



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

①

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

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 228662

12) As células do sistema imunológico são capazes de regular seu metabolismo de acordo com os mais diversos estímulos, sejam eles devidos a alterações no microambiente, como variações na disponibilidade de nutrientes, como glicose e glutamino e piruvato, ou alterações patológicas que vão desencadear a mudança do fenótipo da célula, tornando-a pró-inflamatória ou anti-inflamatória. Esse imunometabolismo é um dos principais temas da atualidade e vem sendo frequentemente abordado em vários trabalhos. As células imunológicas não ativadas geralmente apresentam um metabolismo mais próximo do considerado normal, com glicólise, ciclo do ácido cítrico (TCA) e fosforilação oxidativa (OXPHOS). Durante as alterações patológicas essas células podem modular seu perfil de produção de citocinas baseada nas alterações do metabolismo. Células pró-inflamatórias são capazes de aumentar a produção de IL-1 β e TNF α devido a uma alteração no metabolismo celular, que apresenta um aumento na via glicolítica com

UFRJ

maior produção de lactato. Esse desvio no metabolismo das células ~~devido~~ pró-inflamatórias tem como principal objetivo ~~o~~ aumentar a produção de intermediários da glicólise e desviar essa via para a ~~produção~~ via dos pentose fosfato que induz uma maior produção de NADPH, que será importante para gerar a resposta pró-inflamatória. Essa preferência que as células pró-inflamatórias tem de utilizar a glicose para gerar piruvato e então lactato ao invés de convertê-lo em acetil-CoA é algo bem comum que acontece em células tumorais e em células proliferativas, que é o efeito Warburg, onde as células tem, mesmo na presença do oxigênio, preferência por realizar a glicólise anaeróbica, gerando baixas quantidades de ATP comparado a OXPHOS, porém essas células geram também diversos intermediários da glicólise que são capazes de participar da resposta pró-inflamatória, como a Hexoquinase que além de fosforilar a glicose em glicose-6-fosfato é capaz de induzir o aumento na transcrição de IL-1 β , assim como a enzima GAPDH que quando é recrutado para a via glicolítica se dissocia do sítio de repressão do IKK γ permitindo que ele seja transcrito. Esses efeitos não canônicos dessas ~~proteínas~~ proteínas se dá o nome de proteínas moonlight. Esse aumento na produção de lactato pode ser utilizado no fígado, através do ciclo de Cori, para gerar glicose que pode ser armazenado em glicogênio hepático ou ser disponibilizado para outras células do organismo

Wu

Alguns processos infecciosos como na sepsis, pode ocorrer a diminuição das reservas de glicogênio no fígado de camundongos. É importante ressaltar que por mais que os células imunes pró-inflamatórias tenham preferência por fazer a via glicolítica, ~~as~~ elas ainda fazem o TCA e OXPHOS. Nessas células o TCA apresenta 2 pontos de quebra do ciclo. O primeiro ponto é com o acúmulo de citrato, o que ~~desce~~ estimula a síntese de ácidos graxos e a produção de itaconato. É o segundo ponto de quebra e ~~o qual~~ acontece com a inibição da succinato desidrogenase, levando ao acúmulo de succinato, que é capaz de ser exportado da célula e funcionar como uma dormina. Esse acúmulo de citrato é utilizado como fonte para a formação de ácidos graxos^(AG) pela síntese de ácidos graxos (FAS) que utiliza o acetil-CoA do citrato para formar os AG e formar uma molécula de 16 carbonos (16C) chamada de palmitato, que pode ser utilizada como substrato para gerar energia, pode ser estocada em corpúsculos lipídicos (CL) ou ainda ser utilizada para gerar modificações ~~de~~ pós-transacionais, chamada palmitilação. Alguns componentes inflamatórios como o NLRP3 são palmitilados no RE e são então dimerizados e ligados a sua proteína adaptadora ASC. Alguns fatores de transcrição de metabolismo lipídico como os SREBPs já foram descritos como importantes para a ativação do inflamossomo NLRP3. Nesse ~~contexto~~ contexto, ao ser ativado o SREBP se dissocia da proteína

