte: Santos (2015)

- **Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses:**
Herpesvírus humano – tendo por base algumas características morfológicas, dados sorológicos e genéticos, os herpesvírus foram classificados (Quadro 4.5). Dessa forma, existem subfamílias do vírus, em que estão HSV-1 e HSV-2 que são neurotróficos e causam lesões mucocutâneas orofaciais e genitais e podem, também, induzir quadros de infecções oculares e encefalites. No gênero *Varicellovirus*, encontra-se o vírus da varicela-zoster, que causa catapora em crianças. Em adultos com algum tipo de imunossupressão, principalmente em idosos, o vírus da varicela-zoster pode sofrer reativação e induzir o aparecimento do zoster, que pode, em casos de complicação, levar a neuralgia pós-herpética.

Quadro 4.5 | Classificação dos herpesvirus que acometem seres humanos (HHV)

TIPO	SINÔNIMO	SUBFAMÍLIA	PATOLOGIA
HHV-1	Vírus herpes simplex 1 (HSV-1)	<i>Alphaherpesvirinae</i>	Herpes orofacial e/ou genital (predominantemente orofacial)
HHV-2	Vírus herpes simplex 2 (HSV-2)	<i>Alphaherpesvirinae</i>	Herpes orofacial e/ou genital (predominantemente genital)
HHV-3	Vírus da varicela-zoster (VZV)	<i>Alphaherpesvirinae</i>	Varicela ou zoster
HHV-4	Vírus Epstein-Barr (EBV) ou linfocriptovírus	<i>Gammaherpesvirinae</i>	Mononucleose infecciosa, linfoma de Burkitt, linfoma do SNC em pacientes com AIDS, síndrome linfoproliferativa pós- transplante, carcinoma de nasofaringe
HHV-5	Citomegalovírus (HCMV)	<i>Betaherpesvirinae</i>	Síndrome mononucleose-like, infecções congênicas, retinite, pneumonia

TIPO	SINÔNIMO	SUBFAMÍLIA	PATOLOGIA
HHV-6A	Roseolovírus	Betaherpesvirinae	Ainda não associado a qualquer doença
HHV-6B	Roseolovírus	<i>Betaherpesvirinae</i>	Exantema súbito (sexta doença ou roseola infantum)
HHV-7	Roseolovírus	<i>Betaherpesvirinae</i>	Exantema súbito
HHV-8	Herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi	<i>Gammaherpesvirinae</i>	Sarcoma de Kaposi, linfoma de efusão primário, alguns tipos de doença de Castleman

Fonte: Santos (2015).

Os membros da família *Herpesviridae* compartilham 4 significantes propriedades biológicas: (i) codificam várias enzimas envolvidas no metabolismo do ácido nucleico viral (timidino-cinase, timidilato-sintetase, ribonucleotídeo-reductase), síntese do ácido nucleico viral (DNA polimerase, helicase/primase) e processamento de proteínas (proteíno-cinase), embora essas proteínas possam variar entre os diferentes vírus; (ii) a síntese do DNA viral ocorre no núcleo; (iii) a produção de partículas infecciosas leva à destruição das células; (iv) apresentam a capacidade de causar infecção persistente com alguns vírus, permanecendo em estado de latência, onde somente alguns genes são expressos. Embora os clínicos consigam identificar com facilidade a forma recorrente da infecção herpética pelo tipo de lesão e pelo histórico descrito pelo paciente, em algumas situações, tais como as infecções primárias, em situações clínicas atípicas e nas reativações assintomáticas, é necessária a realização do diagnóstico laboratorial da infecção. Para isso o vírus pode ser isolado em cultura de células e em testes sorológicos, sendo que, nesta última situação, ele é utilizado, principalmente, em estudos epidemiológicos. Os exames mais empregados são o Western blotting, o teste imunoenzimático e o de imunofluorescência.



Pesquise mais sobre o vírus do herpes lendo o capítulo sobre Virose Dermatrópicas no livro intitulado **Virologia Humana**. (Santos, 2015).

- Citomegalovírus (CMV): o citomegalovírus tem sido considerado um dos principais causadores de doenças no homem, sendo que o risco de ser infectado por esse vírus inicia-se na vida intrauterina e no período perinatal, entretanto, pode ocorrer, também, como infecção adquirida na infância ou na idade adulta. Para você ter uma ideia sobre a incidência dessa virose, estudos soroepidemiológicos mostram que até 85% da população adulta no estado de São Paulo já foi infectada por esse vírus. Além disso, ele têm a capacidade de ficar latente no organismo humano, podendo se reativar durante o surgimento de doenças imunodepressoras. O citomegalovírus é considerado a causa mais comum de infecção congênita no homem, sendo que a incidência é maior nas populações de baixo nível socioeconômico (cerca de duas vezes maior). Vale a pena ressaltar que a absoluta maioria dos recém-nascidos (RN) que nascem com sintomas de doença congênita são de mães que tiveram infecção primária durante a gestação. Dessa forma, os anticorpos maternos acabam agindo de maneira importante na proteção do feto, ainda que não impeçam a ocorrência da infecção, que pode ocorrer em qualquer época da gestação, embora investigações experimentais em cobaias tenham mostrado que as infecções são mais graves quando acomete a mãe no início da gestação. Entretanto, na espécie humana, essa relação não está completamente elucidada, já que a maioria absoluta das infecções maternas são assintomáticas. A doença de inclusão citomegálica caracteriza-se clinicamente por quadros de icterícia, hepatoesplenomegalia, petéquias, calcificações cerebrais e microcefalia. Essa é considerada a forma mais grave de infecção por citomegalovírus, sendo que, a grande maioria dos recém-nascidos com essa forma clínica irá desenvolver sequelas graves, que incluem surdez, perda da visão, déficits neurológicos e retardo mental. Entre os extremos da doença, ou seja, os recém-nascidos assintomáticos e a forma mais grave que destacamos anteriormente, há um enorme espectro de manifestações clínicas, desde hepatoesplenomegalia (com ou sem

icterícia), até a existência de petéquias, podendo existir também a combinação desses sintomas. Geralmente, as crianças com quadro clínico mais suave têm maiores perspectivas de evolução sem sequelas graves e tardias. No caso das infecções adquiridas, a maioria absoluta é assintomática, no entanto, quando acontecem manifestações clínicas, assumem características similares a um quadro de mononucleose infecciosa. Dessa forma, o paciente terá quadro febril prolongado (com 10 dias ou mais de duração), fraqueza, sudorese e, em alguns casos, hepatoesplenomegalia. Em contraste ao que ocorre na mononucleose infecciosa clássica, induzida pelo vírus Epstein-Barr, a presença de linfonodomegalia cervical ocorre raramente em adultos com citomegalomononucleose, entretanto, em crianças a linfonodomegalia cervical é comum, ocorrendo em cerca de 90% dos casos. No diagnóstico laboratorial, o achado que mais chama atenção é o hemograma com linfocitose relativa absoluta, assim como a presença de grande número de linfócitos atípicos. As enzimas hepáticas (as aminotransferases, TGO e TGP) estão moderadamente elevadas em cerca de 80% dos casos. O diagnóstico laboratorial da infecção pelo CMV pode ser feito por diferentes técnicas, que incluem exame direto de amostras (por microscopia eletrônica, demonstração de células com corpúsculos de inclusão característicos e detecção de antígenos ou DNA viral), isolamento viral em culturas celulares e vários testes sorológicos. Durante muitos anos, a reação de fixação do complemento foi o único exame disponível para detectar anticorpos anticitomegalovírus. Esse teste foi amplamente usado para investigações soroepidemiológicas e para o diagnóstico de infecção adquirida (citomegalomononucleose), a partir do aumento de títulos entre a fase aguda e a convalescença. Nesse último caso, o nível máximo de anticorpos só é atingido de 4 a 6 semanas após o início do quadro clínico. Outros testes sorológicos disponíveis: aglutinação passiva de partículas de látex, reação de imunofluorescência indireta e testes imunoenzimáticos.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre a rubéola, o citomegalovírus e o diagnóstico laboratorial dessas doenças lendo os capítulos 4 e 11, intitulados, respectivamente, Citomegalovírus e Rubéola do livro *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes*. (Ferreira, 2017).

