



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANA CATARINA NOVAIS BELINHA

CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES NA PATOLOGIA ALÉRGICA

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE IMUNOLOGIA CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTOR CELSO PEREIRA

DR^a GRAÇA LOUREIRO

NOVEMBRO/2021

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITÓIDES NA PATOLOGIA
ALÉRGICA

Artigo de Revisão

Aluna:

Ana Catarina Novais Belinha

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

belinhana@gmail.com

Orientador:

Prof. Doutor Celso Pereira

Professor Auxiliar Convidado,

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

Coorientadora:

Dr.^a Graça Loureiro

Assistente Graduada em Imunoalergologia,

Serviço de Imunoalergologia, Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

Índice

Resumo	1
Palavras-Chave.....	2
Abstract	3
Keywords	4
Índice de ilustrações	5
Lista de abreviaturas.....	7
Introdução.....	10
A importância do estudo das células dendríticas plasmocitóides na patologia alérgica.....	11
Materiais e Métodos	14
Metodologia de pesquisa	15
Revisão	16
As células dendríticas plasmocitóides (pDC's): origem, desenvolvimento e funções	17
Ações das pDC's na regulação do sistema imune	21
Impacto das pDC's em diversas patologias	23
O papel das pDC's nas infeções	23
O papel das pDC's nas doenças autoimunes.....	24
O papel das pDC's no cancro.....	25
O papel das pDC's nas doenças alérgicas	26
As pDC's e a sua implicação nas doenças alérgicas	27
Asma.....	27
Rinite Alérgica	29
Dermatite Atópica.....	31
Alergias Alimentares	32
Modulação das pDC's e da resposta imunitária com intuito terapêutico.....	37
Imunoterapia com pDC's no tratamento das doenças alérgicas.....	41

Imunoterapia sublingual <i>versus</i> subcutânea.....	42
Discussão e Conclusão	48
Discussão	49
Conclusão.....	53
Agradecimentos	54
Referências.....	56

Resumo

As células dendríticas plasmocitóides (pDC's) são um subtipo heterogêneo de células dendríticas que apresenta uma biologia multifacetada e tem um papel essencial na regulação imune quer no sistema inato quer no sistema adaptativo. Nos últimos anos, têm surgido questões importantes sobre a implicação destas células na fisiopatologia de diversas doenças, como é o caso das doenças alérgicas. Novos estudos têm evidenciado o papel central das pDC's na regulação da resposta imunitária, como potencial alvo terapêutico, nomeadamente na imunoterapia específica com alérgenos, para tratamento eletivo dos doentes alérgicos.

No processo de maturação as pDC's adquirem uma morfologia semelhante a plasmócitos e capacidade de cooperação com outras células inatas e adaptativas, pelo que são essenciais na regulação e integração de uma resposta imunitária eficaz. O contributo destas células no mecanismo fisiopatológico de algumas patologias está bem documentado, nomeadamente em doenças alérgicas como a asma, a rinite alérgica, a dermatite atópica e as alergias alimentares. As pDC's, geralmente diminuídas no contexto destas doenças, demonstram ter um papel essencial na homeostasia e na prevenção destas doenças. No entanto, na presença de uma resposta inflamatória alérgica Th2, as pDC's evidenciam uma diminuição ao nível dos tecidos e uma ineficiência funcional, que determinam exacerbações e estadios de maior gravidade clínica da doença. Por outro lado, em condições de homeostasia, as pDC's parecem ter intervenção na prevenção e na indução da diátese alérgica, seja pela sua ação na supressão da resposta Th2 e inibição das células ILC2, seja pela sua ação na promoção de tolerância imunológica, com a indução de células Tregs.

A imunoterapia específica com alérgenos constitui a única intervenção terapêutica capaz de modificação da história natural da doença alérgica mediada por IgE. Ambas as vias de administração, subcutânea e sublingual, são eficazes, mas determinam mecanismos distintos que conduzem a uma resposta imunológica reguladora semelhante. Sendo considerada, de momento, a única terapêutica verdadeiramente modificadora da patologia alérgica e, tendo em conta a elevada prevalência e morbidade das doenças alérgicas a nível mundial, é importante o estudo e a compreensão dos mecanismos de modulação de doença, para que se obtenha novas estratégias terapêuticas para um tratamento eficaz, com impacto na qualidade de vida dos doentes alérgicos.

Nesta revisão, foi elaborada uma pesquisa bibliográfica vasta, de forma a investigar e sistematizar o efeito das células dendríticas plasmocitóides na patologia alérgica e o seu potencial

uso nos mecanismos de imunoterapia. No contexto epidemiológico das doenças alérgicas a nível mundial, o objetivo desta revisão é enquadrar a contribuição destas células na fisiopatologia das doenças alérgicas mediadas por IgE e abordar potenciais biomarcadores ou novos alvos de potencial intervenção terapêutica.

Palavras-Chave

(termos DeCS): Células dendríticas plasmocitóides, Resposta imunitária, Hipersensibilidade, Doenças Alérgicas, Imunoterapia sublingual

Abstract

Plasmacytoid dendritic cells (pDC's) are a heterogeneous subtype of dendritic cells which are involved in a wide variety of biological pathways, and which have an essential role in the regulation of both innate and adaptive immune responses. In the last few years, important questions have been raised about the relevance of these cells in the physiopathology of multiple diseases, as it is the case of allergic diseases. New studies have demonstrated a key role of pDC's in the regulation of the immune response, more specifically, their importance as a potential therapeutic target in immunotherapy mechanisms to treat allergic diseases.

In their maturation process, pDC's acquire a morphology plasma cells-*like* and the ability to cooperate with both innate and adaptive immune cells. Thus, they are essential in regulation and integration of an effective immune response. Their contribute to the physiopathological mechanisms of some diseases is well documented, particularly in allergic diseases as asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergies. The pDCs have proven to have a crucial role in homeostasis and in prevention of allergic diseases. However, in the presence of a Th2 allergic immune response, pDC's are decreased in the tissues and appear to have an inefficient functional activity which determines an exacerbation to higher severity clinical stages of the disease. On the other hand, in homeostatic conditions, pDC's have demonstrated to have a key role in the prevention of allergic diseases, due to their action in the suppression of the Th2 response and in the inhibition of ILC2 cells, and by the promotion of immunological tolerance, with the induction of Treg cells.