Mu

insig e scap do RE para o golgi onde será dividido, nesse processo ele carrega com si o NLRP3 polimitilado para fora do RE. No golgi eles são separados e os SREBP migra para o núcleo, ~~isso~~ levando a transcrição gênica e FAS, DGAT1, ACAT entre outros genes do metabolismo lipídico. Por sua vez o NLRP3 fica livre para se dimerizar e formar o complexo inflamossoma. (4)

Além do citrato ser usado pela FAS para sintetizar lipídios, o citrato também pode ser usado para gerar uma molécula com caráter anti-inflamatório e bactericida que é o itaconato. Essa molécula é capaz de regular o acúmulo de succinato reduzindo a atividade pró-inflamatória dos células imunes. Vários estudos apontam o itaconato como uma molécula capaz de regular a resposta pró-inflamatória e eliminar patógenos, reduzindo a carga bacteriana. O acúmulo do succinato pela inibição da succinato desidrogenase (complexo 2 da cadeia respiratória) provoca um vazamento no fluxo de elétrons (e^-) que é capaz de gerar um dano mitocondrial com aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), que acarreta no aumento da resposta pró-inflamatória.

O metabolismo de lipídios se encontra aumentado nas células pró-inflamatórias com aumento dos enzimas FAS, ACAT e DGAT e isso se correlaciona com a ativação do inflamossoma NLRP3. Além desses enzimas, os lipídios que são armazenados nos CL podem ser utilizados em diferentes momentos e

dependendo do patógeno no qual está em contato. (5)

Alguns bactérias são capazes de usar os CL como fonte de energia e escape do sistema imune, como a salmonela. Alguns vírus como o dengue, o Zika, e os coronavírus e o HCV usam os CL como uma plataforma de montagem e replicação viral.

~~Muito comum~~ Isso acaba dificultando a identificação e a eliminação desses patógenos pelo sistema imune.

Apesar disso ~~as~~ células também são capazes de gerar mediadores lipídicos como a PGE₂ através da COX-2 que atua induzindo o aumento da resposta pró-inflamatória, o que por muitas vezes atua recrutando mais células e combatendo as infecções. Além dos mediadores lipídicos produzidos nos CL, essas CL no momento de sua formação podem carrear diversas proteínas com atividade microbicida, como as pentosinas e as catelicidinas que serão armazenados nos CL como uma forma de defesa celular. Quando os patógenos forem utilizar os lipídeos como fonte de energia ou como escape do sistema imune essas proteínas vão ser ~~utilizadas~~ usadas para causar a lise do patógeno.

A células pró-inflamatórias vão utilizar o metabolismo de aminoácidos de maneira a aumentar sua resposta pró-inflamatória durante uma patologia.

A arginina será utilizada pela NOS para produção de óxido nítrico (NO) que vai atuar como um bactericida e potente vaso dilatador, aumentando a resposta inflamatória. Além da arginina, a glutamina também é amplamente utilizado para induzir o aumento da resposta pró-inflamatória.

levando a um acúmulo de ROS, que também será danoso para diferentes patógenos. ②

O metabolismo de células anti-inflamatórias tem efeitos antagônicos aos citados anteriormente. Nessas células a produção de lactato é bem reduzida, com a via glicolítica acontecendo normalmente sem grandes desvios para a via dos pentose fosfatos.

O piruvato que é produzido ao final da glicólise entra no TCA, que não apresenta pontos de quebra, ou seja, não gera o acúmulo de citrato e succinato e consequentemente não induz a produção de ROS ou NO, ou ativação do inflamassoma NLRP3 com produção de IL-1 β . Nas células anti-inflamatórias a cadeia respiratória não se encontra inibida (complexos de I-IV) e não há vazamentos de e⁻. O metabolismo de lipídios nessas células é direcionado para uma via mais anabólica, com a oxidação de AG através do processo de beta-oxidação. O metabolismo de aminoácidos consiste na utilização da arginina pela arginase formando poliâminas e ureia que serão utilizadas no processo de acetificação e fibrose.