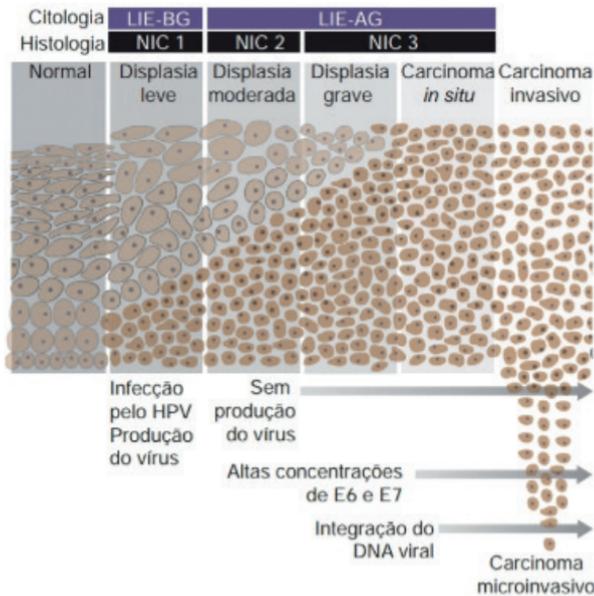
- **Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Papilomavírus humano.** Os estudos sobre o papilomavírus humano (HPV) tiveram avanços significativos no últimos 20 anos, incluindo muitas mudanças conceituais na sua relação com câncer de colo de útero e lesões precursoras de maneira incontestável, assim como o papel causal de alguns tipos de HPV no câncer cervical, sendo que, a partir dessa descoberta, passaram a ser denominados ontogênicos. Esses mesmos estudos demonstraram que, entre as mulheres infectadas pelo HPV, aquelas que apresentavam persistência do DNA viral por dois exames realizados em tempos diferentes e, obrigatoriamente, do mesmo tipo de HPV estavam sob risco de vir a desenvolver lesões pré-malignas e malignas. Verifica-se que a infecção persistente leva ao aparecimento das lesões denominadas intraepiteliais escamosas (LIE). Dessa forma, as LIE-BG (baixo grau) podem ocorrer já como a manifestação de uma primeira infecção por HPV, porém essas lesões regridem e desaparecem na grande maioria das portadoras.



Exemplificando

Como exemplo, podemos destacar que a persistência do DNA de HPV de alto risco é o que induz a evolução de uma LIE-BG para LIE-AG (alto grau), em que há um gradiente de malignidade iniciando-se com a neoplasia intraepitelial cervical (NIC 1 e NIC 2) até a NIC 3/carcinoma *in situ* e, no final, o carcinoma invasivo, conforme demonstrado na Figura 4.4.

Figura 4.5 | Esquema de um epitélio de mucosa cervical com o gradiente biológico das transformações induzidas por HPV e as classificações citológicas e histológicas



LIE-BF = lesão intraepitelial escamosa de baixo grau;

LIE-AG = lesão intraepitelial escamosa de alto grau;

NIC = neoplasia intraepitelial cervical.

Fonte: FERREIRA (2017, p. 115).

O teste citológico para o câncer de colo de útero, conhecido como teste de Papanicolau é uma das mais bem-sucedidas intervenções diagnósticas da história da medicina, levando à queda vertiginosa nos índices de câncer de colo uterino nos países que implantaram programas de citologia com boa adesão pela população. Vale a pena ressaltar que o exame citológico tem como objetivo a detecção de células tumorais, não do HPV, no entanto é comum ser relatado no laudo citológico o termo "sugestivo de HPV". Isso se deve à observação de algumas características morfológicas celulares tidas como patognomônicas da infecção pelo HPV. Em contraste com os testes citológicos, exames moleculares que detectam o DNA dos HPV são, obviamente, específicos para este vírus e são esses resultados que devem ser utilizados em

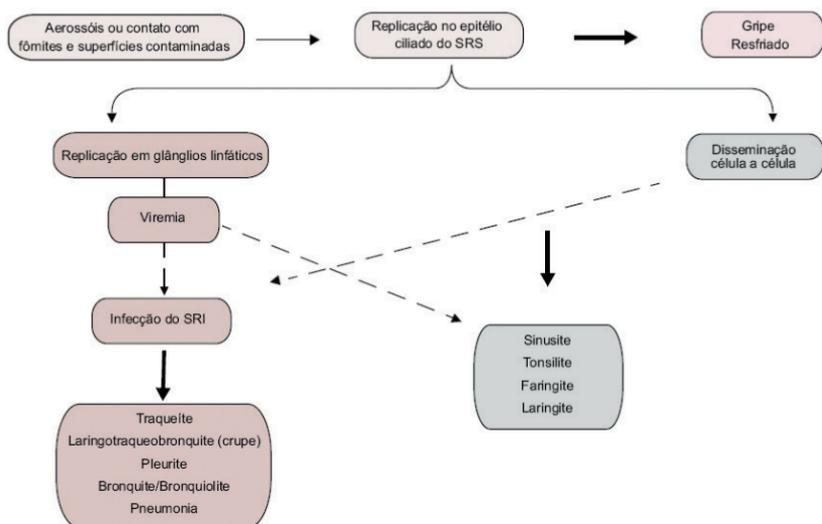
investigações de prevalências de infecção por HPV. Isso porque, com a comprovação do papel etiológico de alguns tipos de HPV, notadamente os HPV tipos 16 e 18 na gênese do câncer de colo uterino, pesquisadores passaram a avaliar se a detecção do vírus por esses métodos poderia ser utilizada na prevenção, tal qual um exame citológico. No entanto, esses testes moleculares são úteis para realizar uma previsão: se a paciente tem HPV de alto risco, é provável que tenha lesão ou poderá vir a ter; se ela não tem HPV, muito provavelmente não tem lesão de alto grau/câncer, sendo o HPV uma condição necessária (infecção persistente por HPV ontogênico), mas não suficiente por si só, uma vez que, de milhões de mulheres infectadas pelo HPV, apenas alguns milhares virão a desenvolver câncer.

- Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Influenza

- os vírus da influenza (FLUV) sofrem mutações de caráter antigênico e funcional, o que ocasiona, frequentemente, o surgimento de surtos, epidemias e pandemias, relatados desde a Grécia antiga. Vale ressaltar que as infecções do sistema respiratório representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo inteiro. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica as infecções do sistema respiratório inferior como a segunda principal causa de morte entre crianças abaixo de 5 anos de idade. Os FLUV são transmitidos de uma pessoa para outra através de aerossóis provenientes do sistema respiratório ou pelo contato com fômites e superfícies contaminadas, seguindo-se a replicação viral, o que pode ocasionar o espalhamento do vírus para o sistema respiratório inferior, por meio de viremia ou disseminação célula a célula, conforme esquematizado na Figura 4.5. Dependendo do estado imune do indivíduo infectado, a gripe, que é uma infecção causada por vírus da influenza das espécies A, B ou C, pode surgir após um período de incubação que varia de um a três dias, mas pode chegar a atingir 4 a 5 dias, dependendo também da infecciosidade e quantidade de vírus. O hospedeiro terá febre durante dois ou três dias após o início da infecção, poderá ter uma intensificação do acometimento do sistema respiratório inferior, surgindo sintomas como tosse com catarro e fraqueza que podem durar até 2 semanas. Outros sintomas, tais como faringite, obstrução nasal e até mesmo conjuntivite podem ocorrer. Abruptamente, é possível que haja uma pneumonia logo no início do processo infeccioso

(nas primeiras 24h após o início dos sintomas), principalmente se o processo infeccioso estiver combinado com uma infecção bacteriana com *Streptococcus epidermidis*, *Haemophilus influenzae* ou *Staphylococcus aureus*. Em contraste ao que ocorre com os vírus influenza A e B, o influenza C ocasiona, geralmente, uma infecção mais branda, similar a um resfriado comum, denominação dada a uma doença em que as infecções virais do sistema respiratório superior não são relacionadas com os vírus influenza.

Figura 4.6 | Quadro geral da patogênese dos vírus respiratórios



Fonte: SANTOS (2015).

Os materiais de escolha para o isolamento dos FLUV são lavado ou “swab” de garganta, saliva ou aspirado de sistema respiratório inferior, os quais devem ser coletados na fase aguda da doença e acompanhados de dados clínicos. Amostras de soro da fase aguda e convalescente devem ser colhidas paralelamente para evidenciação da conversão sorológica mediante teste de inibição da hemaglutinação. Os dados de hemograma não são específicos, podendo ser observada leucocitose ou leucopenia. As amostras clínicas podem ser submetidas a técnicas rápidas de diagnóstico de detecção viral, por imunofluorescência direta ou indireta, imunoenensaio do tipo ELISA e PCR em tempo real. No caso específico dos FLUVA e FLUVB, um sistema de diagnóstico rápido, baseado na

revelação da presença viral por meio da atividade de neuraminidase, pode ser utilizado. Para identificação viral podem também ser empregadas reações sorológicas, como fixação de complemento, teste de neutralização e hemaglutinação indireta. A identificação das espécies e dos subtipos dos FLUV é realizada, tradicionalmente, por reação de hemaglutinação indireta.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre o vírus da influenza lendo o capítulo sobre Vírus Respiratórias no livro intitulado **Virologia Humana**. (Santos, 2015).



Assimile

Os suínos são classificados como hospedeiros do vírus influenza em plantéis distribuídos mundialmente, pois podem infectar-se com amostras de aves e humanos. E mais: o vírus da influenza suína possui um agente zoonótico com especificidades características por sofrer recombinações e rearranjos. Você pode expandir esse conhecimento lendo o artigo intitulado *Influenza suína*: aspectos atuais no controle e tratamento desta doença emergente. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/sYpaEYzsFwdhP_Ri_2014-8-5-11-34-47.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2018.

Sem medo de errar

Como a equipe discutiu o caso clínico descrito que, segundo a própria paciente, fazia com que ela pressentisse uma anúncio da doença? O farmacêutico e o clínico explicaram que os eventos observados na reativação da infecção podem ser explicados da seguinte maneira: a infecção é pré-anunciada por um período prodromico de 0 a 2 horas até 48 horas. Os sintomas sentidos pela paciente, tais como dor, queimação, coceira ou formigamento, com duração de 6 horas, antes do período de erupção das vesículas que aparecem na borda dos lábios caracterizam esse período. Outros sintomas são febre, cefaleia, cansaço e linfadenopatia. Entre dois a cinco dias, a paciente observa a formação de vesículas, devido ao edema na pele ou mucosa, que têm uma aparência característica,

pois ficam agrupadas e apresentam um líquido claro, além disso, a dor é mais intensa no início, aliviando dentro de 4 a 5 dias. Cerca de dez dias depois, as vesículas se rompem liberando o líquido contendo partículas virais infecciosas, que podem ser transmitidas a outra pessoa não imune (foi assim que a paciente se infectou ao beijar o rapaz com lesões nos lábios). Finalmente, as vesículas se transformam em crostas e se inicia o processo de cicatrização. O farmacêutico da equipe afirmou que, até o momento, não há tratamento para a cura do herpes simples, apenas fármacos que auxiliam no alívio dessa sintomatologia. E como é o diagnóstico? O diagnóstico do herpes simples recorrente nas regiões da boca é essencialmente clínico, realizado a partir de uma anamnese minuciosa dos sintomas relatados e das características observadas em um detalhado exame físico das lesões. Pode ser realizada uma análise microscópica como a citologia esfoliativa, onde poderão ser detectadas células epiteliais com inclusões virais, que permitirão um diagnóstico citológico seguro quando inter-relacionado aos achados clínicos. Outros testes poderão ser realizados envolvendo a biologia molecular, como cultura viral, PCR (Reação em cadeia da polimerase) e imunocitoquímica, no entanto, dificilmente, se fazem necessários para o diagnóstico das lesões bucais.

Avançando na prática

Herpes labial

Descrição da situação-problema

Helen, ao acompanhar o caso clínico relatado sobre a infecção por herpes vírus, sentiu a necessidade de investigar mais o assunto, principalmente os detalhes sobre os estágios das lesões herpéticas. Ela decidiu esquematizar essas fases para compreender de forma mais clara a evolução da doença. Vamos ver como ficou esse esquema?

Resolução da situação-problema

Os sintomas relatados pela paciente no caso clínico são dor, queimação, coceira ou formigamento, com duração de 6 horas, antes do período de erupção das vesículas que aparecem na

borda dos lábios. Após cerca de dez dias, finalmente, as vesículas se transformam em crostas e se inicia o processo de cicatrização, conforme mostrado na Figura 4.7.

Figura 4.7 | Detalhes sobre os estágios das lesões herpéticas



Fonte: Santos (2015)

Faça valer a pena

1. A infecção pelo HPV (papilomavírus humano) pode ser completamente assintomática, mas, por outro lado, pode causar alterações proliferativas benignas, mas também neoplasias malignas. O HPV é um vírus sexualmente transmissível que está associado a diversos tipos de câncer, incluindo o uterino.