Specific-allergen immunotherapy is the only therapeutic intervention able to modify the natural history of IgE-mediated allergic disease. Both administration routes, subcutaneous and sublingual, are effective, but determine distinct mechanisms which lead to a similar regulatory immune response. As specific-allergen immunotherapy is considered the only true modifying therapy of the allergic disease and, considering the high worldwide prevalence and morbidity of allergic diseases, it is important to study and to understand the disease modelling mechanisms, in order to obtain new strategic therapies aiming to an effective treatment, improving the quality of life of allergic patients.

In this review, a wide literature search was performed, to investigate and to systematize the effect of pDC's in allergic diseases and their potential in immunotherapy mechanisms. Due to the epidemiological context of allergic diseases, the goal of this review is to produce a framework

of the contribution of pDC's to the physiopathology of IgE-mediated allergic diseases and to approach potential biomarkers and new targets of therapeutic intervention.

Keywords

(MeSH terms): Plasmacytoid dendritic cells, Immune response, Hypersensitivity, Allergic diseases, Sublingual immunotherapy

Índice de ilustrações

Tabela 1 – Equações de Pesquisa utilizadas nas bases de dados. 15

Figura 1 - **Origem e desenvolvimento das células dendríticas plasmocitóides (pDC's).** As pDC's aparentam ter uma origem linfoide por expressarem marcadores de células linfocíticas - *B220*, *transferase deoxinucleotidil terminal (TdT)* e *gene ativador da recombinação 1 (Rag1)* – para além do fator de transcrição *TCF4*. Já as células dendríticas convencionais (cDC1 e cDC2) têm uma origem mieloide e expressam *IRF8* e *IRF4*. (CHP - Célula hematopoiética; PMP - Progenitor multipotente; CPL - Célula progenitora linfoide; CPM - Célula progenitora mieloide; PMDC - Progenitor mieloide de células dendríticas; PMG - Progenitor de monócitos e granulócitos)..... 18

Figura 2 - **Implicação das pDC's na fisiopatologia das doenças alérgicas.** Na patologia alérgica, o processo imunoinflamatório está associado a um aumento dos níveis circulantes de pDC's e a uma diminuição das pDC's nas estruturas mucosas envolvidas. **A – Asma.** Num quadro de exacerbação de asma por uma infeção vírica, a ação das pDC's fica inibida e estas células deixam de modular a resposta imune Th2 e as ILC2, de produzir células Tregs e de inibir a secreção de moléculas pró-inflamatórias pelas células epiteliais. Desta forma, há uma ativação da resposta Th2 e uma síntese aumentada de IgE que, quando se liga ao FcεRI sobre-expressado nas pDC's, determina um quadro de resposta alérgica. No entanto, o *omalizumab* é um fármaco capaz de inibir a ligação da IgE e diminuir a inflamação alérgica existente. **B – Rinite Alérgica.** O contacto e posterior transmigração epitelial do alergénio nas vias respiratórias superiores, determina a libertação de IL-33 e IL-25 pelas células epiteliais, favorecendo uma resposta imunitária adaptativa Th2, com uma produção aumentada de IgE e um aumento significativo de ILC2. Estas células vão a ser cruciais na inflamação alérgica pela síntese acrescida de IL-4, IL-5, IL-13 e TSLP. Na rinite alérgica, para além de neutralizar a IgE, o *omalizumab* tem uma ação importante na facilitação da capacidade das pDC's em induzir células Tregs. **C – Dermatite Atópica.** O contacto e posterior transmigração epitelial do alergénio na pele induz uma produção de IL-25, IL-33 e TSLP pelas células epiteliais e uma indução de resposta Th2, aumento de ILC2 e produção de citocinas Th2 e IgE que vão lesar diretamente a barreira epitelial da pele, com implicações no processo de maturação da filagrina. As pDC's encontram-se em baixo número nas lesões da pele e perdem a sua capacidade de regular a resposta imunitária, diminuindo a resposta Th2 e induzindo a síntese de Tregs. **D – Alergias alimentares.** No caso da mucosa intestinal, a presença do alergénio leva a um desenvolvimento de uma resposta Th2, aumento

das células ILC2 e a síntese de citocinas Th2 que levam a dano direto da mucosa. Estas citocinas induzem a produção de IgE pelos linfócitos B e inibem a ação das pDC's. Quando inibidas, estas células perdem a capacidade de induzir Tregs e de apresentarem os alérgenos aos linfócitos B presentes nas placas de Peyer, diminuindo a síntese de IgA e, consecutivamente, a tolerância imunológica intestinal. A IgE produzida liga-se aos basófilos e aos mastócitos e induz a sua desgranulação e a produção de moléculas vasoativas como é o caso da histamina, que vai contribuir para a inflamação alérgica local e sistêmica. (pDC's – células dendríticas plasmocitóides; ILC2 – células linfoides inatas do tipo 2; Th2 – “T helper” do tipo 2; Tregs – células T reguladoras; IL – interleucina; Ig – imunoglobulina). 35

Figura 3 - A - Modulação da resposta imunitária no mecanismo de imunoterapia subcutânea (SCIT). Aquando da injeção subcutânea, os alérgenos inoculados no tecido subcutâneo são captados pelas cDC's que transportam as moléculas de alérgeno até aos gânglios linfáticos onde, com a intervenção das pDC's apresentam o antigénio e ativam as células T naïve. As células T ativadas migram para os tecidos onde vão desenvolver a resposta imunitária. Por outro lado, as células dendríticas promovem a produção de IgA e IgG4 específica que vão inibir a resposta inflamatória alérgica mediada por IgE. As pDC's induzem as Tregs e a produção de IFN- α que vão inibir a resposta imunitária Th2 e a diminuição das ILC2 circulantes. **B – Modulação da resposta imunitária no mecanismo de imunoterapia sublingual (SLIT).** Aquando da deposição do extrato alérgico terapêutico na mucosa sublingual, estes penetram a mucosa e são captados pelas cDC's que transportam as moléculas de alérgeno até às estruturas ganglionares subjacentes e em estreita proximidade onde, a apresentação antigénica é preponderantemente feita por pDC's bem como a ativação de células T naïve. Por outro lado, as células dendríticas promovem grande parte da resposta imunitária, com a síntese de IL-12 que ativa linfócitos Th1 e estimula a produção IgG4 específica que vai inibir a resposta inflamatória alérgica mediada por IgE. As pDC's embora em baixo número em circulação, encontram-se em níveis elevados na mucosa sublingual e induzem as Tregs, incremento da produção de IL-10 e indução de resposta tolerogénica e frenação da resposta Imune Th2. (cDC's – células dendríticas convencionais; pDC's – células dendríticas plasmocitóides; ILC2 – células linfoides inatas do tipo 2; Th – “T helper”; Tregs – células T reguladoras; IL – interleucina; Ig – imunoglobulina). 44