O metabolismo das células imunes começou a ser estudado principalmente em linfócitos Th1 (pró-inflamatórias) e Th2 (anti-inflamatórias) e logo os estudos se expandiram para os macrófagos e depois outras células imunes, como células dendríticas, linfócitos B e neutrófilos. Os macrófagos foram separados em M1 (pró-inflamatórias) e M2 (anti-inflamatórias), assim como os linfócitos T. Porém com o avanço do imunometabolismo novas ~~as~~ nomenclaturas foram surgindo para identificar os diferentes subtipos

Uuu

de macrófagos (M1, M2a, M2b, M2c, Mreg, ...). Atualmente os macrófagos são nomeados de acordo com o estímulo ao qual são desafiados (MLPs ou M1L-4, por exemplo). Isso facilita o estudo do imuno metabolismo nessas células.

Outras células imunes apresentam um metabolismo mais próximo dos linfócitos Th1, ~~por~~ quando ativadas, ou seja, com aumento da glicólise, síntese de AG, quebras no TCA e produção de ROS. Isso geralmente está mais associado a células efetoras da resposta imune, como neutrófilos, alguns tipos de células dendríticas e linfócitos B. Por outro lado, células de memória ~~essas~~ geralmente estão associadas com uma resposta Th2, ou anti-inflamatória, com uma glicólise normal, sem quebras no TCA e realizando a cadeia transportadora de elétrons e fazendo a oxidação de ácidos graxos.

Durante as respostas imunes metabólicas, as células possuem alguns sensores metabólicos que vão permitir a célula sentir e alterar o seu próprio metabolismo.

Os principais são o mTOR, o AMPK e o HIF. O mTOR é o principal sensor de nutrientes celulares, em condições de grande aporte de nutrientes (aminoácidos e glicose), ocorre ativação de mTOR via fosforilação por PI3K e AKT. Essa ativação do mTOR permite a síntese de proteínas, sobrevivência celular e síntese de lipídeos. As principais proteínas reguladas pelo mTOR são os SREBPs, FAS, HIF1 α , PTOS6K e 4EBP1. Por outro lado o AMPK possui um efeito antagônico ao mTOR. Em momentos de grande disponibilidade energética, o AMPK promove a desfosforilação de mTOR

Um

com repressão dos genes que eram ativados por ele.

O AMPK promove então a ativação de vias autofágicas pela síntese de Ukt, levando a degradação (autofagia) de organelas e lubres. O mTOR é responsável por promover a ativação de vias catabólicas, enquanto o AMPK é responsável por ativar vias anabólicas.

Além dos sensores nutricionais, as células possuem outros sensores metabólicos como o HIF1 α , que é um sensor ~~de~~ de hipóxia. O HIF1 α é constitutivamente produzido nas células, porém na presença de oxigênio o HIF é marcado para degradação proteossomal via sistema ubiquitina - proteossomo. Durante uma redução dos níveis de oxigênio intracelular (hipóxia) o HIF1 α deixa de ser ubiquitinado e passa a ~~induzir~~ induzir o aumento ^{na transcrição} de genes pró-inflamatórios, como a IL-1 β . Esse mecanismo de regulação do HIF pode parecer estranho, mas é extremamente eficiente e garante que na ausência de oxigênio, as células possam responder rapidamente.

10) As imunodeficiências são caracterizadas como uma comprometimento do sistema imunológico, o que muitos dos vezes acontece em uma redução da resposta imunológica. Geralmente são caracterizadas por problemas genéticos, nutricionais, infecciosos, entre outros.

As imunodeficiências podem ser divididas em 2 grandes grupos. O primeiro, chamado de imunodeficiências primárias, com alterações genéticas que levam a uma menor atuação ou resposta do sistema imune, e as imunodeficiências secundárias, que são associadas a infecções virais como pelo HIV e por problemas nutricionais. As imunodeficiências primárias podem ser caracterizadas como imunodeficiências combinadas graves (SCID_g). Cerca de 50% dos SCID_g são autossômicas recessivas, enquanto que os outros 50% são relacionados ao cromossomo X. A maioria dos SCID vai acontecer em problemas na síntese ou na recombinação do DNA e também na formação dos TCR e BCR.

Deficiências na enzima ADA, leva a um acúmulo de desoxirribonucleosídeos que ~~acorre~~ interfere na ~~re~~ replicação do DNA e consequentemente na geração de linfócitos T e B que é drasticamente reduzida. Outros exemplos de SCID são as gamaglobulinopatias que vão diminuir a produção de linfócitos B e de anticorpos.