Tendo em vista o exposto, marque a alternativa correta sobre a infecção pelo papiloma vírus humano:

- a) Exames citológicos que detectam o DNA dos HPV são, obviamente, específicos para este vírus, e são esses resultados que devem ser utilizados em investigações de prevalências de infecção por HPV.
- b) O HPV é uma condição imprescindível (infecção persistente por HPV ontogênico) e suficiente por si só, uma vez que de milhões de mulheres infectadas pelo HPV, os mesmos milhões de mulheres virão a desenvolver câncer.
- c) Quando a paciente tem HPV de alto risco é certo que tenha lesão; se ela não tem HPV, muito provavelmente não tem lesão de alto grau/câncer.
- d) O exame citológico visa a detecção de células tumorais, não do HPV, no entanto é comum ser relatado no laudo citológico o termo "sugestivo de HPV".
- e) Está comprovado que todos os tipos de HPV estão envolvidos na gênese do câncer de colo uterino, pesquisadores passaram a avaliar se a detecção do vírus por esses métodos poderia ser utilizada na prevenção, tal qual um exame citológico.

2. A rubéola é uma doença altamente contagiosa, aguda e também é conhecida como "sarampo alemão". Na área das doenças infectocontagiosas, a epidemiologia da rubéola está associada com a ocorrência da Síndrome da Rubéola Congênita, que acomete o feto ou o recém-nascido, cujas mães tenham se infectado durante a gestação. A infecção na gravidez acarreta inúmeras complicações tanto para a mãe, que pode sofrer com aborto e casos de natimorto, quanto para os recém-nascidos, como malformações congênitas (surdez, malformações cardíacas, lesões oculares, dentre outras).

De acordo com o exposto sobre a rubéola, os exames sorológicos baseiam-se:

- I. No efeito dos anticorpos sobre a função biológica específica do vírus, como as técnicas de neutralização (NT) e de inibição de hemaglutinação (IHA).
 - II. Na reação entre o anticorpo e qualquer componente antigênico relevante do vírus da rubéola, como as técnicas imunoenzimáticas, de imunofluorescência, aglutinação de partículas de látex, dentre outras.
 - III. O diagnóstico laboratorial é essencialmente sorológico e tem por objetivos principais a detecção da rubéola congênita e pós-natal, o controle de vacinação, a determinação da imunidade e as investigações soropidemiológicas.
- a) Apenas as afirmativas I e II estão corretas.
 - b) Apenas as afirmativas I e III estão corretas.

- c) Apenas as afirmativas II e III estão corretas.
- d) Apenas a afirmativa I está correta.
- e) As afirmativas I, II e III estão corretas.

3. Os sintomas mais sérios da Gripe A causada pelo vírus H1N1, se desenvolvem em pessoas mais idosas e em gestantes. Os estudos científicos indicam que isso se deve à menor imunidade desses grupos contra o vírus. Recentemente, o governo brasileiro realizou uma campanha de vacinação para aumentar a imunidade populacional relativa ao vírus da gripe A, tendo como foco os grupos mais susceptíveis.

Em relação ao diagnóstico laboratorial do vírus da influenza, marque a alternativa correta:

- a) Os dados de hemograma são específicos, sendo observadas leucocitose ou leucopenia.
- b) A identificação das espécies e dos subtipos dos FLUV é realizada, tradicionalmente, por reação de hemaglutinação direta.
- c) As amostras clínicas podem ser submetidas a técnicas rápidas de diagnóstico de detecção viral, por imunofluorescência direta ou indireta, imunoensaio do tipo ELISA e PCR em tempo real.
- d) Os materiais de escolha para o isolamento dos FLUV são o sangue total, plasma e o soro, os quais devem ser coletados na fase aguda da doença e acompanhados de dados clínicos.
- e) Amostras de soro da fase aguda e convalescente devem ser colhidas, paralelamente, para evidenciar a conversão sorológica mediante teste de ativação da hemaglutinação.

Seção 4.3

Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial de viroses II

Diálogo aberto

Helen, estagiária no Laboratório de Imunofarmacologia, estava estudando casos clínicos antigos, notificados em 2011, relacionados a pacientes do interior de São Paulo. Esses três casos foram relatados em uma revista científica, no artigo intitulado *Surto de sarampo na região de Campinas, SP*. Disponível em: <<https://bit.ly/2MxoSeE>>. Acesso em: 14 set. 2018. Veja a descrição dos três casos:

Caso 1 - paciente do sexo masculino, com idade de sete anos, estudante em uma cidade do interior de São Paulo, notificado em 20/05/2011. Os sintomas se iniciaram no dia 07/05/2011 e o exantema apareceu no dia 10/05/2011.

Caso 2 - paciente do sexo feminino, 35 anos, mãe do paciente relatado no caso 1, professora na escola do caso 1, teve manifestação dos sintomas no dia 18/05/2011 e exantema em 21/05/2011.

Caso 3 - paciente do sexo feminino, 23 anos, residente na mesma cidade do interior de São Paulo. Os sintomas se iniciaram em 03/5/2011 e exantema em 08/5/2011.

De acordo com os relatos, os casos 1 e 2 não tinham comprovação de vacinação e, de acordo com a conversa com o clínico, isso ocorreu por opção familiar devido à prática alternativa de medicina. Os três casos negaram histórico de viagem internacional ou contato com pessoas que tenham regressado recentemente do exterior. De acordo com a anamnese, os três pacientes apresentaram exantema maculopapular, acompanhado de coriza, sendo que, em dois casos, os pacientes tiveram tosse seca e febre. Um deles referiu mal-estar, dor de garganta e conjuntivite. Nenhum deles apresentou complicações que levassem a internação e todos evoluíram para cura sem sequelas.

Ao avaliar esses casos, Helen fez as seguintes indagações:

- Como foi realizado o diagnóstico laboratorial?
- E se a paciente estivesse grávida? Quais poderiam ser as consequências?

- Será que houve vínculo epidemiológico entre os três casos?
Vamos ajudar Helen a responder esses questionamentos?

Não pode faltar

- **Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Vírus Epstein-Barr** - O vírus é encontrado na parte oral da faringe e nos linfócitos B humanos, desta forma, o vírus Epstein-Barr (EBV) é transmitido principalmente pela troca de saliva, como exemplo durante o beijo, sendo que a infecção do EBV pelo sangue é muito rara. É uma das infecções mundiais mais comuns, sendo que mais de 90% da população adulta nos Estados Unidos possuem anticorpos contra o EBV. Nos primeiros anos de vida, a doença é normalmente assintomática, sendo que infecções precoces têm ocorrência maior em indivíduos de pessoas oriundas de classes socioeconômicas menos privilegiadas.



Exemplificando

Exemplificando que o EBV também causa a leucoplasta pilosa – que é caracterizada por lesões esbranquiçadas, não malignas, e que apresentam uma superfície “pilosa” na região lateral da língua (Figura 4.8). Isso ocorre em indivíduos imunocomprometidos, sobretudo em pacientes com AIDS.

Figura 4.8 | Leucoplasia pilosa – você pode observar as placas esbranquiçadas na parte lateral da língua induzidas pelo vírus Epstein-Barr



Fonte: Levison (2016, p. 291).

