



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Metabolism and lipid mediators as regulators of innate immune cell function: implications for inflammation and immune responses

Almeida, L.

Citation

Almeida, L. (2026, June 23). *Metabolism and lipid mediators as regulators of innate immune cell function: implications for inflammation and immune responses*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4306933>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4306933>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Resumo em Português

Introdução

O sistema imune é a primeira linha de defesa contra os milhões de potenciais patógenos e outros perigos, tais como possíveis células cancerosas e alérgenos, a que os humanos estão expostos no dia-a-dia. Este sistema é uma rede complexa de várias moléculas, células, tecidos e órgãos, todos a trabalhar em conjunto, de forma altamente regulada, embora com diferentes funções e mecanismos de acção.

O sistema imune pode ser dividido em duas principais partes – o sistema imune inato e o sistema imune adaptativo. O sistema imune inato actua de uma forma rápida e ampla, com uma especificidade geral, sendo activado por padrões moleculares genericamente conservados, tais como PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos), que estão presentes em patógenos/micróbios, e DAMPs (padrões moleculares associados a dano), que são libertados pelas nossas próprias células quando são danificadas e/ou atacadas. Em contrapartida, o sistema imune adaptativo, apesar de ser mais lento a actuar, é altamente preciso e exacto, sendo capaz de reconhecer um antígeno específico, tendo assim a habilidade de se focar num tipo individual de patógeno ou molécula.

No entanto, sem o contributo inicial do sistema imune inato, o sistema imune adaptativo não consegue ser activado. Isto faz com que o sistema imune inato seja uma peça fundamental na resposta imune como um todo. Logo, estudar os mecanismos de acção que controlam as funções celulares do sistema imune inato é uma tarefa imperativa para conseguir compreender como podemos aperfeiçoar a actividade do nosso sistema imune em nosso proveito, tal como melhorar a resposta imune contra infecções, aumentar a eficácia de vacinas, ou estimular a resposta anti-tumoral. No entanto, pode ser também importante saber como introduzir um travão nas respostas imunes, tal como em certas respostas hiperinflamatórias (ex. COVID-19 severa), ou doenças auto-imunes (ex. artrite reumatóide), caracterizadas por respostas de inflamação crónica contra os nossos próprios antígenos (também chamados auto-antígenos), que acontece porque as nossas células imunes começam a atacar o nosso próprio corpo, devido à perda de tolerância imunológica – ou seja, as nossas células imunes começam a ver o nosso próprio corpo como uma ameaça que tem que ser eliminada.

Duas células fundamentais do sistema imune inato são os macrófagos e as células dendríticas (DCs), dois tipos de células mielóides (Fig. 1). Os macrófagos são células residentes de tecido responsáveis pela manutenção da homeostase dos tecidos. Em resposta a sinais inflamatórios, eles podem adquirir funções pró-inflamatórias,



caracterizadas pela síntese de citocinas pró-inflamatórias (ex. TNF e IL-6). Alguns exemplos de sinais clássicos de inflamação em macrófagos são:

- A estimulação de receptores tipo toll (TLRs), por PAMPs e DAMPs, que ativam diferentes vias inflamatórias, dependendo do TLR que está a ser estimulado
- A ligação da porção Fc dos anticorpos (frequentemente chamada de “cauda” do anticorpo em forma de Y (Fig. 1)) aos receptores Fc (FcR) presentes nos macrófagos

