

Hematologia e imunologia aplicadas em imuno-hematologia

**Paulo Roberto Soares Stephens
Flávia Coelho Ribeiro
Valmir Laurentino da Silva
Marcos Antonio Pereira Marques**

Este capítulo objetiva dar subsídios aos estudantes para o entendimento de algumas associações da imuno-hematologia com outras áreas, como a imunologia e a hematologia. Para isso, é necessário descrever determinados mecanismos imunológicos e, também, conceitos hematológicos, mostrando os aspectos mais importantes dessas áreas. Este capítulo permite que o aluno compreenda os conceitos básicos da imuno-hematologia sem o auxílio de bibliografia suplementar.

A hematologia é uma área da ciência que estuda as células sanguíneas (hemácias, leucócitos e plaquetas), assim como a hemostasia. Essas células encontram-se imersas no plasma, líquido constituído basicamente de água, sais minerais, lipídeos, glicídeos e proteínas que formam o sangue. Após sofrer coagulação, o plasma passa a ser representado pelo soro e pelo coágulo. O soro apresenta composição menos rica que a do plasma, pois, ao ser formado, o coágulo incorpora e consome algumas substâncias. O enfoque da hematologia neste capítulo será o estudo dos eritrócitos, incluindo a eritropoese, a estrutura, a função e as alterações morfológicas dessas células.

A imunologia é a área da ciência que estuda os mecanismos imunológicos relacionados às células e às moléculas do sistema imune. O enfoque neste capítulo será o de introduzir as reações imunológicas (hipersensibilidade, autoimunidade e ação do sistema complemento) aos antígenos eritrocitários.

1. Hematologia

1.1 A eritropoese

A eritropoese é o processo pelo qual os eritrócitos se formam, amadurecem e passam a fazer parte do sangue circulante. Esse processo ocorre, no indivíduo adulto, na medula óssea vermelha dos ossos longos e chatos por intermédio da linhagem eritroblástica. Nos fetos e em anemias graves, esse processo pode ocorrer no fígado e no baço. A formação dessas células é um processo contínuo, por causa da necessidade diária de reposição das hemácias que compensa a destruição fisiológica e não fisiológica delas. A regulação da eritropoese se dá pelo hormônio eritropoetina, produzido principalmente pelas células renais peritubulares. A síntese desse hormônio é determinada pela quantidade de oxigênio nos tecidos, e também pode ser estimulada por outros hormônios, como o hormônio estimulante da tireoide (TSH, do inglês *thyroid-stimulating hormone*). Em regiões onde existe baixa tensão de oxigênio, como em altitudes elevadas, ocorre um estímulo para que a produção de hemácias seja aumentada que ocasiona um maior transporte de oxigênio para os tecidos. Na figura 1, é possível observar a relação entre a produção de hemácias, o transporte de O_2 e a produção de eritropoetina.

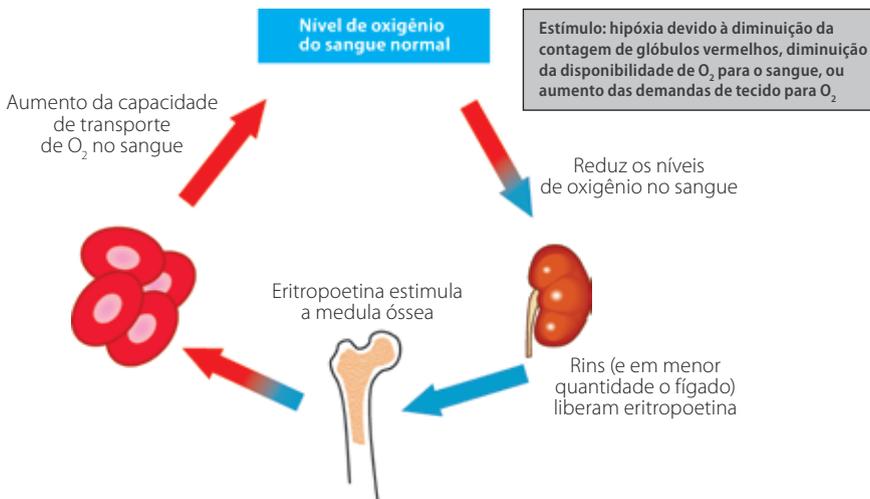


Figura 1. Correlação entre a produção de hemácias, o transporte de O_2 e a produção de eritropoetina.

FONTE: Reproduzido de Teva, Fernandez e Silva, 2009.

Os diferentes estágios de desenvolvimento da linhagem eritrocitária são caracterizados por alterações nucleares e citoplasmáticas. A medula óssea vermelha está envolvida nas seguintes atividades: produção, maturação, reserva, amadurecimento, estoque e liberação de células. Essas atividades nos permitem compreender melhor o processo de formação celular para sua reposição no sangue periférico, podendo também ser aplicada à linhagem mieloide. Desse modo, é possível observar na medula óssea nitidamente as três etapas fundamentais no desenvolvimento da eritropoese: diminuição do tamanho celular, perda da basofilia citoplasmática e picnose nuclear, e sua posterior expulsão, ainda na fase de eritroblasto ortocromático. À medida que a célula se desenvolve, ela passa por todas essas etapas até ser liberada na circulação.

O reticulócito, célula precursora dos eritrócitos, amadurece ainda na medula óssea. Essas células são encontradas no sangue periférico na proporção de até 1,5%, sendo de extrema importância para a avaliação terapêutica da anemia, pois sinalizam o comportamento da medula óssea do paciente ante a terapêutica utilizada. Abaixo são descritas as principais células que representam as fases de diferenciação do eritrócito, com as suas respectivas características básicas.

a) Hemocitoblasto

Apresenta um diâmetro superior a 140 μ , com citoplasma basofílico. O núcleo celular, que tem cromatina fina e delicada, encontra-se bem no centro da célula; o núcleo pode apresentar de dois a três nucléolos bem visíveis. Os hemocitoblastos apresentam ribossomos em sua estrutura citoplasmática; estão presentes na medula na porcentagem de 0,5 a 1%.

b) Pró-eritroblasto

Apresenta contorno irregular com proeminências, citoplasma basofílico e núcleo com membrana fina e delicada, contendo geralmente dois nucléolos, que podem estar muito ou pouco visíveis.

c) Eritroblasto basófilo

Essas células têm citoplasma basófilo e com cromatina mais condensada, sem a presença de nucléolos visíveis. Apresentam uma área esbranquiçada, perinuclear, como resultado do início da condensação da cromatina nuclear.

d) Eritroblasto policromatófilo

Célula menor que a sua precursora, possui cromatina mais condensada. O citoplasma apresenta cor acinzentada característica, em decorrência do início do processo de hemoglobinação da célula.

e) Eritroblasto ortocromático

Apresenta cromatina condensada, sendo que, nessa fase, o núcleo se desloca em direção à membrana citoplasmática. As contrações e ondulações do citoplasma levam à extrusão do núcleo. O citoplasma é acidófilo, por causa da presença da hemoglobina.

f) Reticulócito

Nesse estágio, a célula ainda permanece de um a dois dias na medula óssea antes de migrar para o sangue. A identificação dessa célula requer o emprego do corante azul de cresil brilhante, que a torna azulada, como resultado da presença dos fragmentos de RNA que se coram, exibindo o aspecto de retículo filamentosos. Nessa fase, algumas células já circulam no sangue periférico, recebendo o nome de eritrócitos policromatófilos, que são maiores que os eritrócitos maduros.

g) Eritrócito ou hemácia

A perda dos resíduos nucleares e a redução do tamanho dos reticulócitos caracterizam os eritrócitos. Em mamíferos, apresentam forma de discos bicôncavos anucleados. A coloração vermelha é conferida pela hemoglobina, que ocupa um terço do volume da célula. A principal característica fisiológica dos eritrócitos é a maleabilidade, ou deformabilidade, que facilita a sua passagem pelos capilares. Na circulação, essas células são viáveis por um período médio de 120 dias. Após a perda da maleabilidade, os eritrócitos são retirados da circulação e levados para o baço, onde ocorre a hemocaterese¹.