As imunodeficiências secundárias vão acontecer devido a alguns processos infecciosos, medicamentosos e tumorigênicos, não tendo uma relação direta com a genética do indivíduo. Processos infecciosos virais, como pelo vírus HTLV e HIV podem gerar imunodeficiências com consequências severas para

Me

o organismo. ~~Essas infecções~~ Essas infecções são capazes de reduzir a quantidade de linfócitos TCD4 no organismo. A dependência de alguns medicamentos, ou tratamentos tumorais (quimioterapia e radioterapia) podem afetar a formação de células imunes no medulo óssea, prejudicando as respostas imunológicas e gerando as imunodeficiências secundárias. Nesse contexto, algumas terapias celulares vem sendo sugeridos para ~~reduzir~~ diminuir as imunodeficiências, como terapias gênicas, com a edição dos genes mutados ou ausentes, tratamentos utilizando anticorpos monoclonais e a eliminação de células infectadas por vírus ou células tumorais.

15) As imunoterapias consistem na utilização de células ou de componentes humorais (anticorpos) para combater doenças, ~~em~~ ~~de~~ ~~infecções~~ ~~ou~~ ~~não~~. Atualmente existem diversos imunoterapias disponíveis no mercado, sendo as mais comuns, utilizados na clínica médica a utilização de anticorpos monoclonais e de células modificadas como as células CART.

A utilização de anticorpos monoclonais é amplamente utilizado na clínica como uma forma de reduzir altas quantidades de ~~ant~~ citocinas pró-inflamatórias circulantes, como a IL-6, que estarão presente em altas concentrações em pacientes com COVID-19. Esse tratamento também é amplamente utilizado para o ~~de~~ tratamento de alguns tumores, permitindo a restrição do sistema imune. Para isso são usados anticorpos anti-PD1 e anti-PDL1, assim como anticorpos anti-CTLA-4. Isso permite a ativação dos linfócitos e o reconhecimento tumoral pelo linfócito TCD8 ~~especial~~ ~~via~~ ~~MHC~~ ~~I~~ ~~e~~ ~~CD80/86~~ ~~e~~ ~~pela~~ ~~célula~~ ~~de~~.

Já as terapias com células CART ~~são~~ tem sido muito eficientes em ~~eliminar~~ combater certos tipos de leucemias e linfomas. Nessa terapia, as células T do indivíduo são obtidas do sangue periférico, são cultivadas e crescidas *in vitro* e é realizada uma modificação genética nessas células, permitindo que elas possam a produzir e expressar um receptor do tipo CAR. Essas células são reintrozduzidas no paciente e agora são capazes de reconhecer certos tipos de tumores, levando a sua eliminação.

UW

Alguns vírus ~~são~~ são capazes de induzir um processo de ~~de~~ tumorigênese nos células infectados, promovendo

a síntese de moléculas inibitórias ou a ausência do reconhecimento de ~~receptores~~ receptores de ativação do sistema imune, como o MHC I. Essa regulação pode atuar ~~apresentando~~ impactando nas vias de apresentação de antígenos, regulando a expressão de MHC ou de proteínas responsáveis pelo processamento antigênico. Dessa forma alguns imunoterápicos podem utilizar diferentes estratégias para reverter esse efeito e induzir um aumento na síntese e expressão dessas moléculas. A utilização desses imunoterápicos precisa ser muito bem regulada para que não haja efeitos adversos para os pacientes. A utilização de anticorpos monoclonais, caso não seja feita corretamente, pode gerar alguns efeitos adversos para o paciente, com a geração de imunocomplexos que podem agoriar ainda mais o quadro do paciente, ou ainda, pode ocorrer uma super ativação do sistema imune, com aumento de uma resposta Th1 e Th17, acarretando em uma resposta inflamatória exacerbada com alta produção de citocinas. Apesar da terapia com células CART ter um grande sucesso ~~em~~ na eliminação de linfomas e leucemias, esta também pode apresentar alguns efeitos adversos, uma vez que esses células podem levar a um aumento da resposta inflamatória com ~~consequentes danos~~ causando danos no endotélio vascular, induzindo um aumento na migração de células para a região aumentando a inflamação e o dano tecidual.

Hand