



Novas perspectivas em imunoterapia: a importância das células dendríticas na imunoterapia alérgeno-específica

New perspectives in immunotherapy: the importance of dendritic cells in allergen-specific immunotherapy

Maria Angela Vigoritto¹, Gustavo Pradez²

RESUMO

A imunoterapia alérgeno-específica é o único tratamento capaz de alterar o curso natural da doença alérgica. Ensaios clínicos mostram que a imunoterapia é segura e eficaz para muitos pacientes. No entanto, ainda enfrenta problemas relacionados à eficácia, segurança, longa duração do tratamento e baixa adesão dos pacientes. Neste contexto, tem havido intensa pesquisa no desenvolvimento de adjuvantes com objetivo de aumentar a segurança, otimizar os esquemas de tratamento e melhorar a adesão dos pacientes. Alérgenos foram modificados (glicoconjugados) com carboidratos derivados de *Saccharomyces cerevisiae* para aumentar sua captação e apresentação através dos receptores de carboidratos presentes nas células dendríticas, beneficiando-se da capacidade de atuarem na indução de tolerância para iniciar respostas imunes. À luz de novas evidências, essas células constituem alvo terapêutico chave para se obter uma resposta adequada à imunoterapia alérgeno-específica, com potencial de contribuição na inovação do campo da Imunoterapia.

Descritores: Imunoterapia alérgeno-específica, alergia, células dendríticas.

ABSTRACT

Allergen-specific immunotherapy is the only treatment capable of altering the natural course of allergic disease. Clinical trials have shown that immunotherapy is safe and effective for many patients. However, it still faces problems related to efficacy, safety, long treatment duration and poor patient compliance. In this context, there has been intense research into the development of adjuvant treatments that increase safety, optimize treatment regimens, and improve patient compliance. Allergens were modified (glycoconjugated) with carbohydrates derived from *Saccharomyces cerevisiae* to increase their uptake and presentation through carbohydrate receptors in dendritic cells, benefiting from their ability to induce tolerance and initiate immune response. In light of the new evidence, these cells are a key therapeutic target for adequate response to allergen-specific immunotherapy and can drive innovation in the field of immunotherapy.

Keywords: Allergen-specific immunotherapy, allergy, dendritic cells.

Introdução

Embora as doenças alérgicas possam ser controladas pela administração de medicamentos sintomáticos ou medicamentos de emergência, a imunoterapia alérgeno-específica é a única opção de tratamento curativo para doenças alérgicas com eficácia e segurança descritas por vários estudos e metanálises^{1,2}.

Seus fatores limitantes são a longa duração dos tratamentos, custos, baixa adesão do paciente e risco de reações adversas graves com risco à vida durante a imunoterapia alérgeno-específica.

O desenvolvimento de uma imunoterapia com alérgenos modificados, com menor alergenicidade e alta imunogenicidade, assim como em combinação

1. Especialista em Alergia e Imunologia pela ASBAI. Mestre e doutoranda em Imunologia Clínica e Alergia pela FMUSP - São Paulo, SP, Brasil.

2. CEO e Diretor-Presidente da IMUNO Center - Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

com novas moléculas adjuvantes e por meio de novas rotas, podem encurtar a duração do tratamento e possivelmente reduzir essas desvantagens³.

Mecanismos da imunoterapia alérgeno-específica

Diferentemente do que se imaginava anteriormente, o desvio da imunidade de Th2 para Th1 não é o ponto chave para o sucesso do tratamento. Os recentes avanços no conhecimento das células Treg, Breg e dos mecanismos de tolerância periférica foram essenciais para explicar as alterações imunológicas decorrentes da imunoterapia.

Durante muitos anos acreditou-se que a imunoterapia induziria um desvio da imunidade de Th2 para Th1, através da redução dos níveis de IL-4, IL-5 e IL-13 e consequente aumento de IFN- γ . Entretanto, esta teoria era incapaz de explicar completamente o porquê de os indivíduos submetidos à imunoterapia não apresentarem maior incidência de doenças relacionadas à população de linfócitos Th1⁴.