É importante ressaltar que os eritrócitos podem sofrer alterações fisiológicas e morfológicas durante a sua produção. As alterações morfológicas podem ser agrupadas em três grandes grupos:

- anisocitose: alteração no tamanho da hemácia, que pode ser microcítica, normocítica ou macrocítica;

¹ Destruição das hemácias por células fagocíticas.

- anisocromasia: alteração na cor da hemácia, de acordo com a carga de hemoglobina, podendo ser hipocrômica, normocrômica ou hiperocrômica;
- poiquilocitose: alteração na forma da hemácia, que pode apresentar forma de foice, na anemia falciforme, dacriócitos, estomatócitos etc.

1.2 Estrutura do eritrócito

Os eritrócitos são células bicôncavas, com diâmetro médio de $7,2 \mu$ e com vida média de 120 dias. Essas células encontram-se no sangue de um indivíduo adulto normal na quantidade de $4,5$ a $6,5 \times 10^6/\text{mm}^3$; essa quantidade varia segundo o gênero: a mulher apresenta quantidade menor de eritrócitos.

Os eritrócitos são responsáveis pelo transporte de gases respiratórios, como o oxigênio (O_2) e o gás carbônico (CO_2). Para o transporte desses gases, o eritrócito carrega O_2 dos alvéolos pulmonares para os tecidos. Nesse local, o CO_2 é captado e levado aos alvéolos, a fim de que ocorra a troca gasosa.

O principal componente do eritrócito é a hemoglobina (Hb), que é responsável pela cor vermelha do sangue por causa da presença do ferro (Fe) e tem peso molecular aproximado de 64.500 Da. A produção de hemoglobina é iniciada na medula óssea, na fase de eritroblasto policromático. Nesse processo, é utilizado o ferro captado da circulação, obtido por meio da alimentação. A molécula de hemoglobina é composta de globina – uma proteína com dois pares de cadeia de aminoácidos, chamadas α e β , e quatro grupos heme, os quais apresentam um átomo de ferro cada um. O grupo heme, uma porfirina,² contém um átomo de ferro no estado ferroso (Fe^{2+}), localizado no centro da molécula, e é sintetizado em todas as células do organismo. A maior porcentagem de Hb de um indivíduo adulto normal é a Hb-A, que apresenta as características já mencionadas. Apenas aproximadamente 2% das hemoglobinas são do tipo A_2 . Essa hemo-

² Classe de moléculas orgânicas formadas por quatro anéis pirrólicos, que geralmente albergam no centro um íon metálico, como o ferro.

globina tem quatro pares de cadeias polipeptídicas, sendo duas do tipo alfa e duas do tipo delta. Outro tipo de hemoglobina é a do tipo F, presente durante a vida fetal até aproximadamente um ano de vida e que também possui quatro pares de cadeias polipeptídicas, sendo duas do tipo alfa e duas do tipo gama. Essa hemoglobina possui maior afinidade pelo O_2 do que os outros tipos de hemoglobina, e permite mais captação do O_2 pelo feto.

Estudos científicos acerca das hemoglobinas descreveram dezenas de moléculas com estrutura alterada, sendo que em aproximadamente 10% desses casos foram observadas, como resultado, alterações funcionais e clínicas no indivíduo. As alterações genéticas no cromossomo 11 ocorrem devido à presença das Hb-SS ou Hb-AS, que acarretam, respectivamente, a anemia falciforme ou traços dessa doença, por causa das alterações dos eritrócitos.

As alterações na molécula de globina também podem levar a anemias, como é o caso das talassemias (anemia de Cooley). A doença, que ocorre predominantemente em populações do Mediterrâneo, África e Ásia, é decorrente das modificações nas cadeias alfa e beta que constituem a globina. Como resultado, observa-se o surgimento de globina com pigmentação e funções alteradas.

A associação do CO_2 com a hemoglobina forma um complexo chamado carboxi-hemoglobina, que impede a ligação do ferro com o oxigênio. No entanto, desde que haja disponibilidade adequada de oxigênio para o indivíduo respirar, essa reação é reversível. Nesse caso, cada molécula de O_2 se liga a um átomo de ferro presente em cada grupo heme da hemoglobina, formando o complexo chamado oxi-hemoglobina.

Para a liberação do oxigênio, é necessário o cofator 2-3 difosfoglicerato (2,3-DPG), encontrado no interior dos eritrócitos, que altera a hemoglobina geometricamente, tornando-a deoxi-hemoglobina. Esse cofator tem potencial de reduzir a força de ligação entre o oxigênio e a hemoglobina, permitindo a liberação desse gás para os tecidos.

Um importante fator que influencia a captação do oxigênio é a pressão atmosférica, pois, à medida que ela diminui, ocorre menor liberação de oxigênio para os tecidos. Dessa forma, o organismo produz mais 2,3-DPG a fim de compensar a baixa pressão de O_2 (hipóxia).

1.3 Antígenos da membrana eritrocitária

Os aglutinogênios eritrocitários são estruturas macromoleculares que podem ser de natureza proteica, glicídica ou glicoproteica. Localizados na superfície da membrana, possuem funções fisiológicas específicas, podendo atuar na estrutura celular e no transporte – como as moléculas de adesão com ação enzimática.

Na função estrutural, podemos citar as glicoforinas, que são proteínas altamente glicosiladas, importantes na manutenção da carga negativa do glicocálix. A interação da glicoforina com a fosfoproteína da membrana eritrocitária, juntamente com o complexo espectrina-actina (proteínas estruturais), desempenha papel importante na manutenção da forma celular e na estabilidade da membrana.

Uma alteração quantitativa dessas proteínas resulta na característica diminuição da estabilidade da membrana, o que leva à alteração na forma discoide das hemácias, formando-se eliptócitos (fig. 2) em graus variados na poiquilocitose.

Outra proteína de importância é a banda 3, que funciona como ponto de ancoragem para o citoesqueleto da membrana, mediante a interação com a anquirina. Determinados resíduos da banda 3 são cofacilitadores dos eritrócitos na retirada de gás carbônico dos tecidos, subsequentemente liberando oxigênio nos pulmões por meio da anidrase carbônica. Apresenta também três interações com a glicoforina as quais sugerem que sua presença ou ausência pode alterar a eficácia do transporte de ânions. Uma das funções mais importantes está associada à atividade hemocaterética, quando a proteína banda 3 liga-se a resíduos desnaturados de hemoglobina, formando agregados que geram epítomos na superfície eritrocitária e podem ser reconhecidos por autoanticorpos da classe IgG, que promovem a sua remoção da circulação sanguínea.

Dentre as alterações mais conhecidas da forma (poiquilocitose), estão a esferocitose e a estomatocitose (fig. 3), que são alterações causadas pela interação da anquirina e da banda 3 com o complexo proteico Rh; por causa dessa interação, indivíduos com fenótipo nulo podem ter uma síndrome caracterizada por anemia hemolítica crônica, de intensidade variável, cujo resultado é o aumento da fragilidade osmótica e anormalidades na morfologia dos eritrócitos.

Na acantocitose, a ausência da proteína Xk, chamada de fenótipo McLeod, é caracterizada pela associação de acantocitose, distrofia muscular e cardiopatia. Nos eritrócitos, a proteína Xk está ligada à glicoproteína Kell por uma ponte de dissulfeto, formando um complexo que afeta suas expressões reciprocamente.

2. Imunologia

2.1 Antígenos

Convencionou-se denominar antígeno a qualquer substância solúvel, celular ou particulada, que pode ser especificamente ligada aos anticorpos ou receptores de células T (TCR, do inglês *T cell receptor*) previamente sensibilizados. Existem dois tipos de antígenos: a) o antígeno completo, que reúne propriedades imunogênicas e antigênicas, ou seja, a capacidade de induzir resposta imune específica (fala-se então de imunógeno e imunogenicidade), bem como a competência para interagir com anticorpos e receptores de linfócitos sensibilizados (antigenicidade); b) o antígeno incompleto, ou hapteno, dotado apenas de antigenicidade, que é a capacidade de interagir com os anticorpos e TCRs que lhe correspondem, mas não é capaz de estimular uma resposta imunológica.