Lista de abreviaturas

AIT, Imunoterapia específica com alergénios

BCR, Recetor células B

CCL, Ligando de quimiocinas (*C-C motif*)

cDC's, Células dendríticas convencionais

CPI, Células naturalmente produtoras de Interferões do tipo I

CTLA-4, *Cytotoxic T lymphocyte antigen 4*

EP, Recetores de prostanóides do tipo E

EPIT, Imunoterapia epicutânea

FcεRI, *high-affinity Fc receptor for IgE*

FLT3, Recetor tirosina cinase 3 *Fms-like*

FLT3L, Ligando do recetor tirosina cinase 3 *Fms-like*

GM-CSF, *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*

ICOSL, Ligando co-estimulador induzido

IFN-I, Interferões do tipo I

Ig, Imunoglobulina

IL, Interleucina

IL-7R, Recetor da interleucina 7

ILC, Células inatas linfoides

ILC2, Células inatas linfoides do tipo 2

IDIT, Imunoterapia intradérmica

ILIT, Imunoterapia intralinfática

LES, Lupus eritematoso sistémico

LNIT, Imunoterapia nasal local

LT, Leucotrieno

NF-κB, *Nuclear factor-κB*

NK, Células *natural killer*

OIT, Imunoterapia oral

PD-1, *Programmed death 1*

pDC's, Células dendríticas plasmocitóides

PG, Prostaglandina

Rag1, Gene ativador da recombinação 1

SCIT, Imunoterapia subcutânea

SLIT, Imunoterapia sublingual

TdT, Transferase deoxinucleotidil terminal

TLR, *Toll-like receptor*

TGF- β , *Tumor growth factor-beta*

TNF- α , *Tumor necrosis factor-alfa*

Th, *T helper*

Tregs, T reguladoras

TSLP, *Thymic stromal lymphopoietin*

VIH, Vírus da imunodeficiência humana

VHB, Vírus da hepatite B

VHC, Vírus da hepatite C

INTRODUÇÃO

A importância do estudo das células dendríticas plasmocitóides na patologia alérgica

Nos últimos 20 anos tem surgido na literatura conhecimento essencial sobre a biologia, o desenvolvimento e o papel das células dendríticas plasmocitóides (pDC's) no sistema imunitário, sendo que cada vez mais se levantam questões sobre a implicação destas células em mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças.¹⁻³

As pDC's são um subtipo de células dendríticas que apresenta uma biologia multifacetada e tem um papel fundamental na regulação da resposta imunitária.⁴ Estas células distinguem-se por apresentarem um fenótipo distinto, daí serem nomeadas de “plasmocitóides”, e executarem funções diferenciadas na secreção de citocinas, como é o caso da produção rápida e maciça de interferões do tipo I (IFN-I) em resposta a infeções por vírus. Para além da sua capacidade de se diferenciarem em células dendríticas convencionais (cDC's), as pDC's também têm um papel importante na apresentação antigénica, sendo capazes de maturar, adquirir uma morfologia semelhante a plasmócitos e estimular células T, desencadeando uma resposta imunitária adaptativa eficaz.^{1,3} Desta forma, as pDC's têm vindo a ser descritas como tendo um papel fundamental na regulação do sistema imune, quer no início de uma resposta inata, como na modulação e estabelecimento de uma resposta imunitária adaptativa, sendo que, por essa mesma razão, têm vindo a ser implicadas na base da patogénese de diversas doenças, aquando da sua desregulação.^{5,6}

Embora sejam consideradas importantes na apresentação antigénica e na interligação entre a imunidade inata e adaptativa, as pDC's são conhecidas por terem uma função antiviral importante, evocada pela produção extensa de IFN-I, perante a deteção de ácidos nucleicos dos patogéneos durante uma infeção vírica. No entanto, esta produção extensa de IFN-I tem uma ação proeminente nos mecanismos fisiopatológicos de diversas patologias.⁷ Por outro lado, o défice de produção de IFN-I por estas células, aumenta o risco de aparecimento de infeções víricas graves, leva ao desenvolvimento de algumas reações alérgicas e, ainda tem vindo a ser associado, a aumento da resistência tumoral.⁷ Desta forma, as pDC's têm sido cada vez mais estudadas pela sua implicação na patogénese de diversas doenças como as alérgicas, as autoimunes e o cancro.⁷⁻¹⁰

As pDC's têm também uma importante função na indução de tolerância imunológica por intermédio de células T reguladoras (Tregs), sendo consideradas importantes moduladores da resposta imunitária no microambiente tumoral e em estados inflamatórios.^{5,11}

Aquando da desregulação ou disfunção das pDC's, desencadeiam-se mecanismos fisiopatológicos diversos associados a diferentes patologias, como acontece, por exemplo, nas patologias alérgicas respiratórias e cutâneas.^{8,12} Nestas patologias alérgicas, as pDC's têm uma função de modulação da inflamação *T helper* (Th)2, uma vez que as estas células detêm um efeito inibitório sobre as células inatas linfoides do tipo 2 (ILC2), que leva a repercussões críticas no microambiente citocínico, restringindo a inflamação alérgica, a ativação celular e a desregulação epitelial e mucosa, atenuando assim a clínica do quadro alérgico.¹³ Diferentes estudos têm reforçado que, quer a subexpressão quantitativa de pDC's, quer a ineficiência funcional da própria célula, determinam exacerbações e estadios de maior gravidade clínica da patologia alérgica.^{14,15} O contributo destas células encontra-se bem estabelecido nos mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças alérgicas de rebate respiratório, cutâneo e gastrointestinal, como é o caso da asma, rinite alérgica, dermatite atópica e alergias alimentares.^{13,14,16-19} As funções de inibição das ILC2 e de supressão do desenvolvimento de uma resposta imunitária Th2, leva a uma reversão da fisiopatologia característica das doenças alérgicas, sendo que, em alguns casos, também se verifica o desenvolvimento de reações alérgicas asmáticas em doentes com ausência de pDC's ou com a presença destas células não funcionais.^{20,21}

A patologia alérgica é uma das mais emergentes nos últimos anos nos países desenvolvidos, sendo que, cada vez tem surgido mais nos países em desenvolvimento.²² Desta forma, é significativa a importância do estudo da fisiopatologia das doenças alérgicas e a procura de possíveis estratégias terapêuticas para melhorar a qualidade de vida destes doentes e idealmente modificar a história natural da doença. Contudo, apesar de não haver uma cura para estas doenças, é possível adotar estratégias terapêuticas de modulação do sistema imune, de forma a permitir que haja um controlo da inflamação e uma atenuação dos sintomas manifestados pelos doentes alérgicos.²³