Em 2004 surgiram os primeiros trabalhos demonstrando a participação de células T regulatórias no mecanismo da imunoterapia alérgeno-específica. Desde então, a indução de tolerância imunológica tornou-se o alvo principal na prevenção e tratamento de doenças relacionadas à disfunção do sistema imune, como as alergias⁵.

Subconjuntos de células com capacidades regulatórias são induzidas durante a imunoterapia alérgeno-específica. A IL-10 e o fator TGF-beta são as principais citocinas supressoras, além de moléculas de superfície como o antígeno-4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) e a proteína-1 de morte celular programada (PD-1) dentro do microambiente. Respostas de células T e B modificadas e isótopos de anticorpos, limiares de atividade aumentados para eosinófilos, basófilos e mastócitos e a consequente limitação das cascatas inflamatórias induzem e mantêm um estado de ausência de resposta sustentada específica a alérgenos. A tolerância estabelecida é refletida nas perspectivas clínicas como melhora dos sintomas alérgicos, juntamente com a redução da necessidade de medicamentos e da evolução da gravidade da doença⁵.

Novos adjuvantes

A imunoterapia alérgeno-específica é o único tratamento capaz de alterar o curso natural da doença alérgica. Ensaios clínicos mostram que a imunoterapia

é segura e eficaz para muitos pacientes; no entanto, ainda enfrenta problemas.

Apesar de toda a evolução nos mais de 100 anos, a imunoterapia com extratos de alérgenos muitas vezes não é conveniente para os pacientes devido a desvantagens como regimes de tratamento de vários anos, preocupações com a eficácia, segurança do tratamento e a longevidade dos efeitos induzidos. Para algumas alergias, a imunoterapia ainda é apenas parcialmente eficaz e pode ser prejudicada por efeitos colaterais indesejados. Portanto, muitas atividades de pesquisa pretendem melhorar a imunoterapia gerando novas vacinas candidatas e adjuvantes que aumentam a eficácia enquanto diminuem os efeitos adversos indesejados⁶.

Em recentes publicações, com base em uma extensa revisão de literatura, foram destacadas abordagens atuais inovadoras com objetivo de aumentar a segurança, mantendo ou mesmo aumentando a eficiência, melhorando os esquemas de tratamento na imunoterapia com alérgenos. Para aumentar a eficácia da imunoterapia, alérgenos foram acoplados a substâncias imunoestimulantes e novos adjuvantes foram introduzidos. Os alérgenos foram modificados para aumentar sua captação e apresentação. Moléculas hipoalergênicas foram desenvolvidas para melhorar o perfil de segurança das vacinas. Peptídeos derivados de alérgenos, alérgenos recombinantes, agonistas de receptores e outros adjuvantes dentre os quais destacamos os novos adjuvantes obtidos a partir do *Saccharomyces cerevisiae*^{7,8}.

O manano de *Saccharomyces cerevisiae* é um polissacarídeo que consiste em resíduos de manose derivados do fungo. O potencial do manano como adjuvante para o tratamento de diferentes doenças foi apresentado por estudos que demonstram maior maturação de células dendríticas (DC) e apresentação de antígenos, bem como respostas imunes obtidas com a conjugação do polissacarídeo^{9,10}. A conjugação de carboidratos a alérgenos é uma abordagem bem descrita para direcionar células apresentadoras de antígenos e tornar o alérgeno conjugado hipoalérgico¹¹.

O manano (*Saccharomyces cerevisiae*) foi usado em vários estudos para direcionar alérgenos para células apresentadoras de antígenos. Weinberger e cols. demonstraram que os conjugados de manano foram eficientemente absorvidos pelas DC *in vivo*, induzindo uma mudança da IgE para a produção de IgG¹¹. A estratégia conjuga os antígenos (de ácaros, pólenes de gramíneas, etc.) com uma fonte de carboi-

drato (manose) extraída da parede celular de uma levedura conhecida denominada *Saccharomyces cerevisiae* composta de três estruturas principais (manano, quitina e glucana), e encontra-se bem descrita na literatura atual¹².