Os sítios de ligação dos anticorpos e dos receptores de antígeno de células T interagem com o determinante antigênico ou epítopo, a menor área da molécula de antígeno, responsável pela ligação ao TCR ou ao anticorpo. A presença de vários determinantes iguais é chamada de polivalência ou multivalência, e cada um pode interagir com a região variável das moléculas de TCR. As superfícies celulares, incluindo os eritrócitos, geralmente possuem grande quantidade de antígenos que reúnem vários determinantes antigênicos. Os determinantes antigênicos de proteínas, glicoproteínas ou lipoproteínas tanto podem ser formados pela sequência de aminoácidos (determinantes sequenciais) quanto por aminoácidos adjacentes (determinantes não sequenciais), não ligados por ligações peptídicas, que se encontram próximos por causa da preservação da estrutura da molécula.

A estimulação de linfócitos de uma espécie animal com proteína de outro animal da mesma espécie resulta em uma resposta imune muito baixa, frequentemente indetectável. Por sua vez, se essas proteínas forem inoculadas em animal de outra espécie, tendem a desencadear reações imunitárias bastante elevadas. Isso acontece porque quanto mais próxima for a relação filogenética, menor será o estímulo e vice-versa. Embora esse atributo da relação filogenética reflita boa parte das aplicações imunológicas, não pode ser tomado como regra. A rejeição de transplantes e a reação por incompatibilidade em transfusões de sangue são causadas por uma resposta imune potente aos antígenos que compõem o complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) e às células do tecido transplantado, bem como pelas diferenças nos antígenos do grupo sanguíneo do doador. Essas diferenças são ditas alogênicas, e a resposta imune que esses antígenos induzem é chamada alorreção. Antígenos como as moléculas correspondentes ao MHC e ao grupo sanguíneo, que variam entre membros de uma mesma espécie, são denominados aloantígenos.

Para a maioria dos antígenos proteicos, quanto maior for a molécula, maior será o número de epítopos e quanto maior a complexidade, maior será a imunogenicidade. Um antígeno complexo contém vários determinantes antigênicos; os determinantes mais eficientes na indução da resposta imune são chamados imunodominantes.

A imunogenicidade e a antigenicidade de uma proteína não dependem apenas de sua estrutura primária (isto é, da sequência de aminoácido), mas também das estruturas secundárias, terciárias e até quaternárias. A configuração espacial e a acessibilidade de diversos epítopos em uma única molécula de proteína permitem a ligação do anticorpo de várias formas, desde que esse sítio de ligação esteja acessível na superfície da molécula-alvo da resposta imunitária.

As reações dos anticorpos são mais intensas ao interagirem com antígenos homólogos (antígenos específicos que induziram a formação desses anticorpos), quando comparadas às reações ante os antígenos heterólogos (reações cruzadas), em virtude da similaridade entre os determinantes antigênicos de antígenos diferentes.

2.1.1 Antígenos eritrocitários

Os antígenos presentes nos eritrócitos e nas plaquetas desempenham papel preponderante na prática transfusional, pela sua capacidade de induzir resposta imunitária. A utilização de sangue seja com a intenção de salvar vidas, seja com propósito vitalizante e rejuvenescedor, como praticado por antigas civilizações – egípcia, grega, romana –, invariavelmente era malsucedida, pois não se conhecia o sistema da circulação sanguínea, o sangue nem sempre era administrado por via endovenosa e frequentemente se utilizava sangue de outras espécies animais.

A demonstração por William Harvey (1578-1657) da circulação contínua do sangue através do sistema vascular contribuiu para a administração intravenosa de medicamentos e possibilitou a realização das primeiras transfusões sanguíneas entre animais, de modo que já no século XVII se injetavam substâncias no interior da corrente sanguínea com alguns êxitos e muitos fracassos. Assim, era de uso corrente injetar vinho nos cães de caça para o tratamento de algumas enfermidades.

Johann Daniel Major (1634-1693) administrava medicação intravenosa mediante o uso de finos cilindros de prata. Sugeriu, como haviam feito outros autores, que era possível injetar sangue nas veias, mas não há provas de que o tenha feito em homens. No século XVII, Richard Lower (1631-1691) foi, talvez, o primeiro a realizar uma transfusão de um animal para outro – segundo Samuel Pepys (1633-1703), administrou sangue de ovelha num jovem com a intenção de mudar seu caráter. Desconhecem-se os resultados de tal experimento.

Jean-Baptiste Denis (1643-1704) é considerado o primeiro a realizar uma transfusão humana. Em 1667, administrou três frascos de sangue de carneiro a um rapaz de vida agitada, com a finalidade de suavizar seu caráter violento (torná-lo “manso como um cordeirinho”). Isso produziu no jovem grave reação que culminou na sua morte. No julgamento que se seguiu, Denis foi exonerado de toda a culpa, mas a Faculdade de Paris proibiu futuras transfusões. Dez anos mais tarde, o Parlamento as declarou ilegais. O governo italiano também proibiu as transfusões de pessoa a pessoa, mas a Real Sociedade de Londres não colocou objeção a elas.

Durante os séculos XVIII e XIX, ficou demonstrado, mediante transfusões experimentais em animais e também em homens, que o sangue

retirado de animais podia ser restituído a eles; que o sangue transportava o oxigênio; e que o sangue não coagulava se houvesse extração de seu conteúdo de fibrina, podendo ser administrado, assim, a animais. Finalmente, ficou demonstrado que as transfusões de animais para o homem eram perigosas, mas durante muitos anos as transfusões de sangue e as injeções intravenosas de diversas soluções eram às vezes acompanhadas de reações febris, interpretadas como algo inerente à natureza do processo. Assim, pouco a pouco, foram iniciadas as transfusões de homem a homem. Cientistas como Blundell, Ponfick, Landis, Arthur e Pager demonstraram os efeitos fisiológicos e químicos das transfusões, mas foram os trabalhos imunológicos de Ehrlich, Bordet e Gengou, entre outros, que permitiram a Karl Landsteiner (1868-1943) descrever a existência dos grupos sanguíneos, classificando-os, e isso possibilitou a incorporação da transfusão sanguínea na prática médica.

Em 1901, Landsteiner descreveu os tipos A, B e O das hemácias; posteriormente, Decastello e Sturli descreveram o tipo AB. Assim, uma pessoa com o antígeno A em suas células sanguíneas tem anticorpos contra o antígeno B no soro ou plasma, e o indivíduo com antígeno B tem anticorpos contra o antígeno A. O “doador universal”, termo inventado por Ruben Ottenberg em 1911, não tem antígenos em suas células, mas tem anticorpos circulantes contra A e B no plasma ou no soro. As transfusões de sangue incompatível causam reações gravíssimas, acarretando lesões renais e, por vezes, levando à morte. Porém, isso não era conhecido até 1908, quando Ottenberg começou a testar o sangue do doador e do receptor antes de cada transfusão. No entanto, ainda que não se proceda à determinação prévia de incompatibilidade como resultado da distribuição matemática dos grupos sanguíneos, as reações de incompatibilidade não ocorrem com frequência, e cerca de um terço das transfusões casuais não apresentava incompatibilidades ABO. Contudo, e apesar da preocupação de estabelecer a tipagem dos grupos sanguíneos e sua equiparação, até que métodos de comprovação dos diferentes tipos de hemácias fossem descobertos, ocasionalmente havia graves reações não explicáveis.

Hoje em dia, mais de 600 antígenos eritrocitários foram descritos, antígenos esses que, em suas diferentes combinações, obedecendo a um padrão de herança mendeliana, geram mais de 300 mil combinações fenotípicas.