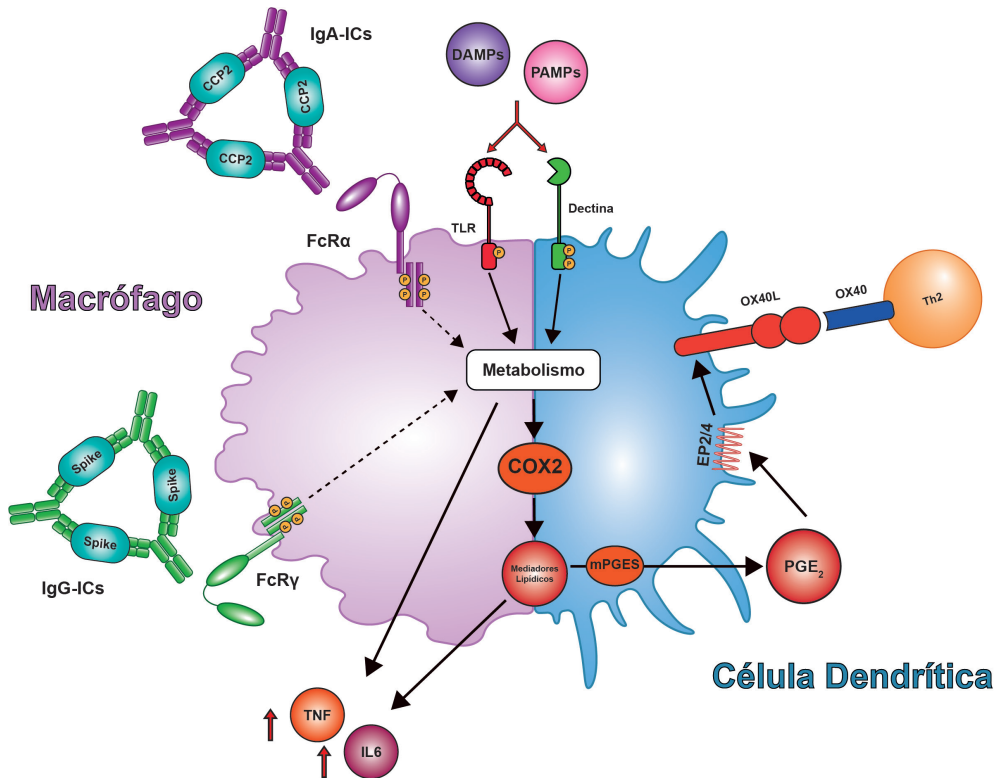


Figura 1: **Metabolismo e mediadores lipídicos desempenham um processo central na função de células imune inatas.** Estímulos extrínsecos induzem mudanças metabólicas tanto em macrófagos como em células dendríticas através de PRRs (tal como TLRs e Dectina) e/ou através de FcRs. Estas alterações metabólicas regulam a resposta imune das células através da síntese de mediadores lipídicos dependentes de COX-2 e citocinas pró-inflamatórias.

Como seria de esperar, estes dois estímulos podem criar sinergia e amplificar o fenótipo inflamatório dos macrófagos, resultando assim numa resposta imune mais forte e mais robusta contra um patógeno, em casos em que a porção Fc do anticorpo interage com um FcR ativador.

Apesar de hoje em dia já se saber que a diferenciação e activação de macrófagos é um processo altamente plástico que se encontra num espectro, os dois extremos desse espectro são macrófagos fortemente inflamatórios, normalmente referidos como “tipo M1”, e macrófagos anti-inflamatórios/macrófagos que promovem a resolução do processo inflamatório (ou seja, macrófagos pró-resolventes), normalmente referidos como “tipo M2”. Em geral, macrófagos com o fenótipo tipo M1 têm a tarefa de patrulhar e matar patógenos, através de um processo chamado fagocitose e pela produção de citocinas pró-inflamatórias, enquanto que os tipo M2 favorecem a cicatrização de feridas, através da produção de citocinas anti-inflamatórias, regeneração do tecido e por engolirem células mortas ou células em vias de morte (ou seja, em apoptose), através de um processo chamado eferocitose.

Por outro lado, a principal função das DCs é induzir e orientar a diferenciação e activação do sistema imune adaptativo, especialmente através da apresentação de antígenos a células T. Quando as DCs encontram um antígeno, seja de um invasor externo, tal como um patógeno, ou de uma fonte interna (ex. auto-antígenos ou células cancerosas), passam por mudanças específicas durante a sua activação e, ou se tornam imunogénicas, ou tolerogénicas. DCs imunogénicas induzem a diferenciação e activação de células T citotóxicas CD8+ e/ou células T auxiliares CD4+, tais como células Th1, Th2 ou Th17; todas com funções específicas e especializadas em contra-atacar patógenos e desafios imunológicos individuais. Em contrapartida, as DCs tolerogénicas induzem a diferenciação e activação de células Treg, que funcionam como travões imunológicos que inibem respostas imunes contra um certo antígeno, seja ele um auto-antígeno, para prevenir doenças auto-imunes, ou contra antígenos externos, mas inofensivos, como é o caso dos alimentos.