A imunoterapia é considerada, hoje em dia, o tratamento basilar da patologia alérgica. No caso da imunoterapia sublingual, recorrendo a uma estimulação dirigida das pDC's a nível local, pode modular-se o sistema imune de forma a diminuir a inflamação alérgica, constituindo esta uma forma terapêutica inovadora e altamente eficaz na patologia alérgica.²⁴ Estas intervenções terapêuticas conseguem, por um lado, alterar a história natural da doença, diminuindo o

aparecimento de novas sensibilizações, mas também evitam novas exacerbações de doenças alérgicas e a progressão para outras doenças concomitantes.^{24,25} Sendo considerada, de momento, a única terapêutica verdadeiramente modificadora da patologia alérgica²⁶ e, tendo em conta a elevada prevalência e morbilidade das doenças alérgicas a nível mundial, é importante o estudo e a procura da implementação destas estratégias terapêuticas, para que se obtenha um tratamento eficaz das doenças alérgicas e uma melhoria da qualidade de vida dos doentes alérgicos.

Nesta revisão, sumariamos a informação existente na literatura sobre a origem, o desenvolvimento e funções das pDC's no estabelecimento e modulação da resposta imunitária em diversos contextos; a heterogeneidade das pDC's, o seu papel distinto e implicação na fisiopatologia de diversas patologias; o impacto das pDC's nos mecanismos fisiopatológicos das doenças alérgicas, focando em detalhe a asma, a rinite alérgica, a dermatite atópica e as alergias alimentares; e sublinhando a importância da utilização das pDC's na terapêutica das doenças alérgicas, recorrendo à técnica de imunoterapia subcutânea e sublingual, de forma a modular o sistema imune nas doenças alérgicas e melhorar a qualidade de vida destes doentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Metodologia de pesquisa

Esta revisão da literatura foi elaborada com base em pesquisa bibliográfica efetuada nas bases de dados da Embase e Pubmed (MEDLINE). Entre julho e novembro de 2021 foi realizada a pesquisa bibliográfica utilizando as seguintes palavras-chave (MESH terms): “Plasmacytoid dendritic cells”, “Immune response”, “Hypersensitivity”, “Allergic diseases” e “Sublingual immunotherapy”. Destas palavras-chave e das várias combinações entre si, foi estabelecida a estratégia da pesquisa e definidas as equações de pesquisa (tabela 1).

A pesquisa foi realizada de forma a investigar o efeito das células dendríticas plasmocitóides na patologia alérgica, tendo, para isso, sido utilizados os seguintes critérios de inclusão: a língua, português e inglês; a data de publicação, tendo sido a pesquisa limitada aos últimos 20 anos; e o tipo de artigo utilizado, onde foram considerados artigos originais, revisões narrativas, revisões sistemáticas, meta-análises, ensaios clínicos controlados e randomizados e normas de orientação clínica. A seleção dos artigos foi executada de acordo com a sua atualidade e pertinência para o tema escolhido.

Tabela 1 – Equações de Pesquisa utilizadas nas bases de dados.

"plasmacytoid dendritic cell"[All Fields] AND ("hypersensitiveness"[All Fields] OR "hypersensitivity"[MeSH Terms] OR "hypersensitivity"[All Fields] OR "hypersensitive"[All Fields] OR "hypersensitivities"[All Fields] OR "hypersensitization"[All Fields] OR "hypersensitize"[All Fields]) AND ("allergie"[All Fields] OR "hypersensitivity"[MeSH Terms] OR "hypersensitivity"[All Fields] OR "allergies"[All Fields] OR "allergy"[All Fields] OR "allergy and immunology"[MeSH Terms] OR ("allergy"[All Fields] AND "immunology"[All Fields]) OR "allergy and immunology"[All Fields])
"plasmacytoid dendritic cell"[All Fields] AND ("immunotherapy"[MeSH Terms] OR "immunotherapy"[All Fields] OR "immunotherapies"[All Fields] OR "immunotherapy s"[All Fields]) AND ("allergie"[All Fields] OR "hypersensitivity"[MeSH Terms] OR "hypersensitivity"[All Fields] OR "allergies"[All Fields] OR "allergy"[All Fields] OR "allergy and immunology"[MeSH Terms] OR ("allergy"[All Fields] AND "immunology"[All Fields]) OR "allergy and immunology"[All Fields])
("dendritic cells"[MeSH Terms] OR ("dendritic"[All Fields] AND "cells"[All Fields]) OR "dendritic cells"[All Fields] OR ("plasmacytoid"[All Fields] AND "dendritic"[All Fields] AND "cell"[All Fields]) OR "plasmacytoid dendritic cell"[All Fields]) AND ("hypersensitiveness"[All Fields] OR "hypersensitivity"[MeSH Terms] OR "hypersensitivity"[All Fields] OR "hypersensitive"[All Fields] OR "hypersensitivities"[All Fields] OR "hypersensitization"[All Fields] OR "hypersensitize"[All Fields]) AND ("sublingual immunotherapy"[MeSH Terms] OR ("sublingual"[All Fields] AND "immunotherapy"[All Fields]) OR "sublingual immunotherapy"[All Fields])

REVISÃO

As células dendríticas plasmocitóides (pDC's): origem, desenvolvimento e funções

As células dendríticas (DC's) são células do sistema imunitário inato que têm um papel fundamental na detecção de patógenos e no estabelecimento de uma resposta imunitária adaptativa adequada para a defesa do organismo. Estas células têm vindo cada vez mais a ser estudadas e, para além das clássicas cDC's, tem surgido um novo subtipo de DC's, as pDC's, muito associadas a mecanismos de defesa contra vírus, mas também ao desenvolvimento de patologias como as doenças autoimunes, alérgicas e até mesmo cancro.⁹ Denominadas de células plasmocitóides pela sua morfologia celular semelhante a plasmócitos, as pDC's distinguem-se das cDC's pelo seu fenótipo, localização nos tecidos, produção de citocinas e pelas funções executadas na apresentação antigénica e modulação da resposta adaptativa.⁵ Em condições de homeostasia, as cDC's são células especializadas em identificar e apresentar antígenos às células T, podendo ser divididas em cDC1 e cDC2, com funções distintas, e que expressam os fatores de transcrição *IRF8* e *IRF4*, respetivamente.²⁷ Por outro lado, as pDC's são células únicas capazes de produzir grandes quantidades de IFN-I em resposta a infeções virais. Isoladas de tonsilas humanas e células mononucleares sanguíneas, pela primeira vez em 1997, Grouard e os seus colegas mostraram que as pDC's têm a capacidade de maturar, adquirir uma morfologia de DC e estimular células T, levando ao desenvolvimento de uma resposta imunitária adaptativa.²⁸ Por outro lado, a sua função *major* em produzir IFN-I, perante uma estimulação viral, permitiu que estas células passassem a ser denominadas de células naturalmente produtoras de IFN-I (CPI).²⁹ O estudo destas células levou a um progresso enorme no conhecimento da biologia, da heterogeneidade das pDC's e da sua regulação transcricional, e no estudo das funções destas células na resposta imunitária antiviral e no seu envolvimento em diversas patologias.¹