A infecção por EBV, que causa a doença denominada mononucleose infecciosa, é associada a muitos cânceres, como o linfoma de Burkitt e carcinoma da parte nasal da faringe. Na mononucleose infecciosa, a infecção se inicia no epitélio faríngeo, disseminando-se para os linfonodos cervicais, alcançando a corrente sanguínea, chegando até o fígado e o baço. O vírus Epstein-Barr permanece latente nos linfócitos B. No linfoma de Burkitt, a oncogênese resulta de uma translocação do oncogene *c-myc* a um local adjacente a um promotor de gene de imunoglobulina. Esta translocação aumenta a síntese da proteína *c-myc*, uma potente oncoproteína. No diagnóstico laboratorial, o vírus raramente é isolado, sendo que o diagnóstico da mononucleose infecciosa no laboratório clínico é baseado em duas abordagens:

(1) Na abordagem hematológica da mononucleose infecciosa, observa-se linfocitose absoluta e cerca de 30% de linfócitos atípicos no esfregaço. Esses linfócitos atípicos estão aumentados, possuem um núcleo expandido e um citoplasma abundante, frequentemente, vacuolizado, constituindo os linfócitos T citotóxicos reativos a células B infectadas com o EBV.

(2) Na abordagem imunológica, há dois tipos de testes sorológicos: (a) o teste de anticorpos heterofílicos é frequentemente positivo (teste de Monospot). (b) Os testes de anticorpos específicos para o EBV são utilizados, principalmente, em casos difíceis de diagnosticar.



Assimile

No diagnóstico laboratorial de mononucleose, o anticorpo heterofílico aglutina hemácias de carneiro ou cavalo. Por outro lado, um aumento significativo no título de anticorpos EBV-específicos contra o antígeno do capsídeo viral é utilizado como diagnóstico diferencial. O teste Monospot é, em geral, utilizado na detecção de anticorpos heterofílicos; ele é mais sensível, mais específico e mais barato que o teste de aglutinação em tubo.

Nesses tipos de testes, o anticorpo heterofílico aglutina hemácias de carneiro ou cavalo. Por outro lado, um aumento significativo no título de anticorpos EBV-específicos contra o antígeno do capsídeo

viral é utilizado como diagnóstico diferencial. O teste Monospot é, em geral, utilizado na detecção de anticorpos heterofílicos; ele é mais sensível, mais específico e mais barato que o teste de aglutinação em tubo.

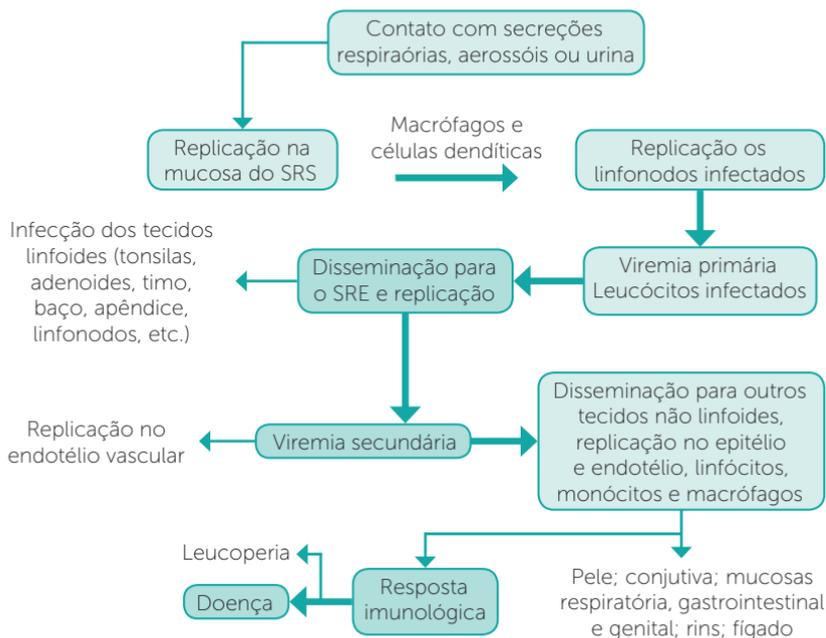
Infelizmente, nenhum fármaco eficaz se encontra disponível para o tratamento da mononucleose infecciosa e, em relação à prevenção, não há vacina disponível.

- **Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses:**

Sarampo - O sarampo é uma doença altamente contagiosa que pode ocasionar complicações graves com sequelas permanentes e levar ao óbito. A panencefalite esclerosante subaguda é uma rara complicação tardia. Antes do desenvolvimento das vacinas contra o sarampo, a doença afetava 90% das crianças antes de completarem 15 anos de idade; a estimativa era de que a infecção pelo vírus do sarampo resultasse em mais de 2 milhões de mortes e entre 15.000 e 60.000 casos de cegueira anualmente em todo o mundo. Apesar de, atualmente, haver uma vacina eficaz, o sarampo ainda leva a óbito milhares de pessoas no mundo, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS). A maior incidência do sarampo se dá em países em desenvolvimento, mas também ocorre, embora em menor incidência, em países industrializados. No início desse século, o Brasil atingiu a meta da OMS para a erradicação da transmissão do vírus do sarampo autóctone. E como ocorre a transmissão do vírus do sarampo? A transmissão se dá por meio de perdigotos, e o local inicial da infecção é o trato respiratório superior. O vírus dissemina-se até os linfonodos locais e, então, pela corrente sanguínea, atinge outros órgãos, incluindo a pele. O sarampo é uma doença extremamente contagiosa, infecções inaparentes são raras, e a infecção natural começa quando o vírus atinge as células epiteliais do sistema respiratório superior, ou conjuntiva, dos indivíduos suscetíveis. Nos primeiros dias (entre 2 a 4 dias), o vírus é replicado localmente na mucosa do sistema respiratório superior e é disseminado, provavelmente, pelos macrófagos pulmonares e células dendríticas para os linfonodos locais, onde novamente é replicado. Assim, o vírus ganha a corrente sanguínea em leucócitos infectados, produzindo a viremia primária, o que dissemina a infecção para o sistema reticuloendotelial, conforme esquema mostrado na Figura 4.9. Pneumonia de células gigantes e encefalite podem ocorrer. A erupção maculopapular é devida ao ataque

imune mediado por células T citotóxicas às células endoteliais vasculares da pele infectadas pelo vírus. Uma das características mais marcantes da infecção pelo vírus do sarampo é a formação de células gigantes multinucleadas, ou sincícios, que resultam da fusão de células infectadas com células vizinhas não infectadas. Quanto ao diagnóstico laboratorial, o vírus raramente é isolado e os testes sorológicos são utilizados quando necessário. Ensaio de reação em cadeia da polimerase (PCR) estão disponíveis. Em relação ao tratamento, infelizmente, não há terapia antiviral disponível e, quanto à prevenção, a vacina é administrada junto com as de caxumba e rubéola. O tratamento em pacientes sem complicações é sintomático e inclui repouso, hidratação e antipiréticos. Em crianças com traqueobronquite pode ser necessário o uso de vaporizadores, expectorantes e agentes antitussígenos. A redução da iluminação do ambiente ajuda a eliminar o desconforto associado à fotofobia. A vacina contém vírus vivos atenuados.