Numa impressionante exibição de coordenação celular, as células T recém-activadas migram para o local específico onde se encontra o antígeno apresentado e supervisionam a resposta imune, produzindo citocinas que, não só actuam no sistema imune inato, tais como em macrófagos já presentes no local, mas também funcionam como faróis que promovem migração adicional de mais células imunes inatas para ajudar a lutar contra uma ameaça específica, no caso de células Th1, Th2 e Th17, ou para parar a resposta inflamatória e promover tolerância, no caso de Tregs.

Adicionalmente, as DCs também podem activar células Tfh (células T auxiliares foliculares), que estão intimamente envolvidas em dar início e em moldar respostas imunes pelo *outro ramo* do sistema imune adaptativo – células B. Após esta “trindade de activação” entre células B, DCs e Tfh, as células B migram para o local de origem específico do antígeno apresentado pelas DCs, onde irão produzir e secretar anticorpos. Estes anticorpos, normalmente sob a forma de imunoglobulina G (IgG) ou imunoglobulina A (IgA), são capazes de reconhecer o antígeno e ligarem-se



directamente a ele, formando complexos imunes em que os *dois pequenos braços* do anticorpo em forma de Y se ligam ao antígeno, enquanto a sua “cauda”, ou seja, a sua porção Fc, fica virada para fora (Fig. 1). Estes complexos imunes são depois capazes de serem reconhecidos pelos macrófagos, através dos receptores Fc, que se ligam à porção Fc, ajudando assim estes macrófagos a passarem por ainda outra activação pró-inflamatória adicional. Estes mecanismos colocam as DCs como o alvo inicial de uma estratégia de modulação imune, visto que ditam os estados de activação das células T e células B, enquanto coloca os macrófagos como alvo final, visto que são os últimos actuadores nesta cadeia imunológica de inato-adaptativo-inato.

Uma das áreas mais recentes no estudo de imunologia que tenta desvendar como modular respostas imunes é a área de imunometabolismo. Esta área surgiu da descoberta de que, dependendo da função que está a ser desempenhada, as células imunes sofrem reprogramações metabólicas específicas, favorecendo certas vias metabólicas em vez de outras, não apenas para as suas necessidades energéticas, mas também para a síntese de metabolitos cruciais para serem usados durante as suas etapas de activação e diferenciação. Por exemplo, foi descrito que, *em geral*, macrófagos pró-inflamatórios e DCs imunogénicas dependem da glicólise e da síntese de ácidos gordos, enquanto macrófagos pró-resolventes e DCs tolerogénicas dependem da oxidação de ácidos gordos (FAO) e da fosforilação oxidativa (OXPHOS). Com este conhecimento nasceu a hipótese de que, modulando o metabolismo de macrófagos e DCs, seria possível controlar o seu estado de activação. Por exemplo, ao inibir vias metabólicas preferidas por fenótipos pró-inflamatórios/imunogénicos e ao promover vias metabólicas preferidas por fenótipos pró-resolventes/tolerogénicos, a célula mudaria de um estado pró-inflamatório para um estado anti-inflamatório e vice-versa.

Uma via fulcral que se encontra no centro de imunometabolismo é o metabolismo de lípidos. Apesar de lípidos terem sido vistos tradicionalmente como moléculas para armazenamento de energia e como materiais para a síntese de membranas celulares, hoje sabemos que não é bem assim. O metabolismo de lípidos tem um papel central na síntese de metabolitos usados pelas células imunes para desempenharem as suas respectivas funções. Por exemplo, a síntese de ácidos gordos pode levar à formação de gotículas lipídicas (pequenas bolhas de moléculas lipídicas dentro da célula, semelhantes às gotas de gordura que podemos observar na superfície de sopas e de guisados) em macrófagos e DCs, tendo sido identificadas como tendo um papel em funções imunes, tais como a produção de citocinas, fagocitose e apresentação de antígenos. Em contrapartida, FAO foi demonstrada como sendo importante, visto que Acetil-CoA resultante da oxidação de ácidos gordos pode ser usado para acetilação de histonas, que é uma maneira que a célula tem para controlar que genes são expressos e/ou reprimidos.