O direcionamento de antígenos para DC para aumentar a captação celular tem o potencial de resultar em uma imunoterapia mais eficaz e eficiente. Antígenos acoplados ao manano de *Saccharomyces cerevisiae*, como fonte de manose, são adequados para este fim, uma vez que os receptores de ligação à manose são expressos nestas células¹².

Sistema APC - Células Dendríticas – CLRs

As preparações glicoconjugadas, ricas em manose de *Saccharomyces cerevisiae*, têm como alvo terapêutico as células dendríticas. São formulações que se beneficiam dos receptores de carboidratos presentes nas DC. São direcionadas aos agonistas das CLRs, nas quais o adjuvante atua tanto como um imunestimulante quanto como um sistema vetor de entrega de antígenos – direcionando os alérgenos a uma maior absorção por DC.

Descritas por Ralph Steinmen, imunologista ganhador do prêmio Nobel 2011, as células dendríticas são as células apresentadoras de antígenos mais profissionais do sistema APC. Localizam-se em todo tecido linfóide, órgãos linfóides primário, secundário e no sangue. São responsáveis por iniciar e manter as respostas imunes¹³.

Antígenos glicoconjugados (*Saccharomyces cerevisiae*) representam vacinas adequadas à imunoterapia alérgeno-específica, com um crescente número de publicações importantes, e podem ser de extrema relevância para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas em outras doenças relacionadas à tolerância imunológica¹⁴. Induzem potentes anticorpos bloqueadores e são capturados por DC humanas muito mais eficientemente do que os antígenos nativos que dependem da internalização mediada por não integrina do receptor de manose e da célula dendrítica específica. Ativam as DC humanas para gerar células Treg FOXP3 funcionais através do PD-L1¹⁴. Esses efeitos do adjuvante podem ser explicados por sua capacidade de ativar receptores de Lectina do tipo C, receptores de reconhecimento de padrões normalmente expressos em DC¹⁴.

Os antígenos glicoconjugados formam um complexo antígeno-manose e estes complexos são, portanto,

mais facilmente capturados e internalizados. A partir deste momento, as células dendríticas, na presença da IL-10, ativam-se e transformam-se no fenótipo tolerogênico em direção à formação de uma nova população de células tolerantes Treg¹⁵. A glicoconjugação demonstrou promover uma geração de DC tolerogênicas com capacidade de induzir FOXP3, Tregs funcionais tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Observa-se que a presença de alúmen prejudica as propriedades tolerogênicas das vacinas alérgicas com antígenos glicoconjugados (*Saccharomyces cerevisiae*)¹⁶.

Antígeno-manose - Internalização e ativação

Embora existam evidências para a conjugação de carboidratos a alérgenos (glicoconjugação) e a fonte de *Saccharomyces cerevisiae* seja facilmente encontrada no Brasil, o uso do adjuvante rico em manose Manano (*Saccharomyces cerevisiae*) está vinculado a uma patente internacional (INMUNOTEK - Espanha). Entretanto, na parede celular do *Saccharomyces cerevisiae* existem outras estruturas de carboidratos como fonte de obtenção de manose, através da qual o princípio geral da glicoconjugação de antígenos à manose (*Saccharomyces cerevisiae*), pode ser transferido.

O *Saccharomyces cerevisiae* (nativo) preserva suas macroestruturas (chitina, glucana e manano). A estrutura da parede celular do *Saccharomyces cerevisiae* consiste principalmente em cadeias de resíduos de glicose e manoproteínas. Mesmo com alto grau de pureza, a fração betaglucana da levedura apresenta uma fração rica em manose, com cadeias curtas ou longas com alta concentração de manose. Desta forma, a glicoconjugação com esta fração do *Saccharomyces cerevisiae* é capaz de manter sua estrutura de carboidratos (manose, glicose) íntegra e suas propriedades tolerogênicas potencialmente associadas, com capacidade adjuvante para entrega direcionada do alérgenos para as células dendríticas.