2.2 Anticorpos

Os anticorpos, sintetizados por linfócitos B e plasmócitos, são glicoproteínas com função imunitária. Ao interagirem com antígenos específicos, promovem a ativação de vários mecanismos efetores: ativação da via clássica do sistema complemento, opsonização dos antígenos para fagocitose e citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC, do inglês *antibody-dependent cell mediated cytotoxicity*). Essas ações que resultam em proteção são as mesmas que resultam em reações adversas na hemoterapia, em doenças hemolíticas autoimunes, na doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) e em reações a tecidos transplantados.

As funções dos anticorpos são exercidas em sítios estruturalmente separados na molécula. A região que se liga ao antígeno varia amplamente, sendo conhecida como região variável, ou região V. A região que participa da função efetora é conhecida como região constante, ou região C, e ela se mantém preservada, embora tenha cinco formas principais especializadas na ativação de diferentes mecanismos efetores.

As moléculas de anticorpos apresentam notável diversidade por causa de um mecanismo que faz os genes expressos nas moléculas serem reunidos por rearranjos de DNA que juntam dois ou três diferentes segmentos para formar um gene de região variável. Rearranjos nucleicos subsequentes podem reunir o gene da região variável a qualquer gene da região constante, formando os diferentes isotipos: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE (ver fig. 4).

A imunoglobulina é formada estruturalmente por duas cadeias leves (L, do inglês *light*) idênticas e por duas cadeias pesadas (H, do inglês *heavy*) também idênticas (fig. 2). As cadeias leves estão ligadas às cadeias pesadas por pontes dissulfídicas. Cada uma das duas cadeias, leve e pesada, possui uma região variável e outra constante. Logo, uma imunoglobulina apresenta uma região constante (C_L) e uma região variável (V_L) na cadeia leve; as mesmas características estão presentes na cadeia pesada, que tem uma região constante (C_H) e uma região variável (V_H).

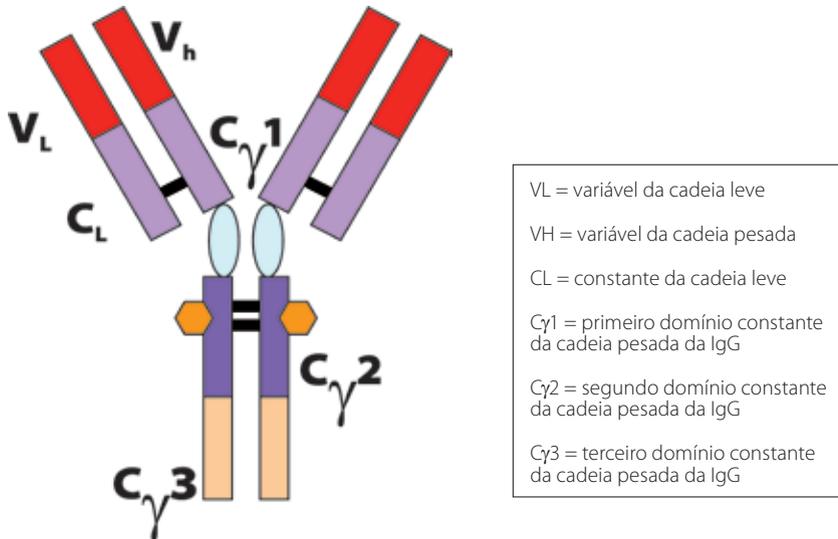


Figura 2. Estrutura básica de uma molécula de IgG.

FONTE: Reproduzido de Teva, Fernandez e Silva, 2009.

A molécula de imunoglobulina pode ser digerida por enzimas proteolíticas (fig. 3), como a papaína e a pepsina. A papaína cliva a molécula em três fragmentos: dois chamados Fab (do inglês *fragment antigen binding*), que se ligam ao antígeno específico, e um fragmento Fc (do inglês *fragment crystallizable*), chamado fragmento cristalizável por formar cristais quando armazenado em locais frios. Já a pepsina cliva na mesma região, mas na porção carboxiterminal das pontes dissulfídicas, produzindo o $(Fab)_2$, no qual os dois braços do anticorpo se encontram unidos.

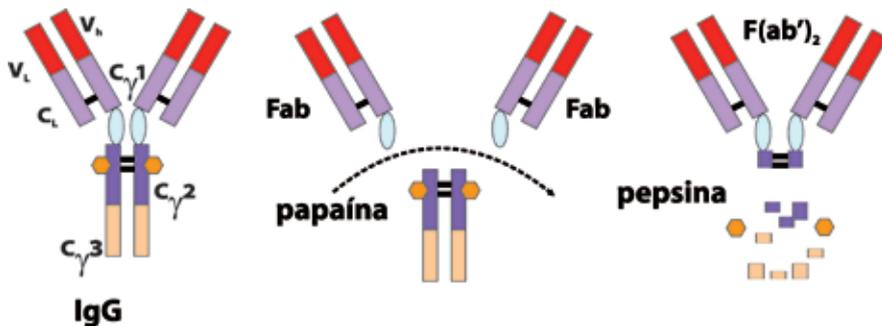


Figura 3. Fragmentos enzimáticos da molécula de imunoglobulina, após ativação enzimática.

FONTE: Reproduzido de Teva, Fernandez e Silva, 2009.

2.2.1 Geração da diversidade na resposta imune humoral e maturação da afinidade³

Para produzir uma molécula de Ig, ocorrem combinações ao acaso dos diferentes componentes gênicos, levando à enorme diversidade, com muitas moléculas de Igs, cada uma com afinidade única e especificidade acurada em resposta a um antígeno.

A imunoglobulina IgM é produzida como receptor de membrana durante as fases iniciais do linfócito B e há mudança de isotipo nessa célula quando estimulada pelo antígeno. Isso permite a manutenção da região variável específica para o antígeno correspondente, garantindo a especificidade ao antígeno correspondente, nos diferentes isotipos, e orientando as suas distintas funções efectoras.

A afinidade do anticorpo ao antígeno na resposta primária é menor do que na resposta secundária. Na resposta primária, o anticorpo da classe IgM tende a ser de afinidade relativamente baixa e pode contar com avidéz adicional, decorrente da sua estrutura pentamérica. Na resposta secundária, IgG e outras classes de imunoglobulinas tendem a ter afinidade maior.

2.2.2 Distribuição e propriedades dos isotipos

Os agentes infectoparasitários se alojam em sítios do organismo que lhes proporcionem as melhores condições de sobrevivência. Desse modo, os anticorpos também devem alcançar as várias partes do organismo a fim de controlar ou inativar tais agentes.

Os anticorpos apresentam variações denominadas isotípicas que lhes permitem, entre outras características, melhor adequação aos diferentes sítios do organismo.

Os primeiros anticorpos a serem produzidos numa resposta imune humoral são sempre da classe IgM. Eles são produzidos antes que a célula B tenha sofrido hipermutação somática; portanto, tendem a ser de baixa afinidade, como visto anteriormente. A IgM forma pentâmeros nos quais os dez sítios de ligação com o antígeno podem se unir simultaneamente a antígenos multivalentes, como os polissacarídeos de parede celular bacteriana. Essa estrutura pentamérica também

³ Parte do texto deste item foi reproduzida de Teva, Fernandez e Silva, 2009.

torna a IgM capaz de ativar o complemento de maneira mais eficaz, e isso contribui para o controle mais eficiente de uma infecção. Quanto à IgD, não se conhece muito bem a sua função, mas ela parece exercer um papel na diferenciação dos linfócitos B induzida pelo antígeno.

O principal isotipo de imunoglobulina no sangue e nos fluidos extracelulares é a IgG, com todas as suas subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). A IgG tem propriedades diversas, dentre elas, confere proteção ao feto, pois é a única classe de imunoglobulina humana que pode ser transportada através da placenta diretamente para a corrente circulatória do feto. A IgG também atua na neutralização de toxinas, na imobilização de bactérias, na sensibilização para células NK, na ativação do complemento e na opsonização. A IgA é a principal imunoglobulina presente em secreções externas, como saliva, muco, suor, suco gástrico e lágrimas. Além disso, é a principal imunoglobulina contida no colostro e no leite, e constitui a principal fonte de proteção contra patógenos no intestino do neonato.