Atualmente, sabe-se que as pDC's expressam concomitantemente marcadores linfóides e mielóides no seu fenótipo celular.³⁰ Imensos estudos, sobre a origem e desenvolvimento destas células, têm tentado demonstrar ao longo dos anos a existência de um progenitor mielóide na origem das pDC's. No entanto, descobertas recentes apontam para a existência de uma origem linfóide para estas células, sendo que a sua caracterização fenotípica e transcricional tem demonstrado a existência de marcadores linfocíticos e também genes característicos da linhagem linfocítica como *B220*, *transferase deoxinucleotidil terminal (TdT)*, recetor da interleucina 7 (IL-7R) e *gene ativador da recombinação 1 (Rag1)* (Fig. 1).^{27,30,31} No entanto, embora as pDC's maduras aparentem ter uma origem unicamente linfóide, não se consegue descartar uma

possível origem mieloide para estas células, uma vez que a expressão de marcadores mielóides pelas pDC's existe e é partilhada também pelas cDC's, sendo a sobrevivência de ambas dependente da interação do recetor tirosina cinase 3 *Fms-like* (*FLT3*) com o seu ligando (*FLT3L*), o que sugere um desenvolvimento semelhante para os dois subtipos de DC's.^{32,33} Para além disso, as cDC's e pDC's não só partilham esta dependência pela interação *FLT3-FLT3L*, como também a expressão de vários fatores de transcrição, sugerindo terem mecanismos de regulação comuns.³⁴

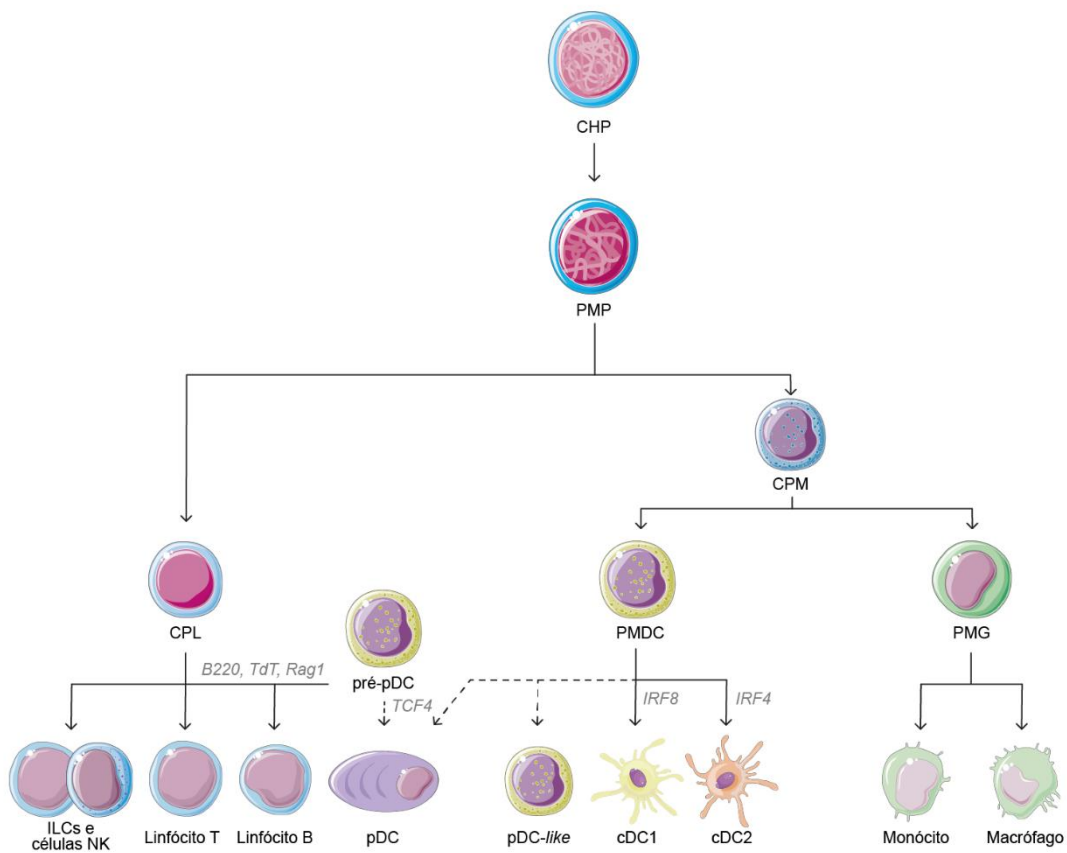


Figura 1 - Origem e desenvolvimento das células dendríticas plasmocitóides (pDC's). As pDC's aparentam ter uma origem linfóide por expressarem marcadores de células linfocíticas - *B220*, *transferase deoxinucleotidil terminal* (*TdT*) e *gene ativador da recombinação 1* (*Rag1*) – para além do fator de transcrição *TCF4*. Já as células dendríticas convencionais (cDC1 e cDC2) têm uma origem mieloide e expressam *IRF8* e *IRF4*. (CHP - Célula hematopoética; PMP - Progenitor multipotente; CPL - Célula progenitora linfóide; CPM - Célula progenitora mieloide; PMDC - Progenitor mieloide de células dendríticas; PMG - Progenitor de monócitos e granulócitos).