Figura 4.9 | Representação esquemática da patogênese do vírus do sarampo

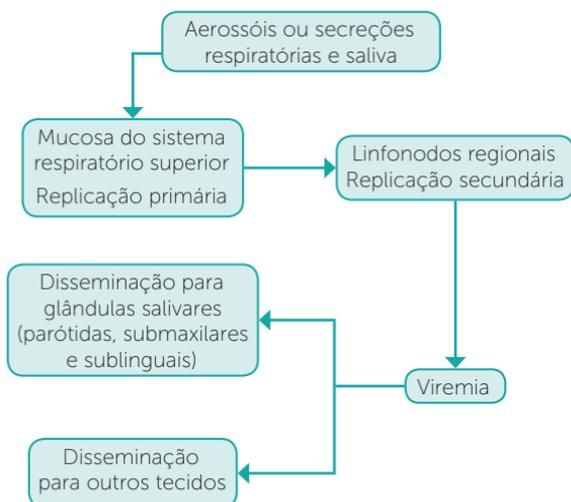


SRS = sistema respiratório superior
 SRE = sistema reticuloendotelial
 Fonte: Santos (2015).

- Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Caxumba

- A caxumba é uma doença infecciosa comum na infância, conhecida desde o século V a.C. quando Hipócrates descreveu, pela primeira vez, uma doença epidêmica caracterizada por tumefação não supurativa próxima ao ouvido. A caxumba é altamente contagiosa, sendo que o vírus da caxumba é transmitido por meio do contato direto com secreções respiratórias oriundas de espirros e tosse. O período de incubação médio é de 18 dias. Durante o período de incubação, ocorre replicação primária nas células epiteliais da mucosa nasal ou do sistema respiratório superior, seguida do espalhamento do vírus para os linfonodos regionais. Em seguida, haverá viremia transitória, possivelmente com replicação em células T, devido a disseminação do vírus para os tecidos glandular e neural. Essa fase virêmica termina com o início da resposta imunológica humoral, conforme esquematizado na Figura 4.10. O sintoma clínico inicial da doença é usualmente correlacionado à infecção das glândulas parótidas, no entanto a infecção viral dessas glândulas não é uma etapa primária, nem obrigatória na infecção. A esterilidade decorrente de orquite bilateral é uma complicação rara, no entanto é bem conhecida pela população em geral.

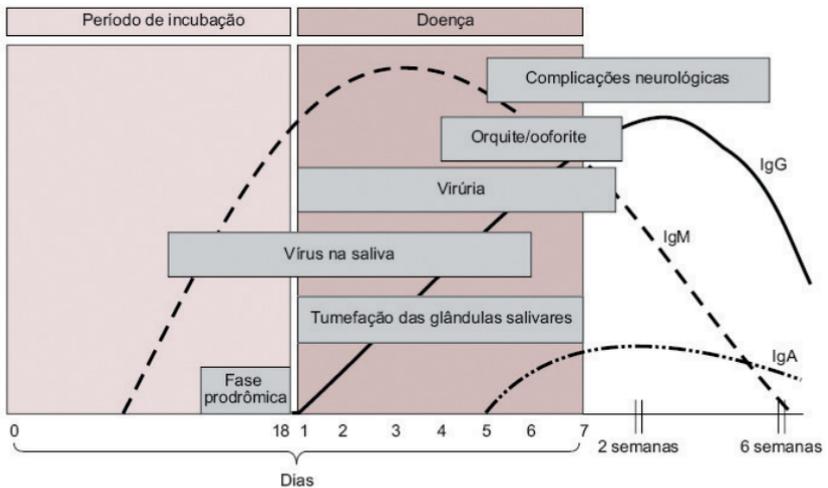
Figura 4.10 | Representação esquemática da patogênese do vírus da caxumba



Fonte: Santos (2015).

O fim da excreção viral na saliva está correlacionada com o surgimento da IgA secretora específica, sendo que anticorpos IgM específicos para o vírus da caxumba também estão presentes na saliva. Além disso, o vírus também pode ser isolado da urina durante os 5 primeiros dias da doença, essa excreção do vírus na urina é denominado como virúria, que pode continuar por até quatorze dias (Figura 4.11). O vírus da caxumba, geralmente, não causa infecção persistente crônica e a figura mostra a evolução cronológica da infecção pelo vírus da caxumba. A IgM específica para o vírus da caxumba está presente em níveis detectáveis no início da doença e declina após seis meses, concomitantemente com o incremento da IgG específica que persiste por toda a vida.

Figura 4.11 | Evolução cronológica da infecção pelo vírus da caxumba



Fonte: Santos (2015).

Quanto ao diagnóstico laboratorial, o vírus pode ser isolado em cultura celular e detectado por hemadsorção, sendo que o diagnóstico também pode ser realizado sorologicamente. Ensaio de PCR estão disponíveis. Atualmente, não há terapia antiviral disponível, por isso o tratamento dos pacientes sem complicações consiste em medidas de alívio dos sintomas como administração de analgésico, antipirético, repouso e hidratação. No caso da orquite, o tratamento inclui repouso, analgésico e aplicação de gelo no local. Como estratégia de prevenção é utilizada a vacinação, sendo que

a vacina contém vírus vivos atenuados. Geralmente, é administrada com as vacinas contra sarampo e rubéola.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre os vírus do sarampo e da caxumba lendo o capítulo 15, intitulado *Viroses Multisistêmicas* no livro *Virologia Humana* (Santos, 2015).



Refleta

Refleta sobre o motivo de os pais que não vacinam seus filhos representarem um problema para toda a escola e toda a comunidade. Esses movimentos antivacina são populares nos Estados Unidos e em alguns países da Europa e estão crescendo também no Brasil. Para auxiliar nessa reflexão, você pode ler o artigo intitulado *Por que pais que não vacinam seus filhos são um problema para toda a escola*, publicado na revista Nova Escola.

Disponível em: <<https://novaescola.org.br/conteudo/4989/por-que-pais-que-nao-vacinam-seus-filhos-sao-um-problema-para-toda-a-escola>>. Acesso em: 14 set. 2018.

Em contraste, reflita, também, sobre a opinião contrária lendo o artigo intitulado *Cuidar e (não) vacinar no contexto de famílias de alta renda e escolaridade em São Paulo, SP, Brasil*, publicado na revista científica Saúde & Ciência Coletiva (2015)

Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/csc/v20n1/1413-8123-csc-20-01-00105.pdf>. Acesso em: 14 set. 2018.

- Fisiopatologia e diagnóstico laboratorial das viroses: Hepatite A, B, C, D, E & não E - Os vírus da hepatite são os agentes etiológicos da hepatite e são responsáveis por uma elevada incidência de casos de morbidade e mortalidade, sendo considerados como um grave problema de saúde pública mundial. As alterações hepáticas possuem gravidade variável e são causadas por agentes de diferentes famílias e gêneros que possuem tropismo pelo fígado. As hepatites de tipo A e E são consideradas como endêmicas em regiões onde as condições sanitárias são precárias. Os vírus da hepatite B e C são

transmitidos por via parenteral e são os responsáveis pela maior parte dos casos de hepatite crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular em todos os continentes. A Figura 4.12 demonstra hepatites virais causadas por agentes de diferentes famílias e gêneros, incluindo outro vírus hepatotrófico humano conhecido como o vírus da hepatite D, que é defectivo e associado ao HBV.