Diferenciais, segurança e efeitos na imunoterapia

No passado, o esquema de polissacarídeos em imunoterapia com uso de uma das frações do *Saccharomyces cerevisiae* rica em manose foi objeto de estudo em trabalho de Oliveira CH & Binnotti RS¹⁷. No artigo, esta prática foi descrita como experimental, apesar dos autores considerarem a prática promissora.

Atualmente, estudos demonstram que os glicoconjugados (*Saccharomyces cerevisiae*) têm como alvo as DC via receptor de manose e DC-SIGN, aumentando a captação de alérgenos, aumentando a produção de IL-10 e a expressão de PD-L1 e promovendo a geração de células Treg específicas de alérgenos funcionais de FOXP3, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, que é prejudicado pelo alúmen adjuvante convencional¹⁶.

Em recente revisão foi demonstrado também que estes conjugados reprogramam a diferenciação de monócitos e geram DC tolerogênicas por meio de religação epigenética e metabólica. No geral, foram descobertos mecanismos moleculares sem precedentes, pelos quais estes glicoconjugados podem restaurar a tolerância a alérgenos durante a Imunoterapia alérgeno-específica¹⁸.

Conclusão e perspectivas futuras

Apesar dos esquemas com polissacarídeos, melhor descritos atualmente como antígenos glicoconjugados com manose de *Saccharomyces cerevisiae*, em imunoterapia tenham sido mal compreendidos no passado, hoje existem diversos estudos internacionais que balizam seu emprego na imunoterapia com alérgenos e uma nova e importante evolução no campo da imunoterapia, com benefícios superiores aos antígenos nativos.

Destaca-se na atual bibliografia, o papel fundamental das células dendríticas, que após capturarem e internalizarem os antígenos, se ativam no fenótipo tolerogênico em direção às células T – mecanismo fundamental da imunoterapia alérgeno-específica. Estudos demonstram benefícios na melhora da segurança e otimização do esquema terapêutico, bem como na maior promoção de células tolerantes (Treg)¹⁵.

Toda esta absorção das DC aumenta a biodisponibilidade, a absorção, melhorando o esquema posológico, com supressão de fase de indução e aplicações mais espaçadas, com intervalos a cada 5 semanas. Vacinas para alergia a pólen e ácaros já foram desenvolvidas, mas o mesmo conceito também está sendo estudado para outros alérgenos, inclusive o amendoim¹⁵.

Os antígenos glicoconjugados (*Saccharomyces cerevisiae*) representam, segundo seus autores, uma nova geração de vacinas alergênicas, otimizam a captação de alérgenos pelas DC, aumentam a bio-

disponibilidade das doses administradas, enquanto promovem respostas imunes seguras¹⁵.

À luz destas novas evidências, compreende-se a ação imunoestimulante e o sistema vetor de entrega de alérgenos às DC, potencializado pela glicoconjugação de antígenos ao adjuvante rico em manose de *Saccharomyces cerevisiae* e seu potencial de contribuição na inovação do campo da imunoterapia.