A IgE está difundida de maneira moderada nos espaços extravasculares e sua principal propriedade é a sensibilização de mastócitos e basófilos que promove a reação inflamatória mediante a liberação de mediadores químicos, como a histamina – que provoca vasodilatação –, e permite a passagem de anticorpos através dos vasos sanguíneos em direção à área lesada e fatores quimioatraentes que recrutam fagócitos para o local de infecção. Além disso, podem participar em processos alérgicos e na eliminação de helmintos.

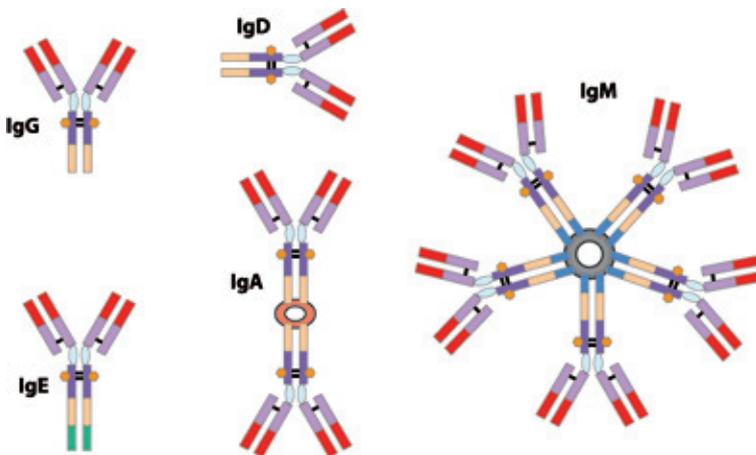


Figura 4. Isotipos de imunoglobulinas humanas.

FONTE: Reproduzido de Teva, Fernandez e Silva, 2009.

2.2.3 Anticorpos monoclonais

Em 1975, Georges Köhler e César Milstein planejaram um método para a preparação do anticorpo monoclonal (Ac Mo), por meio da fusão da célula B ativada normal produtora de anticorpo com uma célula de mieloma (uma célula plasmática cancerosa). Nesse evento, produziram uma célula híbrida (hibridoma) que possuía as propriedades de crescimento imortal da célula do mieloma de secreção de anticorpo produzido pela célula B.

Após a obtenção dos hibridomas, eles devem ser diluídos e distribuídos em placas de cultura apropriada, na concentração de 0,5 célula por poço. Tal procedimento nos dará a certeza de que o anticorpo produzido é oriundo de um único clone e, como não existe meia célula, teoricamente teremos um poço vazio e outro com apenas uma célula. Feito isso, cada hibridoma, após multiplicação e produção de anticorpo, será examinado por teste sorológico tendo em vista a identificação dos hibridomas desejados, ou seja, aqueles que sintetizam o anticorpo monoclonal que reage com o antígeno correspondente. Uma vez identificados os hibridomas, são induzidos à proliferação, e se tornam, assim, uma fonte inesgotável de anticorpos altamente específicos.

Os Ac Mo são muito úteis como reagentes para testes de diagnóstico, exames de imagem e procedimentos terapêuticos na prática médica. No diagnóstico, podem ser utilizados para detecção de gravidez, diagnóstico de diversos microrganismos patogênicos, medidas de níveis sanguíneos de várias drogas, tipagem sanguínea, tipagem de antígenos de histocompatibilidade, caracterização fenotípica de diversos tipos celulares e detecção de antígenos produzidos por determinados tumores. Por exemplo, para esse último propósito, Ac Mo radiomarcados podem ser utilizados *in vivo* na detecção ou localização de antígenos tumorais. Isso permite diagnóstico precoce de alguns tumores primários ou metastáticos em pacientes sob investigação. Na imunoterapia, o Ac Mo específico para determinado antígeno tumoral de superfície acoplado a um quimioterápico ou radioterápico pode ser potente agente terapêutico.

2.2.4 Anticorpos antieritrocitários

a) Aloanticorpos

A presença de anticorpos antieritrocitários secundários à gravidez, transfusão sanguínea ou transplante de órgãos pode comprometer

ter transfusões subsequentes e, em algumas situações, até uma futura gravidez. Esses anticorpos são chamados de aloanticorpos.

Aloanticorpo é o nome dado a qualquer anticorpo surgido em um membro de uma espécie contra um antígeno alotípico de outro membro da mesma espécie. Os aloanticorpos correspondentes aos antígenos de grupo sanguíneo podem ser divididos em duas categorias: naturais e imunes. Os anticorpos chamados de naturais existem em baixos títulos no plasma de uma pessoa normal e são o resultado de estimulação espontânea das bactérias que compõem a microbiota intestinal e que expressam moléculas com elevada homologia aos antígenos de grupo sanguíneo. Quando a criança nasce, suas hemácias contêm as moléculas grupo-específicas às quais seu sistema imune é tolerante por lhe serem próprias. No entanto, o soro do recém-nascido não contém as aglutininas, de síntese própria, para o sistema ABO. A partir do 3º ao 6º mês de idade, geralmente, podem-se detectar os aloanticorpos anti-A (em crianças B), anti-B (em crianças A) ou ambos os aloanticorpos (em crianças O), em decorrência principalmente da crescente microbiota intestinal. Nos indivíduos A e B, esses anticorpos naturais são predominantemente IgM.

Os indivíduos de grupo sanguíneo O possuem ainda outro tipo de anticorpo natural, designado anti-A,B. Anti-A,B é geralmente IgG e possui atividade sorológica não encontrada em misturas de anti-A e anti-B (de pessoas B e A, respectivamente). Assim, fazendo-se reagir o soro de indivíduos O com hemácias A e, em seguida, eluindo-se esse anticorpo das hemácias, verifica-se que o eluato reage não apenas com hemácias A, mas também com hemácias B, embora mais fracamente.

Os anticorpos anti-Lewis podem ser encontrados em indivíduos Le (a-b-), são da classe IgM geralmente e fixam complemento. Indivíduos não secretores de Lewis podem apresentar anticorpos naturais anti-Leb, enquanto os secretores podem apresentar anti-Lea.

Os anticorpos dirigidos contra as substâncias de grupo que se desenvolvem por transfusão de sangue incompatível ou por gravidez heteroespecífica (por exemplo, feto B em mãe A ou O, feto Rh+ em mãe Rh-) são designados anticorpos imunes e são predominantemente da classe IgG.

Além dos anticorpos naturais e imunes encontrados em indivíduos A, B ou O, outros soros e reagentes podem ser utilizados nas tipagens dos diferentes grupos sanguíneos.

Assim, a especificidade H pode ser reconhecida por certas lectinas (extraídas de *Ulex europeus* e *Lotus tetragonolobus*) que aglutinam hemácias contendo H e não aglutinam células de indivíduos com fenótipo de Bombaim. O soro de enguias e certos soros bovinos também podem reagir com a substância H. Lectina extraída de *Bandeiraea simplicijolia* aglutina predominantemente hemácias B e, em menor escala, AB; já a lectina de *Dolichos biflorus* aglutina hemácias A.

Os aloanticorpos do sistema Rh, ao contrário do que ocorre com os do sistema ABO, não existem de forma natural no soro. São predominantemente IgG e não fixam complemento. Esses anticorpos são encontrados em casos de imunização com antígenos do sistema Rh (em casos de transfusões incompatíveis e em múltiparas cujos fetos apresentem especificidade Rh diferente da mãe).

Hemácias podem ser fenotipadas quanto ao sistema Rh utilizando-se antissoros específicos. Assim, o soro anti-D reage somente com hemácias Rh+. O soro anti-C reage com hemácias Rh+ e Rh-, desde que apresente o antígeno C, e o soro anti-E também reage com hemácias Rh+ e Rh-.

Dois tipos de anticorpos anti-Rh podem ser obtidos por imunização: a) anticorpos que em solução salina aglutinam hemácias; e b) anticorpos designados “incompletos” e que somente aglutinam hemácias caso elas estejam diluídas em altas concentrações de albumina ou caso as hemácias tenham recebido tratamento prévio com certas enzimas proteolíticas. Os anticorpos, equivocadamente designados “incompletos”, podem ainda ser usados nas tipagens do sistema Rh, utilizando-se o teste de Coombs indireto.