Do ponto de vista funcional, a caracterização das pDC's mostrou que a produção de grandes quantidades de IFN-I em resposta a partículas virais, comum a muitas outras células do sistema imunitário inato, se deva à ativação destas células com a consequente expressão de moléculas co-estimuladoras e ao desenvolvimento de uma resposta imunitária adaptativa pela ativação de células T, tal como acontece com as cDC's. No entanto, foram verificadas diferenças nos promotores dos dois subtipos celulares, sendo que as pDC's partilham o mesmo promotor que os linfócitos B, permitindo inferir a existência de um mecanismo de desenvolvimento de resposta com mais características comuns ao linfóide do que ao mieloide.³³ Outra característica funcional das pDC's é que estas parecem existir em quantidade significativa no sangue, quando comparadas com as cDC's, que migram dos tecidos periféricos para órgãos linfoides secundários aquando da identificação de antígenos. Perante a identificação de um antígeno, as pDC's presentes nos órgãos linfoides secundários parecem ser recrutadas para os tecidos infetados ou inflamados, tal como acontece com os monócitos e as células T, sendo que vários estudos têm vindo a mostrar que estas células partilham o mecanismo de sinalização celular e parte do equipamento do recetor de célula B (BCR) com os linfócitos B.^{35,36} Adicionalmente, há um estudo que demonstra que a formação de pDC's a partir de uma célula progenitora linfocítica está dependente da produção de IFN-I mediada pela regulação de *FLT3*, que parece ter um papel fundamental na diferenciação das pDC's.³⁷ A similaridade com as células linfóide inatas (ILC) pela dependência da interação *FIT3-FIT3L*, permite pressupor que as pDC's possam ser um subtipo de células linfóide inatas, produtoras de IFN-I.³⁸ Estudos subsequentes também mostraram que o fator de transcrição *STAT3* é essencial para a formação de pDC's e que a deleção deste fator de transcrição leva a uma redução de todos os subtipos de DC's.² O *STAT3* estimula a expressão de *FIT3L*, sugerindo ser essencial no mecanismo molecular para a regulação da geração de pDC's.³⁹ No entanto, este fator de transcrição não parece estar associado à produção de cDC's.

Embora seja considerado controverso, todas estas características e diferenças nas propriedades funcionais das cDC's e pDC's não permitiram concluir definitivamente uma origem linfóide para as pDC's, até ao momento.³⁰ Por outro lado, a identificação, por vários autores, de células *pDC's-like*, células do baço semelhantes a pDC's que partilham várias semelhanças com as cDC's, pode ser uma das razões pela qual ainda não se conseguiu entender completamente o desenvolvimento e a origem das pDC's.²⁷ O que parece acontecer é a existência de dois subtipos de pDC's, em que um dos subtipos se desenvolve a partir de células progenitoras linfóide *IL-7R⁺* e o outro subtipo é semelhante às cDC's, tendo uma origem comum num progenitor mieloide de células dendríticas. Ambos os subtipos têm a capacidade de produzir IFN-I, mas apenas as pDC's com origem mieloide vão ter ações semelhantes às cDC's no

processamento e apresentação antigénica.²⁷ Outros estudos mostraram que a expressão de *TCF4* e *IRF8* também parece ser essencial para o desenvolvimento e funções das pDC's, no entanto, ainda não se sabe quais as suas funções durante o desenvolvimento e como é que estes fatores de transcrição integram a rede de regulação das pDC's.³⁰ Molecularmente, sabe-se que o desenvolvimento das pDC's depende da expressão do fator de transcrição *TCF4* e que, para além da haploinsuficiência originar um síndrome de *Pitt-Hopkins* devido ao não desenvolvimento das pDC's, estudos em animais mostraram que o défice de *TCF4* é incompatível com a vida, o que nos leva a pensar que este é um mecanismo importante de desenvolvimento conservado entre espécies.²⁷

As pDC's desenvolvem-se na medula óssea e são, conseqüentemente, libertadas na corrente sanguínea.⁴⁰ No entanto, a sua distribuição para os tecidos periféricos é significativamente diferente da efetuada pelas cDC's. As cDC's alojam-se nos tecidos periféricos e tornam-se células residentes que migram para os órgãos linfoides secundários em caso de ativação. Já as pDC's, migram diretamente pelo sangue até zonas ricas em linfócitos T, órgãos linfoides secundários⁴⁰, sendo que, em condições normais, as pDC's são difíceis de encontrar em tecidos periféricos, como é o caso da pele e das mucosas. Embora seja rara a presença destas células nos tecidos periféricos em homeostasia, estudos mostraram que as pDC's se encontram em abundância no intestino e no rim, sendo que a migração parece ser controlada pelo recetor de quimiocinas *CCR9* tanto em condições normais, como em estados inflamatórios.^{41,42} Por outro lado, perante infeções virais e outras patologias como doenças autoimunes ou outras doenças inflamatórias, são encontrados números elevados de pDC's ao nível dos tecidos, evidenciando que as pDC's têm uma ação importante no mecanismo fisiopatológico destas doenças.

Ações das pDC's na regulação do sistema imune

As pDC's são células sentinela do sistema imunitário, que representam até cerca de 1% das células sanguíneas circulantes, e são consideradas únicas pela sua produção rápida e maciça de IFN-I, aquando da deteção de diversos patógenos.¹ Estas células são uma população rara de células circulantes que expressam seletivamente *Toll-like receptor* (TLR)7 e TLR9 e, aquando do reconhecimento de ácidos nucleicos de vírus ou de complexos com ácidos nucleicos derivados do hospedeiro, produzem grandes quantidades de IFN-I, levando ao desenvolvimento de uma resposta imunitária robusta com a ativação de cDC's, linfócitos T, células *natural-killer* (NK) e linfócitos B.⁵ Perante a ativação destas células, as pDC's também têm a capacidade de se diferenciarem em DC's maduras e contribuir para o estabelecimento de uma resposta imunitária adaptativa pela ativação de linfócitos T. No entanto, uma desregulação destes mecanismos de proteção pode determinar efeitos patogénicos, sendo que as pDC's têm cada vez mais vindo a ser implicadas em mecanismos de várias doenças.³