Tabela 4.1 | Tipos de hepatites e comparação entre suas principais características

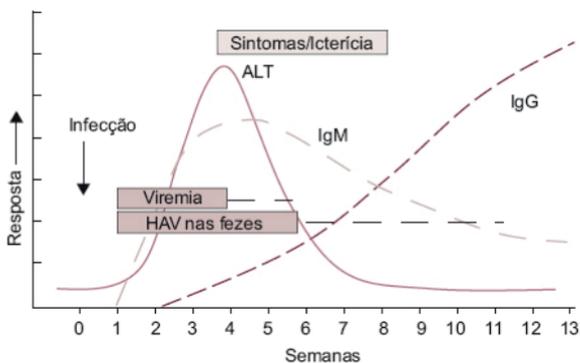
Hepatites virais				
Vírus	Classificação do vírus	Modo de infecção	Período de incubação	Comentários
HAV	Hepatovírus	Fecal-oral	2 a 4 semanas	Não há estado de portador
HBV	Hepadnavírus	Sangue, sexual, materno- fetal, percutânea	6 a 24 semanas	Estado de portador associado a hepatocarcinoma
HCV	Flavivírus	Sangue, pecutânea, sexual (menos comumente) e desconhecida	2 a 26 semanas	Portador associado a hepatocarcinoma
HDV	Deltavírus	Sangue	2 a 12 semanas	Necessária Infecção concomitante ao vírus B
HEV	Calicivírus	Fecal-oral	6 a 8 semanas	Não há estado de portador

Fonte: <<http://www.medicinanet.com.br/imagens/20140129144321.jpg>>. Acesso em: 10 out 2018.

A transmissão do vírus da hepatite A se dá pela via fecal-oral, o vírus será internalizado pelos hepatócitos após chegar à corrente sanguínea, onde novas partículas virais serão sintetizadas e secretadas no canalículo biliar, chegando até o intestino delgado. Esse ciclo, denominado como entero-hepático irá continuar até que seja interrompido por mecanismos de imunidade do hospedeiro. A infecção pelo vírus da hepatite A pode variar desde assintomática até casos de hepatite fulminante e dependem da idade do paciente. Dessa forma, em crianças até 6 anos de idade, cerca de 70% das infecções são assintomáticas. Por outro lado, a mesma proporção de adultos infectados terá infecções sintomáticas, com icterícia e elevados níveis de aminotransferases, sendo um processo infeccioso grave nessa faixa etária. O diagnóstico laboratorial da

hepatite A é realizado através da detecção de anticorpos contra o vírus. Na infecção aguda, serão detectados os anticorpos IgM anti-HAV. Os anticorpos IgG aparecem após a cura, permanecendo ao longo da vida protegendo o indivíduo contra novas infecções. Elevações de enzimas hepáticas como alanina-amino transferase (ALT) e aspartato-amino transferase (AST) ocorrem no quadro agudo da doença e podem demorar até 6 meses para se normalizarem. O período de incubação médio é de aproximadamente 30 dias, variando entre 15 e 50 dias. As partículas virais são detectadas nas fezes em concentrações elevadas a partir de 1 a 2 semanas antes da elevação de ALT e antes do aparecimento da icterícia, atingindo o pico máximo de excreção no início dos sintomas e declinando rapidamente, conforme demonstrado na Figura 4.13.

Figura 4.13 | Curso clínico da hepatite A



Fonte: Santos (2015).

No Brasil, a vacina contra a hepatite A estava disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais, porém, apenas para pacientes com maior risco de apresentarem doença grave por hepatite A, incluindo pessoas com hepatopatias crônicas de qualquer etiologia, portadores crônicos da hepatite B e vírus da hepatite C, coagulopatias, menores de 13 anos infectados pelo HIV e portadores da síndrome de HIV, dentre outros. Atualmente, a vacina Vaqta® foi incluída no Calendário Básico de Imunização da Criança. Apesar do desenvolvimento e da disponibilidade de inúmeras ferramentas moleculares e imunológicas nas últimas décadas, continua a procura por novos agentes virais associados a casos de hepatite. Isso se deve à alta percentagem de casos de

hepatite pós-transfusional, que não são diagnosticados como hepatite A, B, C, D ou E e são chamados de casos de hepatite não A-E. Por meio da busca dos agentes causadores de tais casos, novos vírus foram identificados, como o vírus da hepatite G (HGV) e o vírus Torque teno (TTV). No entanto, a relação causal entre infecção por esses vírus e hepatopatias ainda não foi estabelecida. As hepatites virais mais comuns no Brasil são as que têm como causa os vírus A, B e C. Os vírus D e E são mais frequentes nos continentes africano e asiático. A detecção da hepatite através de exames de rotina é muito importante, isso porque milhões de brasileiros são portadores do vírus B ou C, sem saberem. O risco é que a doença pode evoluir e tornar-se crônica, causando lesões mais graves ao fígado, tais como cirrose e câncer. As condições precárias de saneamento básico, higiene pessoal e água e/ou alimentos contaminados podem levar à infecção pelo vírus A e E, via contágio fecal-oral. O compartilhamento de seringas, agulhas, alicates de unha, dentre outros objetos perfurantes pode levar à contaminação pelos vírus B, C e D, via transmissão sanguínea. Além disso, pode ocorrer a transmissão de mãe para filho durante a gravidez, o parto e a amamentação. Isso ocorre com os vírus B, C e D.



Pesquise mais

Pesquise mais sobre os diferentes vírus da hepatite, as formas de infecção, tratamento e prevenção lendo as páginas 655 e 656 do livro *Microbiologia Médica e Imunologia*, LEVINSON (2016) e o capítulo 15 do livro *Virologia Humana*, Santos (2015).

Sem medo de errar

Você se lembra das indagações da Helen sobre os três casos que ocorreram no interior de São Paulo? Vamos retomá-las.

- Como foi realizado o diagnóstico laboratorial?

Helen verificou que a confirmação laboratorial para sarampo ocorreu pela detecção de anticorpos IgM em ensaio imunoenzimático e soroconversão de IgG em amostras pareadas de soro. De acordo com os resultados, ela percebeu que foi possível a identificação do vírus genótipo D4 nas amostras clínicas dos casos 1 e 2.

- E se a paciente estivesse grávida? Quais poderiam ser as consequências?

Helen verificou que o sarampo em mulheres grávidas leva ao aumento do risco de natimorto, em vez de anomalias congênitas. E por que isso ocorre? A infecção do feto pelo vírus do sarampo é mais grave que a infecção pelo vírus da rubéola, por isso o vírus do sarampo geralmente ocasiona a morte do feto, ao passo que o vírus da rubéola causa anomalias congênitas.

- Será que houve vínculo epidemiológico entre os três casos?

Helen constatou que a situação particular de susceptibilidade à doença nesse relato de casos clínicos foi determinante na ocorrência dos três casos de sarampo. Os casos 1 e 2 não foram vacinados por opção pessoal, pois mãe e filho eram adeptos da medicina alternativa. O artigo científico cita que, em relação ao caso 3, o paciente recebeu duas doses de vacina contra sarampo ao longo de sua vida, mas desenvolveu leucemia linfóide aguda aos seis anos, quando recebeu tratamento quimioterápico. Pacientes com esse tipo de leucemia e pós-quimioterapia podem apresentar diminuição dos títulos de anticorpos contra antígenos vacinais após a quimioterapia. Não foi encontrado vínculo epidemiológico entre o caso 3 e os casos 1 e 2, no entanto, entre os casos 1 e 2, o genótipo do vírus era o mesmo.