Quanto aos anticorpos dirigidos para os antígenos do sistema Duffy, anti-Fya e anti-Fyb, sabe-se que o primeiro é relativamente raro e a maioria é imune ao isotipo IgG, podendo ser encontrado alguns naturais do isotipo IgM. Tanto anti-Fya quanto anti-Fyb são passíveis de causar reação transfusional e DHRN.

Os anticorpos dirigidos contra antígenos Kidd são clinicamente significantes, resultando de transfusões ou gestações; além de serem capazes de fixar complemento, constituem causa frequente de reação transfusional hemolítica tardia com hemólise intravascular e insuficiência renal aguda. Além disso, são capazes de provocar DHRN.

Os anticorpos que reagem aos antígenos do sistema MNSs (anti-M, anti-N, anti-S, anti-s e anti U) podem ser naturais ou imunes. Os natu-

rais não são encontrados em todos os indivíduos nos quais falta o antígeno correspondente, como ocorre com o sistema ABO. Os anticorpos desse sistema são encontrados raramente. O anti-M é o mais comum. A transfusão incompatível para esses anticorpos causa reações transfusionais, algumas vezes graves. Os anti-S, anti-s e anti-U são os que mais se relacionam à DHRN quando comparados aos anti-M e anti-N.

b) Autoanticorpos

A doença hemolítica nos adultos e nos recém-nascidos pode ser causada pela presença de autoanticorpos antieritrocitários. Tais anticorpos, ligados à membrana eritrocitária *in vivo*, podem ser detectados no teste direto de antiglobulina. Esses anticorpos podem ser IgM ou IgG. No que se refere à IgG, é importante determinar a sua subclasse, porque a sequestração dos eritrócitos sensibilizados depende da subclasse do anticorpo. Isto decorre das diferenças existentes na capacidade de ativar o complemento e de se ligar aos receptores Fc dos fagócitos. De modo geral, a ação hemolítica das subclasses da IgG abrange um espectro de elevado a reduzido, na seguinte ordem: IgG3>IgG1>IgG2>IgG4.

Uma das características dos autoanticorpos antieritrocitários consiste na sua natureza físico-química: em sua maioria (80 a 90%), eles reagem mais favoravelmente com seus alvos em temperaturas que giram em torno de 37°C, sendo esses anticorpos denominados autoanticorpos quentes. Os demais, chamados de autoanticorpos frios, são autoaglutininas frias, ou crioglobulinas, que reagem com seus alvos em temperaturas abaixo de 37°C, apresentando reatividade ótima entre 0°C e 5°C (quadro 1).

As anemias hemolíticas mediadas por anticorpos quentes resultam da presença de IgG que revestem os eritrócitos circulantes, em geral dirigidos contra os antígenos Rhesus. Esses eritrócitos opsonizados são sequestrados no baço e, em certos casos, no fígado por macrófagos residentes nesses órgãos.

As autoaglutininas frias são anticorpos da classe IgM, dirigidos contra a membrana das hemácias. Ocorrem na população normal, porém nunca em títulos superiores a 1/32. Interferem na tipagem sanguínea, na prova cruzada, em análises hematológicas e em reações imunológicas. A anemia hemolítica por anticorpos frios pode ser crônica, caso em que ocorre com mais frequência como doença primária.

ria. Pode manifestar-se também como uma complicação transitória e autolimitada de infecção por determinados agentes. Altos títulos surgem em infecções pelo *Mycoplasma pneumoniae*, influenza, vírus Epstein-Barr, bem como em doenças do colágeno, linfomas e, ocasionalmente, na cirrose.

Quadro 1. Principais causas das anemias hemolíticas autoimunes.

Tipo "quente"	Tipo "frio"
Primária ou idiopática	Primária ou idiopática
Secundária:	Secundária:
. lúpus eritematoso sistêmico e outros distúrbios do tecido conjuntivo	. pneumonia por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
. outras doenças autoimunes, por exemplo, hepatite autoimune	mononucleose infecciosa
. leucemia linfocítica crônica	. leucemia linfocítica crônica
. linfoma não Hodgkin	linfoma maligno
. teratoma de ovário	. colite ulcerativa
. fármacos (metildopa, fludarabina)	. hemoglobinúria paroxística ao frio: doença rara que pode ser primária ou estar associada a infecções

2.3 Complexo principal de histocompatibilidade

Todo organismo multicelular possui algum sistema de defesa que identifica os agentes infecciosos e parasitários e elimina-os do hospedeiro. Os grandes vertebrados têm um sistema imune mais evoluído que lhes permite discriminar o que é estranho do que não é estranho e ter uma resposta seletiva. A vantagem de tal imunidade específica é a rápida adaptação do sistema imune aos agentes patogênicos mais frequentemente encontrados no meio ambiente local. Essa capacidade resulta do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*), cujos produtos desempenham um papel no reconhecimento intercelular e na discriminação entre o próprio e o não próprio. A

identificação das moléculas do MHC ocorreu após investigação da sua função na resposta imunológica aos tumores, na rejeição de transplantes de pele e no controle da resposta imune.

2.3.1 Estrutura das moléculas do MHC

Os genes que codificam as moléculas do MHC estão localizados no cromossomo 6 humano e no cromossoma 17 em camundongos, e são denominados, respectivamente, antígenos leucocitários humanos (HLA, do inglês *human leukocyte antigens*) e de histocompatibilidade (H-2). O MHC pode ser dividido em quatro subconjuntos de genes ou classes: classes I, II, III e IV, sendo que os de classe I e II estão ligados ao processamento e à apresentação de antígenos, enquanto os genes que compõem as classes III e IV codificam para outras proteínas, algumas delas relacionadas com a resposta imune, tais como componentes do sistema complemento, algumas citocinas etc. Em humanos, existem três *loci* gênicos que codificam as moléculas de classe I, denominados HLA-A, HLA-B e HLA-C, e três *loci* gênicos do MHC de classe II, denominados HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR. Normalmente, um indivíduo herda duas cópias de cada *locus* gênico (uma de cada progenitor). Assim, em humanos, temos seis *loci* de classe I e seis *loci* de classe II. Todos esses *loci* apresentam alto grau de polimorfismo, ou seja, têm múltiplos alelos na população. As moléculas do MHC de classe I, que estão presentes na maioria das células nucleadas, são reconhecidas principalmente pelo TCR de linfócitos T CD8, ao passo que as moléculas de classe II, presentes principalmente na superfície das células apresentadoras de antígenos profissionais, são reconhecidas pelo TCR dos linfócitos T CD4.

a) MHC de classe I

As moléculas do MHC de classe I são expressas na membrana celular da maioria das células nucleadas dos vertebrados. Sua estrutura é constituída por uma cadeia α de aproximadamente 45 kDa, que atravessa a membrana plasmática. A outra é a β 2-microglobulina de 12 kDa, que se encontra fracamente ligada à membrana. Os genes que codificam a cadeia α (variável) estão localizados dentro da

região genômica do MHC, enquanto os genes que codificam a β 2-microglobulina (invariável) estão localizados fora da região do MHC no cromossomo 15 humano. A cadeia α é formada por três segmentos: α 1, α 2 e α 3. A região em que o peptídeo se liga corresponde à região amino-terminal e é composta pelos segmentos α 1 e α 2, que formam uma fenda ou bolsa onde ele se encaixa. O tamanho dessa fenda permite ligar peptídeos de 8 a 11 aminoácidos e corresponde à região do MHC de classe I que interage com o TCR do linfócito T. Por essa razão, os antígenos proteicos precisam ser processados a fim de gerar peptídeos suficientemente pequenos para se ligarem à molécula do MHC. A região invariável, que corresponde ao segmento α 3, se liga ao correceptor CD8 do linfócito T. Essa ligação confere a especificidade da molécula de classe I com a célula T CD8. O domínio α 3 também se liga de forma não covalente à molécula β 2-microglobulina, sendo esse complexo estabilizado pelo peptídeo processado que se liga aos domínios α 1 e α 2. A molécula de MHC de classe I é expressa na superfície das células somente nessa forma estável.