Referências

1. JutelM, Agachel, BoniniS, BurksAW, CalderonM, Canonica W, et al. International Consensus on Allergen Immunotherapy II: mechanisms, standardization, and pharmacoconomics. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:358-68.
2. Pfaar O, Bonini S, Cardona V, Demoly P, Jakob T, Jutel M, et al. Perspectives in allergen immunotherapy: 2017 and beyond. *Allergy*. 2018;73(Suppl104):5-23.
3. Kucuksezer UC, Ozdemir C, Cevhertas L, Ogulur I, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and allergen tolerance. *Allergol Int*. 2020 Oct;69(4):549-60. doi: 10.1016/j.alit.2020.08.002.
4. Durham SR, Till SJ. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:157-64.
5. Pereira VAR, Aun WCT, Mello JF. Mecanismos da imunoterapia alérgeno-específica. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2017;1(3):257-62.
6. Schülke S, Vieths S. Dendritic cell targeting with C-type lectins for improvement of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug;138(2):568-70.
7. Pfaar O, Creticos PS, Kleine-Tebbe J, Canonica GW, Palomares O, Schülke S. One Hundred Ten Years of Allergen Immunotherapy: A Broad Look Into the Future. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 May;9(5):1791-803. doi: 10.1016/j.jaip.2020.12.067. Erratum in: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 Oct;9(10):3851. PMID: 33966868.
8. Komlósi ZI, Kovács N, Sokolowska M, van de Veen W, Akdis M, Akdis CA. Highlights of Novel Vaccination Strategies in Allergen Immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2020 Feb;40(1):15-24. doi: 10.1016/j.iac.2019.09.010.
9. Sheng KC, Pouniotis DS, Wright MD, Tang CK, Lazoura E, Pietersz GA, et al. Mannan derivatives induce phenotypic and functional maturation of mouse dendritic cells. *Immunology*. 2006 Jul;118(3):372-83. doi: 10.1111/j.1365-2567.2006.02384.x.
10. Tada H, Nemoto E, Shimauchi H, Watanabe T, Mikami T, Matsumoto T, et al. *Saccharomyces cerevisiae*- and *Candida albicans*-derived mannan induced production of tumor necrosis factor alpha by human monocytes in a CD14- and Toll-like receptor 4-dependent manner. *Microbiol Immunol*. 2002;46(7):503-12.
11. Weinberger EE, Himly M, Myschik J, Hauser M, Altmann F, Isakovic A, et al. Generation of hypoallergenic neoglycoconjugates for dendritic cell targeted vaccination: a novel tool for specific immunotherapy. *J Control Release*. 2013 Jan 28;165(2):101-9.
12. Manzano AI, Javier Cañada F, Cases B, Sirvent S, Soria I, Palomares O, et al. Structural studies of novel glycoconjugates from polymerized allergens (allergoids) and mannans as allergy vaccines. *Glycoconjug J*. 2016 Feb;33(1):93-101. doi: 10.1007/s10719-015-9640-4.
13. Bona C, Bot A. The 2011 Nobel Prize - honoring the memory of Dr. Ralph Steinman. *Int Rev Immunol*. 2011 Oct-Dec;30(5-6):233-4. doi: 10.3109/08830185.2011.630972.

14. Sirvent S, Soria I, Cirauqui C, Cases B, Manzano AI, Diez-Rivero CM, et al. Novel vaccines targeting dendritic cells by coupling allergoids to nonoxidized mannan enhance allergen uptake and induce functional regulatory T cells through programmed death ligand 1. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug;138(2):558-67.e11
15. Benito-Villalvilla C, Soria I, Subiza JL, Palomares O. Novel vaccines targeting dendritic cells by coupling allergoids to mannan. *Allergo J Int*. 2018;27(8):256-262. doi: 10.1007/s40629-018-0069-8.
16. Benito-Villalvilla C, Soria I, Pérez-Diego M, Fernández-Caldas E, Subiza JL, Palomares O. Alum impairs tolerogenic properties induced by allergoid-mannan conjugates inhibiting mTOR and metabolic reprogramming in human DCs. *Allergy*. 2020 Mar;75(3):648-659. doi: 10.1111/all.14036.
17. Oliveira CH, Binotti RS. Uso de polissacarídeos em esquemas de imunoterapia. *Rev bras alerg imunopatol*. 2002;25(6):200-3.
18. Benito-Villalvilla C, Pérez-Diego M, Angelina A, Kisand K, Rebane A, Subiza JL, et al. Allergoid-mannan conjugates reprogram monocytes into tolerogenic dendritic cells via epigenetic and metabolic rewiring. *J Allergy Clin Immunol*. 2022 Jan;149(1):212-22.e9. doi: 10.1016/j.jaci.2021.06.012.

Conflitos de interesse: a autora Maria Angela Vigoritto declara não haver conflito de interesse. O autor Gustavo Pradez é CEO e Diretor-Presidente da IMUNO Center.

Correspondência:
Maria Angela Vigoritto
E-mail: maavigoritto@terra.com.br