As pDC's, ao serem ativadas, produzem grandes quantidades de IFN-I que limitam a propagação da infeção viral, mas também induzem múltiplos eventos celulares e moleculares cruciais para uma resposta imunitária eficaz contra vírus.²⁹ As pDC's humanas produzem vários tipos de IFN-I, como é o caso de IFN- α , IFN- β , IFN- τ , IFN- λ e IFN- ω , capazes de ativar cDC's imaturas e diferenciar monócitos em cDC's, de modo a produzir as citocinas IL-12, IL-15, IL-18 e IL-23 e induzir uma resposta imunitária Th1.^{43,44} Para além disto, a ação dos IFN-I ainda promove um aumento da apresentação antigénica a linfócitos T CD8⁺, levando à sua ativação e consecutiva expansão clonal, à ativação de células NK e à diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, com o desenvolvimento de uma resposta imune citotóxica e humoral.⁴⁵⁻⁴⁷ A expressão seletiva de TLR7 e TLR9, subtipos de TLR expressos nos compartimentos intracelulares, permite às pDC's detetarem especificamente genomas de vírus de RNA e DNA, aquando da endocitose do virião.^{48,49} A ativação do TLR7 e TLR9 pelos ácidos nucleicos dos vírus leva ao recrutamento do *MyD88* e ao desenrolar de uma via de sinalização que culmina com a transcrição de genes de IFN-I, necessários para o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz.⁴⁹ A capacidade destas células em reter DNA em endossomas, por grandes períodos de tempo, vem a permitir que haja uma ativação sustida destes mecanismos e uma produção de grandes quantidades de IFN-I em resposta à infeção pelo vírus.⁵⁰ Por outro lado, aquando da ativação destas células, outros fatores de transcrição são recrutados como é o caso do *nuclear factor-B* (NF-B), que determina a produção de citocinas pro-inflamatórias como o *tumor necrosis factor-alfa* (TNF- α) e a interleucina 6 (IL-6), importantes para o desenvolvimento de uma resposta

imune pró-inflamatória.⁵⁰ Para além disto, as pDC's também têm a capacidade de secretar quimiocinas que atraem células efectoras do sistema imunitário para o local de ativação.⁵¹ Curiosamente, as pDC's não ativadas também têm capacidade de induzir anergia celular em linfócitos T CD4⁺ e promover a produção de IL-10 pela interação do ligando co-estimulador induzido (ICOSL) com ICOS, expresso por células Tregs FoxP3⁺.^{52,53} Desta forma, as pDC's não ativadas têm mostrado ter um importante papel na tolerância imunológica periférica, sendo que, um fenótipo imaturo de pDC's, pode suprimir respostas inflamatórias contra alergénios, mediar a tolerância oral a antigénios alimentares ou até mesmo mediar a tolerância imunológica em enxertos induzindo células Tregs.^{54,55}

Dada a capacidade dos IFN-I, produzidos pela pDC's, desencadear uma vasta e robusta resposta imunitária, com a ativação de uma grande quantidade de células do sistema imunitário, é essencial existir um mecanismo de regulação para prevenir a existência de respostas excessivas que possam levar a danos no hospedeiro. Desta forma, as pDC's apresentam recetores à superfície capazes de regular a produção de IFN-I, denominados de *high-affinity Fc receptor for IgE (FcεRI)*, que, ao serem ativados, suprimem a capacidade das pDC's produzirem IFN-I aquando do estímulo dos TLR's.⁵ Estes mecanismos de autorregulação são muito importantes para prevenir uma resposta imunitária excessiva e, aquando da sua desregulação, podem levar a alterações da homeostasia e a diversas patologias.

A heterogeneidade das pDC's prende-se com o facto de que estas células, perante o mesmo estímulo, podem adquirir funções diferentes e destinos diferentes aquando da sua ativação.¹ Enquanto pDC's ativadas, são capazes de produzir citocinas e/ou promover a apresentação antigénica, podendo estes mecanismos ser realizados consecutivamente pela mesma célula ou por células diferentes com destinos diferentes.⁵⁶ Estudos anteriores mostraram que a ativação das pDC's e a produção maciça de IFN-I leva à apoptose destas células, sendo que as sobreviventes são as que adquirem a capacidade de apresentação antigénica e regulam o sistema imunitário, levando ao desenvolvimento de uma resposta imunitária adaptativa.⁵⁷ Para além da ação autócrina e parácrina destas células, alguns estudos sustentam a importância das interações intercelulares na regulação da resposta imunitária, sendo que, parece haver uma integração de múltiplos mecanismos e processos celulares da autorregulação e regulação da resposta imunitária pelas pDC's.¹ Por exemplo, a apresentação cruzada de antigénios pelas pDC's necessita da ação das cDC's, para as quais transfere antigénios recorrendo a exossomas. Desta forma, as pDC's adquirem a capacidade de ativar linfócitos T CD8⁺, por mecanismos de apresentação cruzada, desenvolvendo uma resposta citotóxica adequada.⁵⁸

Impacto das pDC's em diversas patologias

As pDC's têm um papel essencial na regulação da resposta imunitária, sendo que, por esse mesmo motivo, estas células têm vindo a ser implicadas nos mecanismos de iniciação e desenvolvimento de várias doenças inflamatórias, autoimunes e até mesmo no cancro.⁹ No entanto, apesar da complexidade da interação das pDC's com as restantes células do sistema imunitário, estratégias terapêuticas baseadas na sua modulação poderão vir a constituir um novo potencial terapêutico importante em diversas patologias.

O papel das pDC's nas infeções

A heterogeneidade e o papel diversificado das pDC's perante uma infeção permitem que estas células respondam de forma distinta a infeções víricas, bacterianas e fúngicas. No que toca às infeções víricas, a resposta aguda antiviral, com a produção de grandes quantidades de IFN-I, permite que haja uma inibição da replicação viral e uma prevenção da disseminação da infeção, como acontece, por exemplo, no caso de infeção por *herpes simplex*.⁵⁹ Para além da ação na resposta antiviral local, a produção de IFN-I também induz uma resposta inata e adaptativa, desencadeando a ativação de linfócitos T CD4⁺ com o desenvolvimento de uma resposta Th1 e a indução de células Tregs.³ No entanto, no caso de infeções víricas crónicas, como é o caso da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), vírus da hepatite B (VHB) e vírus da hepatite C (VHC), diversos estudos mostram que há uma redução das pDC's circulantes e estas células deixam de ter a capacidade de controlar a disseminação da infeção, adquirindo esta um carácter crónico e sistémico.^{34,60,61} Desta forma, constata-se que, enquanto as pDC's são essenciais na resposta antiviral aguda, no caso de infeções crónicas o seu papel é mais reduzido, podendo contribuir para a progressão da infeção pelo recrutamento de células T e pela promoção do desenvolvimento de células Tregs.^{62,63} A quantidade de IFN-I induzida perante determinado vírus, parece ser crucial para determinar uma resposta imunitária antiviral eficaz *versus* o desenvolvimento de uma infeção crónica.