b) MHC de classe II

As moléculas do MHC de classe II também são expressas na membrana celular, mas na superfície de células apresentadoras de antígenos profissionais. Essas células incluem as células dendríticas, os macrófagos e os linfócitos B. A molécula de classe II é formada por uma cadeia α e uma β . A cadeia α tem 32-34 kDa; a cadeia β tem 29-32 kDa. As duas cadeias do MHC de classe II são codificadas dentro da região genômica do MHC e ambas são polimórficas, ou seja, são variáveis. As cadeias α e β na porção extracelular possuem domínios α 1 e α 2 e β 1 e β 2; a porção variável das duas cadeias são os segmentos α 1 e β 1. Os domínios α 1 e β 1 interagem para formar a fenda de ligação ao peptídeo, que estruturalmente é bastante similar à molécula do MHC de classe I. Nessa fenda ou bolsa, encaixa-se o peptídeo a ser apresentado à célula T. Assim, como seria de se esperar, essa também é a região da molécula do MHC de classe II que apresenta maior variabilidade. Na molécula de classe II, as extremidades da fenda de ligação do peptídeo são abertas; isso permite a ligação de peptídeos com 10 a 30 aminoácidos, mas pode ocorrer ligação de peptídeos maiores, o que não acontece com a molécula de classe I, que tem as extremidades fechadas.

2.3.2 Complicações hemotransfusionais relacionadas ao HLA

Várias complicações decorrentes das transfusões de produtos hemoterápicos estão associadas à incompatibilidade entre o HLA do doador e o do receptor. Múltiplas transfusões podem levar à sensibilização dos pacientes, que passam a desenvolver aloanticorpos contra antígenos de superfície das células alogênicas, principalmente contra antígenos correspondentes ao HLA. Desse processo podem advir graves complicações com importante significado clínico, como refratariedade plaquetária em pacientes trombocitopênicos, reação febril não hemolítica, insuficiência pulmonar aguda relacionada à transfusão (TRALI, do inglês *transfusion related acute lung injury*) e o potencial para desenvolvimento da doença do enxerto *versus* hospedeiro, associada à transfusão (DEVH-AT), em pacientes imunodeprimidos.

A aloimunização pode ocorrer tanto pelos antígenos HLA classe I, presentes na superfície das plaquetas e leucócitos, quanto pelos antígenos HLA classe II, presentes na superfície de alguns leucócitos.

Uma das grandes preocupações da hemoterapia é minimizar ou evitar essa sensibilização. Alguns dos procedimentos indicados pela medicina transfusional foram apresentados com o propósito de diminuir a alossensibilização e garantir maior segurança para os pacientes politransfundidos. Dentre esses procedimentos, a aférese realizada em grandes centros hemoterápicos é, quando possível, a mais indicada, porém os métodos mais acessíveis incluem a filtração e a radiação.

2.4 Aspectos gerais do sistema complemento

O sistema complemento compreende um grupo de mais de quarenta proteínas presentes no plasma e encontradas na forma de pré-enzimas (zimogênios) as quais, ao reagirem sequencialmente, formam enzimas que, por sua vez, clivam outras pré-enzimas. Essas outras pré-enzimas se combinam e formam novas enzimas, em uma reação em cascata que culmina na lise celular.

Existem três mecanismos de ativação do sistema complemento: pelas vias clássica, alternativa e das lectinas. Em cada uma dessas vias, observamos uma sequência peculiar de proteínas, ou seja, apesar dos objetivos das três vias serem os mesmos (os de promover a lise), o início da formação das cascatas é constituído por uma sequência diferente de pro-

teínas. Além disso, para a ativação do sistema complemento pela via clássica, é necessária a presença do anticorpo ligado a um antígeno específico. Já nas outras duas vias, a ativação se dá apenas com a presença do antígeno. Por isso, as vias alternativa e das lectinas são mecanismos imunológicos mais simples e inerentes à imunidade inata.

As proteínas do sistema complemento são designadas pela letra C seguida de números – por exemplo, C3 – ou de letras e números, no caso de a proteína ter sofrido clivagem, por exemplo, C3b. O C3, que é clivado em condições fisiológicas gerando o subproduto C3b ou uma molécula similar – o C3i –, é o componente mais abundante do sistema complemento. As reações enzimáticas que ocorrem durante o processo de ativação desse sistema requerem a presença de alguns íons, como os de magnésio. A interação desses íons com determinadas proteínas do sistema propicia a formação de outras moléculas que apresentam atividade enzimática sobre algum substrato. Como exemplo dessa situação, temos a interação do componente C3 com o fator B, uma proteína presente no plasma. Essa interação é mediada pelo magnésio, e a formação desse complexo favorece a exposição, na proteína B, de um sítio que é reconhecido e clivado por outra proteína presente no sangue, o fator D. O produto final de toda essa reação é o complexo $\overline{C3bBb}$, que é a enzima C3 convertase. A representação desse complexo com um traço em cima caracteriza a sua atividade enzimática específica sobre o componente C3. Já as letras minúsculas, como o b, representam o subproduto, resultado da clivagem dos componentes C3 e B.

O excesso de enzimas C3 convertases aderidas aos carboidratos presentes na superfície dos microrganismos favorece a clivagem de moléculas C3, gerando os subprodutos C3b necessários à formação da enzima C3 convertase. Além disso, a deposição de C3b a C3 convertase gera outra enzima, chamada C5 convertase, cuja função é clivar o componente C5, gerando dois fragmentos: C5a e C5b. Esse último fragmento mantém-se ligado ao C3b de forma fraca. Subsequentemente, ocorre a ligação de C6 e C7 ao C5b. Finalmente, a ligação do C8 à membrana do microrganismo leva o C9 a sofrer alteração conformacional, transformando-se em uma molécula anfipática capaz de se inserir na bicamada lipídica e promover a polimerização em um complexo de ataque à membrana denominado MAC (do inglês *membrane attack*

complex). O canal transmembranar formado é permeável à água e a eletrólitos e, por causa da grande pressão osmótica coloidal no interior da célula, ocorre um influxo de Na^+ e água, acarretando a lise celular.

A via clássica do sistema complemento, como mencionado, requer a presença do anticorpo ligado ao antígeno a fim de que a formação da cascata ocorra. Nessa fase inicial, o primeiro componente, chamado C1q, assemelha-se ao colágeno e consiste de seis cadeias polipeptídicas cada uma das quais possui uma subunidade de ligação ao anticorpo. Essa ligação de C1q à imunoglobulina ocorre no domínio constante 2 da cadeia pesada ($\text{C}_{\text{H}2}$), localizado na porção Fc da molécula. A região $\text{C}_{\text{H}2}$ da molécula é rica em prolina, e essa composição de aminoácidos faz que a molécula tenha flexibilidade naquele local, permitindo a exposição do sítio de ligação com o componente C1q. Porém, a mudança conformacional da molécula na região $\text{C}_{\text{H}2}$, que permite a ligação de C1q, só é possível pelo fato de a imunoglobulina estar ligada ao antígeno por intermédio de sua porção Fab.

Após a ligação de C1q à imunoglobulina, as outras duas subunidades do componente C1, C1r e C1s, assumem o sítio enzimático da enzima formada, a qual age em dois substratos: C4 e C2. Ambos os componentes são clivados em uma região, originando dois fragmentos: a e b. Após C4b ligar-se de forma covalente às hidroxilas e aminas existentes nas membranas dos microrganismos, o C2b liga-se ao C4b, de forma fraca, ligação essa dependente do cálcio. O produto dessa reação é a molécula C4b2a, enzima responsável por clivar o componente C3, gerando C3a e C3b. Esse último, por conter o radical tioéster, liga-se aos radicais amina e hidroxila da membrana. Diferentemente da via alternativa, nessa via a enzima C5 convertase é formada pelo C4bC2bC3b. A partir do MAC, ou seja C5bC6C7C8C9, a cascata apresenta a mesma sequência nas duas vias.