Para além disso, o metabolismo de lípidos inclui também a síntese de mediadores lipídicos. Os mediadores lipídicos são um grupo de moléculas que desempenham um papel altamente importante na comunicação entre células. Como o nome sugere, estas moléculas têm origem na oxidação de ácidos gordos e actuam como mensageiros químicos. Estes mediadores podem actuar na própria célula (sinalização autócrina), em células próximas da célula de onde originaram (sinalização parácrina), ou em células longe da célula original (sinalização endócrina). Estes mediadores são um dos principais mensageiros entre células imunes, sendo capazes de induzir vias de sinalização em macrófagos e DCs que, ou promovem a síntese de citocinas pró-inflamatórias e activação de células T, ou, em vez disso, abafam a inflamação, promovendo a regeneração do tecido e tolerância imune. Como tal, elucidar os mecanismos que levam células imunes a sintetizar estes mediadores lipídicos e compreender como é que estes mediadores actuam nas células imunes é fundamental para desvendar possíveis alvos terapêuticos para uma intervenção de um ponto de vista imunometabólico.

No entanto, ainda há muito que não se sabe. Como foi acima mencionado, *em geral*, macrófagos pró-inflamatórios e DCs imunogénicas tendem a favorecer glicólise e síntese de ácidos gordos, enquanto macrófagos anti-inflamatórios e DCs tolerogénicas tendem a preferir fosforilação oxidativa e oxidação de ácidos gordos. Contudo, há alguns estudos que sugerem que esta dicotomia imunometabólica não se aplica a todas as situações, demonstrando que a reprogramação metabólica pela qual os macrófagos e as DCs passam após activação é dependente de uma panóplia de factores, tais como o estado de diferenciação da célula, a localização no tecido, o estímulo e o momento de activação. Como tal, é fundamental olhar para o perfil imunometabólico das células em contextos específicos.

Esta especificidade de contextos também se verifica no papel dos mediadores lipídicos. Por exemplo, enquanto nalguns contextos um mediador lipídico (ex. Prostaglandina E₂) pode induzir respostas pró-inflamatórias em macrófagos, ou promover uma resposta activadora de células Th1 por parte de DCs, noutros contextos pode induzir uma resposta anti-inflamatória e/ou promover uma resposta Th2.

Logo, considerando que existe uma necessidade crucial de estudar os requisitos de macrófagos e DCs em situações específicas, esta tese teve como objectivo mapear os perfis e as dependências em diferentes contextos inflamatórios e celulares.



Delineação dos Capítulos da Tese

O **capítulo 2** constitui uma introdução teórica mais aprofundada a esta tese. Nele, podemos encontrar um enquadramento da área de imunometabolismo no contexto da imunidade inata, com especial foco no metabolismo de ácidos gordos em DCs e macrófagos, e na forma como o perfil metabólico e a função imune estão intrinsecamente ligados. Abordámos os dados actuais que demonstram a importância dos ácidos gordos (ex. ácidos gordos poli-insaturados) e dos mediadores lipídicos (ex. prostaglandinas) na modulação da função e do metabolismo dos macrófagos e das DCs. Explorámos também o papel multifacetado do metabolismo de ácidos gordos, tanto na promoção, como na inibição da inflamação, tendo chegado à conclusão de que tal coloca em evidência a importância de estudar cada contexto específico, se queremos obter uma visão completa das necessidades metabólicas das células imunes e encontrar formas de modular eficientemente as respostas imunes através da utilização de metabolismo como abordagem terapêutica.

No **capítulo 3**, estudámos o papel da IgG anti-spike de SARS-CoV-2 (Fig 1.) na promoção de um estado hiper-inflamatório em macrófagos. A IgG causa isto através da indução de mudanças metabólicas específicas que preparam estes macrófagos para uma expressão excessiva de citocinas pró-inflamatórias. Através de inibição química destas vias metabólicas conseguimos prevenir a hiper-inflamação induzida pela IgG. Semelhantemente, no **capítulo 4**, observámos qual o papel da IgA contra CCP2 (péptidos citrulinados que são auto-antígenos comuns nas articulações (Fig. 1)) em promover inflamação crónica no contexto de artrite reumatóide. A IgA causa isso ao induzir um estado de hiper-inflamação em macrófagos que tanto depende de certas mudanças metabólicas, como da síntese de mediadores lipídicos após cicloxigenase-2, identificando assim alvos terapêuticos com possíveis aplicações no tratamento de doenças de inflamação crónica causadas por auto-anticorpos.