Helen constatou que devido à característica altamente transmissível do vírus do sarampo e sua circulação endêmica em vários países, aliada à globalização, mantém-se o risco potencial de sua reintrodução no País. Por isso, é necessária a manutenção de elevadas coberturas vacinais na população, recomendando a imunização tanto para brasileiros que viajem ao exterior, quanto aos estrangeiros que visitem o nosso país. Além disso, é necessário que os profissionais de saúde notifiquem a vigilância epidemiológica sobre os casos de sarampo. É importante manter altas coberturas vacinais na população, alertar os viajantes brasileiros sobre a necessidade de manterem suas vacinas atualizadas antes de viajar e reforçar essa recomendação aos viajantes visitantes antes de entrarem no País. Além disso, é importante que os profissionais de saúde se mantenham alertas à doença e notifiquem a vigilância epidemiológica para identificar, oportunamente, os casos de sarampo.

E quais os riscos para a população em geral dessas pessoas que são contrárias à vacinação? Isso daria assunto para uma nova situação problema, não é mesmo?

Hepatites

Descrição da situação-problema

Helen estava estudando sobre as hepatites virais junto ao Laboratório de Imunofarmacologia. Nessas pesquisas, ela lembrou que o termo hepatite significa uma inflamação do fígado e que pode ser causada por infecções virais, mas também por outras situações tais como doenças autoimunes, consumo elevado de bebidas alcoólicas, medicamentos, dentre outras possibilidades. Helen aprendeu que as hepatites virais mais importantes são as causadas pelos vírus A, B, C, D e E. Quais os tipos de doença que cada um desses vírus causa? Como deve ser a proteção contra as hepatites virais? Helen fez um resumo sobre esse assunto. Vamos ver como ficou?

Resolução da situação-problema

▶ CONHEÇA OS TIPOS DA DOENÇA

Hepatite A	Hepatite B	Hepatite C	Hepatite D	Hepatite E
Sua infecção dura de 10 a 50 dias. Quando aparecem, os sintomas são febre, pele e olhos amarelados, náuseas, vômitos, desconforto abdominal, falta de apetite, urina escura e fezes esbranquiçadas. Depois de infectada, a pessoa desenvolve imunidade. Apesar de raro, existe uma forma grave de hepatite A.	Tempo médio de incubação do vírus é de 90 dias. Pode passar de mãe para filho no momento do parto. As crianças são as mais afetadas: naquelas com menos de 1 ano, o risco chega a 90%, entre 1 e 5 anos, varia entre 20% e 50%. Em adultos, o risco cai para 5% a 10%. Se não tratada, pode evoluir para doenças graves.	É a maior causa de transplante hepático no mundo. Apenas 10% das pessoas infectadas eliminam o vírus do organismo, o restante desenvolve a chamada hepatite crônica, que pode levar à cirrose e câncer de fígado. Quando torna-se crônica, pode evoluir para cirrose hepática.	O vírus se manifesta na presença do vírus do tipo B e sua forma de transmissão é a mesma. A infecção concomitante acelera a progressão da doença crônica. A vacinação contra a hepatite B também protege de infecção com a D.	Rara no Brasil e comum na Ásia e África, sua transmissão é fecal-oral, por contato entre indivíduos ou através de água ou alimentos contaminados pelo vírus. Como as outras variações da doença, quase não apresenta sintomas. Mas, os mais frequentes são cansaço, tontura, enjojo, febre, dor abdominal.

COMO SE PROTEGER DAS HEPATITES VIRAIS

 <p>Faça sexo seguro: use camisinha</p>	 <p>Não compartilhe objetos que podem conter sangue: como seringas, agulhas, lâminas de barbear, alicates de unha, escovas de dentes</p>	 <p>Em caso de transfusão de sangue: assegure-se sobre a origem do produto hemoterápico e se foram feitos os testes sorológicos exigidos</p>
 <p>Tenha em dia a vacinação contra os tipos possíveis (A e B e, por consequência, o D)</p>	 <p>Exija material esterilizado na hora de fazer tatuagem ou piercing</p>	 <p>Faça o teste de hepatite durante o pré-natal: o diagnóstico precoce possibilita prevenção e o tratamento do bebê, no caso da hepatite B, logo após o parto</p>

Disponível em: <<http://jornalnovametropole.com.br/wp/wp-content/uploads/2016/07/10-Hepatite.jpg>>. Acesso em: 14 set. 2018.

Faça valer a pena

1. Os vírus não apresentam uma organização celular conforme ocorre com os outros seres vivos. Dessa maneira, os vírus precisam de outros organismos para se reproduzirem, sendo, portanto, parasitas obrigatórios. A virologia é uma importante área de investigação tendo em vista o grande número de doenças humanas causadas por esses agentes microscópicos infecciosos.

Marque a alternativa em que todas as doenças citadas são virais:

- a) Leishmaniose, AIDS, hepatite A, caxumba.
- b) Herpes, sarampo, leishmaniose, hepatite B.
- c) Sarampo, caxumba, mononucleose infecciosa, hepatite C.
- d) Botulismo, leishmaniose, sarampo, catapora.
- e) Botulismo, mononucleose infecciosa, leishmaniose.

2. O jornal Folha de São Paulo publicou uma matéria intitulada *Casos de sarampo expõem Rio a risco de surto após 18 anos*, que descrevia, entre outras coisas, o risco de a doença chegar ao estado, já que é extremamente contagiosa.

Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/cotidiano/2018/07/casos-de-sarampo-expoem-rio-a-risco-de-surto-apos-18-anos.shtml>>. Acesso em: 14 set. 2018.

O que caracteriza o sarampo como sendo uma doença altamente contagiosa?

- a) O fato de ainda não existir vacina para o vírus do sarampo.
- b) O fato de ser transmitida pelo *Aedes aegypti*.
- c) O fato de afetar apenas recém-nascidos e adultos desnutridos e/ou imunodeficientes.
- d) O fato de ser contagiosa através do sangue.
- e) O fato de ser usualmente transmitida através das secreções provenientes das vias respiratórias, como gotículas projetadas pelo espirro ou pela tosse.

3. Recentemente, em uma cidade do interior de Minas Gerais, ocorreu um surto de icterícia em várias crianças de uma mesma creche e, após uma

avaliação, foram verificadas más condições higiênicas e sanitárias. O surto foi causado por um vírus da hepatite.

Tendo em vista o exposto no texto-base, marque a alternativa correta em relação ao tipo de vírus:

- a) Vírus da hepatite A.
- b) Vírus da hepatite B.
- c) Vírus da hepatite C.
- d) Vírus da hepatite D.
- e) Vírus da hepatite não E.

Referências

FERREIRA, Antonio Walter; MORAES, Sandra do Lago. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, p. 471.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 13. ed. Porto Alegre: AMGH. 2016, p. 800.

SANTOS, Fabiana Cirino et al. Influenza suína: aspectos atuais no controle e tratamento desta doença emergente. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, 2014, n. 23, p. 1 -13.

SANTOS, Norma Suely de Oliveira; ROMANOS, Maria Teresa Villela; WIGG, Marcia Dutra. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2015, p. 532.

ISBN 978-85-522-1122-8



9 788552 211228 >