2.5 Aspectos gerais das reações de hipersensibilidade

As reações de hipersensibilidade foram descritas a partir da observação de que alguns indivíduos, após terem contato repetido com o mesmo antígeno, desencadeavam respostas imunológicas exacerbadas, contrariamente ao que se sabia acerca da memória imunológica, ou

seja, de que o indivíduo, ao entrar em contato pela segunda vez com o mesmo antígeno, em geral não apresenta nenhum sinal ou sintoma. De acordo com Coombs e Gell (1968), foram definidos quatro tipos de reação de hipersensibilidade: tipos I, II, III e IV. Exceto a reação de tipo IV, que é uma reação mediada por células e considerada tardia, as outras três reações são mediadas por anticorpos. No caso do tipo I, também conhecida como anafilática ou imediata, os anticorpos são da classe IgE; já as reações dos tipos II e III são mediadas por IgG e IgM. A ocorrência da reação de hipersensibilidade tipo I está associada à participação de mastócitos e basófilos, assim como de seus mediadores químicos, entre eles a histamina.

A diferença básica entre as reações de hipersensibilidade tipos II e III é a localização do antígeno. Na reação tipo II, o antígeno, que se localiza na superfície da célula, induz à formação de anticorpos naquele local, inclusive com a subsequente ativação do sistema complemento pela via clássica, levando à lise de toda a estrutura inserida naquele contexto. Já na reação tipo III, conhecida também como reação por imunocomplexo, o antígeno se encontra ligado a um anticorpo, formando um imunocomplexo livre e circulante. A deposição desses imunocomplexos em superfícies celulares, como as regiões das articulações e vasculares, pode levar, respectivamente, à artrite e à vasculite. Por causa da presença do imunocomplexo ligado aos tecidos, ocorre a ativação do sistema complemento pela via clássica, com consequente lise de toda aquela estrutura.

2.5.1 Reações transfusionais e hipersensibilidade tipo II

As hemácias dos seres humanos apresentam várias moléculas diferentes em sua superfície, muitas das quais estão envolvidas na caracterização dos grupos sanguíneos, como o grupo ABO e o fator Rh, dentre outros. A presença de um ou outro antígeno na superfície das hemácias – por exemplo, do grupo A – leva à formação, no organismo, de anticorpos, principalmente da classe IgM. Esses anticorpos são gerados como resultado de contatos prévios com antígenos de microrganismos presentes na flora intestinal, que apresentam similaridade estrutural com os carboidratos dos grupos sanguíneos e, portanto, ocasionam reatividade imunológica cruzada, que são os graves problemas decorrentes das transfusões sanguíneas incompatíveis.

2.5.2 Anemia hemolítica e hipersensibilidade tipo II

Nas reações de hipersensibilidade tipo II, evidenciamos o direcionamento de anticorpos a antígenos ligados às células ou tecidos do próprio indivíduo. Tais antígenos tornaram-se moléculas estranhas ao sistema imune pelo fato de terem sido alteradas de alguma forma – por exemplo, pela ligação com alguma droga ou antígenos microbianos. Caso a reação imunológica mencionada ocorra na hemácia, chamamos essa reação de anemia hemolítica. A agregação dos anticorpos aos antígenos eritrocitários reduz muito a vida média da célula, pois facilita o reconhecimento pelos fagócitos e, conseqüentemente, o seu transporte para o baço. Além da ação de células fagocíticas, pode ocorrer a ação do sistema complemento pela via clássica, levando à lise celular e, portanto, à anemia hemolítica, em se tratando de hemácias.

2.6 Aspectos gerais das reações autoimunes

As reações autoimunes são decorrentes da ação do sistema imunológico sobre estruturas próprias, ou seja, antígenos autólogos, causando danos teciduais. De modo geral, as reações autoimunes ocorrem pela participação de linfócitos autorreativos, células que escaparam da seleção negativa nos órgãos linfoides primários e secundários e que são capazes de reconhecer os antígenos endógenos, tornando efetiva a resposta imunológica. A seleção negativa que ocorre nos órgãos linfoides impede a maturação de linfócitos específicos aos autoantígenos, mecanismo conhecido como autotolerância imunológica. Por meio de mecanismos de anergia clonal, apoptose e supressão, é possível manter a autotolerância imunológica e, portanto, evitar processos autoimunes mediados pelos linfócitos autorreativos.

Os processos autoimunes são multifatoriais. Eles incluem aspectos genéticos – hormônio sexual feminino, HLA, repertório de linfócitos – e externos – processos infecciosos e inflamatórios. No caso dos processos infecciosos, pode-se observar o mimetismo molecular, que consiste na reatividade cruzada da célula imunológica com os epítomos dos antígenos, presente tanto no agente infeccioso (exógeno) quanto nos antígenos próprios (endógenos). Já nos processos inflamatórios decorrentes de alterações anatômicas, ocorre a exposição de sítios localizados em estruturas próprias que não haviam sido expostas antes ao sistema imunológico –

sendo passíveis, portanto, de resposta imune.

Os processos autoimunes podem ser classificados como fisiológicos e patológicos, e o potencial para a ocorrência desses processos é onipresente, pois reflete a diversidade dos receptores das células T e B. Em algumas situações esses processos são fisiológicos – por exemplo, a destruição de hemácias velhas (hemocaterese) que perderam a sua maleabilidade e, conseqüentemente, a função de transporte de gases respiratórios. Nesse caso, a retirada dessas células da circulação é um processo benéfico para o organismo, pois permite a renovação celular na circulação sanguínea.

A autoimunidade patológica é rara (em torno de 5%) e é resultante de complexas interações genéticas e de fatores do meio ambiente. O espectro das doenças autoimunes vai desde doenças órgão específicas – caso da anemia hemolítica autoimune –, órgão inespecíficas e as que incluem esses dois grupos.

2.6.1 Aspectos imunológicos da anemia autoimune

A anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma doença pouco frequente, que ocorre na sua forma mais branda como anemia normocrômica compensada, mas pode se apresentar como doença hemolítica de grande gravidade, inclusive potencialmente fatal. Essa doença pode ser uma condição primária ou mesmo secundária a várias doenças inflamatórias, autoimunes ou infecciosas.

O processo de destruição dos eritrócitos, conhecido como hemólise, é caracterizado por uma reação imunológica direcionada a antígenos presentes na superfície dessas células. Nessa reação, predominam os autoanticorpos eritrocitários quentes, os quais são eficazes em temperaturas em torno de 37°C. Contudo, não se pode descartar a ocorrência da reação mediada pelos anticorpos conhecidos como frios, por agirem melhor em temperaturas abaixo de 37°C.

Em geral, os autoanticorpos quentes, as IgG, são direcionados para os antígenos do fator Rh presentes na superfície dos eritrócitos. Em decorrência desse processo, a ativação da via clássica do sistema complemento é deflagrada. Como resultado dessa reação, são evidenciados vários achados clínicos e laboratoriais – maior produção celular e diminuição de sua vida média, dentre outros.

Referências bibliográficas

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. *Imunologia celular e molecular*. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.

COOMBS, R. R. A.; GELL, G. H. *Clinical Aspects of Immunology*. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1968.

LYONS, A.; PETRUCCELLI, J. *História da medicina*. São Paulo: Manole, 1997.

PEREIRA, I. B.; CARDOSO, M. V. G. (org.). *Textos de apoio em hemoterapia*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2000. V. 1.

ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. *Imunologia*. 6. ed. São Paulo: Manole, 2003.

SILVA, W. D.; MOTA, I. *Bier: imunologia básica e aplicada*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

TERR, A. I. et al. *Imunologia médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

TEVA, A.; FERNANDEZ, J. C. C.; SILVA, V. L. *Imunologia*. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 4*. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio–Instituto Oswaldo Cruz, 2009. p. 19-124.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. *Hematologia: fundamentos e prática*. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.