No **capítulo 5**, descrevemos como é que DCs reconhecem antígenos solúveis de ovos (SEA) do parasita *Schistosoma mansoni* através da Dectina-2 (um receptor na membrana celular das DCs), como é que elas ficam habilitadas a induzir a diferenciação de células Th2, e como é que a síntese de mediadores lipídicos pela parte de DCs pode ser quimicamente modulada para modificar a sua função imune dentro deste contexto. Foi demonstrado previamente que os SEA sinalizam através da Dectina-2 em DCs de forma a induzir a síntese de PGE₂, a expressão de OX40L e também a habilidade de activar células Th2. Para além disso, nós fomos capazes de demonstrar também que, após estimular DCs com SEA, inibir quimicamente a síntese de PGE₂ também diminuiu a expressão de OX40L e a sua habilidade de induzir células Th2. Em suma, este estudo oferece novos conhecimentos sobre como é que *Schistosoma mansoni* habilita DCs de forma a induzir uma resposta

Th2 e fomas também capazes de identificar possíveis alvos terapêuticos de forma a controlar respostas Th2 induzidas por helmintos.

No **capítulo 6**, apresento uma discussão extensa delineando as novas descobertas desta tese e exploro futuras questões científicas para continuar a descodificar as nuances de imunometabolismo no contexto de respostas inflamatórias e as possíveis aplicações que este conhecimento científico pode ter na sociedade como um todo. Exponho como é que o metabolismo de lípidos está intimamente conectado com a função de macrófagos e DCs, não apenas devido à reprogramação metabólica pela qual passam estas células, mas também através da síntese de mediadores lipídicos que podem actuar nas próprias células (efeito autócrino) ou em células vizinhas (efeito parácrino). Especificamente, demonstro como é que mediadores abaixo de cicloxigenase-2 desempenham um papel central na promoção de respostas imunes tipo 1 e tipo 2, com DCs a precisar de PGE_2 para induzir uma resposta Th2 (resposta imune tipo 2), mas com macrófagos a necessitar *aparentemente* de outros mediadores que não PGE_2 para adquirir um fenótipo tipo M1 (resposta imune tipo 1). Também abordo o tópico de como reprogramação metabólica não é algo preto e branco e que é preciso estudar os requisitos metabólicos em contextos específicos. Isto foi evidenciado pelo facto de que o mesmo estímulo (IgA) necessita de vias diferentes em células diferentes de forma a induzir inflamação (glicólise em DCs vs metabolismo mitocondrial em macrófagos), ou o facto de que a mesma célula (macrófagos) usa diferentes vias metabólicas quando estimulado com diferentes anticorpos para promover inflamação (metabolismo mitocondrial para IgA vs glicólise, via dos fosfatos de pentose e síntese de ácidos gordos para IgG). Por fim, hipotiso também sobre as futuras aplicações destas descobertas e como é que as podemos transformar em aplicações clínicas, potencialmente através do uso de inibidores e/ou activadores químicos de forma a inibir vias metabólicas indesejadas e/ou de forma a promover vias metabólicas desejadas para obter uma resposta imune específica – por exemplo, promover glicólise e síntese de ácidos gordos juntamente com com terapias baseadas no uso de IgG, ou promover actividade mitocondrial em conjunto com terapias baseadas no uso de IgA, de forma a ter uma resposta imune mais robusta pela parte de macrófagos, ou inibir PGE_2 em DCs, para inibir respostas tipo 2 indesejadas e/ou promover respostas imune tipo 1. No entanto, é importante ter sempre em mente que estas ideias podem não ser extensíveis a todos os contextos patológicos. Como tal, após sugerir várias futuras perspectivas sobre como avançar a partir daqui, tal como incorporar lipidómica espacial com ensaios imunes funcionais e explorar o que é que podem significar os resultados desta tese no contexto de patologias urgentes, tais como cancro, obesidade e doenças neurológicas associadas à idade, concluo ao reforçar a mensagem de que, para encontrar alvos terapêuticos eficazes, precisamos de estudar cada contexto patológico específico e ter uma abordagem focada em cada tipo de célula.



Conclusão

Em suma, esta tese contribui para a importância crescente do metabolismo de lípidos e de receptores Fc na biologia de macrófagos e DCs, no contexto de auto-imunidade, inflamação crónica, cancro, obesidade e infeção. Como tal, estudar os efeitos de mediadores lipídicos, sinalização de FcR, e o padrão imunometabólico de células mielóides associadas a tecidos no contexto de cada doença, em conjunto com ferramentas de lipidómica, pode dar-nos a compreender o mecanismo subjacente às causas destas patologias, ajudar a prever o desenvolvimento e a progressão de doenças e potencialmente levar a novas terapias para prevenir, tratar ou curar estas doenças.