No caso das infeções bacterianas, as bactérias são capazes de desencadear a ativação das pDC's, sendo que a secreção de IFN-I parece ter um impacto negativo e deletério em algumas infeções, como é o caso das infeções por micobactérias.⁶¹ No entanto, as pDC's são capazes de reconhecer e responder a bactérias gram positivas e gram negativas, com um aumento da expressão de moléculas co-estimuladoras e com a produção de IFN-I.⁶⁴ Por exemplo, no caso de

Staphylococcus aureus, as pDC's conseguem interagir diretamente com os linfócitos B e induzir a produção de IL-10.⁶⁵ No entanto, apesar de as pDC's também influenciarem a resposta imune inata e adaptativa perante uma infecção bacteriana, ainda não se sabe qual o seu verdadeiro impacto na resolução da infecção.

Vários estudos também têm sublinhado o papel das pDC's nas infecções fúngicas, como é o caso da infecção por *Aspergillus fumigatus*, em que as pDC's desenvolvem uma resposta protetora com a produção de IFN-I e TNF- α , mas também com a produção de calprotectina e lactoferrina, capazes de inibir o crescimento fúngico e, conseqüentemente, levar à morte do fungo.⁶⁵ Já no caso das infecções por parasitas, as pDC's não parecem ser ativadas em resposta a estas infecções, como é o caso da infecção por *Plasmodium falciparum*, mas ainda são necessários mais estudos para clarificar o papel destas células nas infecções parasitárias.⁶⁵

Em conclusão, a regulação da imunidade inata e adaptativa das pDC's é complexa e depende do tipo de infecção, sendo que estas podem ter efeitos benéficos ou deletérios dependendo da infecção, do microorganismo presente, do tempo e do local da infecção.

O papel das pDC's nas doenças autoimunes

As pDC's têm uma ação fundamental na autoimunidade, sendo que a sua capacidade de produzir grandes quantidades de IFN-I sustenta a sua potencial implicação em doenças como o lúpus eritematoso sistêmico (LES).⁶⁶ No LES, a presença de autoanticorpos e complexos imunes circulantes formados com ácidos nucleicos do hospedeiro induzem a ativação das pDC's e a secreção de IFN-I, que contribuem para o aumento da inflamação sistêmica e a patologia da doença.⁶⁷ Já no caso da psoríase, as pDC's são recrutadas para as placas existentes na pele por quemerinas, expressas por outras células imunitárias, e a ativação das pDC's pelo TLR9 é que induz a secreção de IFN-I, que leva ao agravamento da inflamação a nível local com o recrutamento de mais células imunitárias.⁶⁸ Por outro lado, nestas patologias, para além de uma desregulação da imunidade inata, também parece haver uma desregulação da imunidade adaptativa por uma excessiva ativação de linfócitos T pelas pDC's. Por todos estes mecanismos, a ação das pDC's leva a uma quebra na tolerância aos antígenos do hospedeiro e a uma exacerbação das patologias autoimunes, tal como acontece no Síndrome de Sjögren, na Dermatomiosite, na Artrite Reumatóide e na Esclerose Sistêmica, sendo, cada vez mais, as pDC's consideradas um importante alvo terapêutico no tratamento das doenças autoimunes.^{69,70}

O papel das pDC's no cancro

No microambiente tumoral, a presença de citocinas anti-inflamatórias produzidas pelas Tregs, como é o caso da IL-10 e *tumor growth factor-beta* (TGF- β), conseguem induzir um estado tolerogénico nas pDC's que contribui para a geração de mais células Tregs e a um ambiente mais anti-inflamatório, propenso ao crescimento tumoral. Estudos anteriores mostram que a produção de IFN-I pelas pDC's e a existência destas células no microambiente tumoral, pode significar que as pDC's têm um papel importante no combate ao cancro, como, por exemplo, no caso do melanoma.⁷¹ No entanto, no microambiente tumoral, as pDC's têm uma limitação na sua capacidade de produzir IFN-I perante uma estimulação via TLR, quando comparadas com as pDC's existentes no sangue ou nas tonsilas de indivíduos saudáveis. Esta incapacidade em produzir IFN-I parece estar associado ao fenótipo tolerogénico das pDC's que infiltram os microambientes tumorais e a uma diminuição da resposta imune antitumoral.^{71,72} A ação de várias moléculas como o TGF- β , TNF- α , IL-10, Prostaglandina E2 e IL-3 parecem também estar presente no microambiente tumoral e contribuir para a aquisição de um fenótipo tolerogénico pelas pDC's, sendo que, no caso do TGF- β e da IL-10, se gera um *loop* parácrino entre as pDC's e a Tregs.³ Outro mecanismo que parece reduzir a ação das pDC's no microambiente tumoral é a diminuição da expressão de TLR9 à superfície das células, induzida pelo tumor.⁷³ Por outro lado, para além do efeito tolerogénico das pDC's, alguns estudos mostram que as pDC's presentes no microambiente tumoral também podem ter um efeito citotóxico sobre as células tumorais pela secreção de Granzima B e pela interação *Fas-Fas* ligando, sendo que a estimulação destas células poderá vir a constituir um bom alvo terapêutico na imunoterapia tumoral.^{74,75} No entanto, na maior parte dos estudos, as pDC's parecem ter um efeito pró-tumoral pela indução das células Tregs, uma vez que tumores onde existem elevados níveis de pDC's estão associados a um pior prognóstico, como é o caso do melanoma.⁷¹ Perante isto, as pDC's aparentam ser alvos terapêuticos interessantes a ser explorados no contexto da imunoterapia. No entanto, são necessários mais estudos específicos em vários tipos de cancros e em vários estadios, de forma a perceber o efeito benéfico que a imunoterapia, com alvo nas pDC's, pode ter nos diferentes cancros.

O papel das pDC's nas doenças alérgicas

As pDC's têm também vindo a ser associadas ao desenvolvimento e exacerbação de doenças alérgicas do foro respiratório, como a asma e a rinite alérgica; do foro cutâneo, como a dermatite atópica e, ainda, do foro gastrointestinal, como é o caso das alergias alimentares. Aquando da desregulação dos mecanismos de resposta imunitária, existe um aumento da inflamação alérgica associada a estas doenças e ao desenvolvimento de um estado inflamatório de cronicidade. No entanto, o papel das pDC's nas diversas doenças alérgicas ainda permanece algo controverso, uma vez que há estudos que mostram que as pDC's podem induzir uma resposta inflamatória Th2, contribuindo para a alergia, enquanto outros mostram o efeito benéfico destas células nas doenças alérgicas, aquando da indução de tolerância pela ativação de células Tregs.³ Outros estudos ainda mostram que a quantidade de pDC's existentes nos tecidos e no sangue é importante e que estas células poderão ter um papel essencial nas alergias alimentares, uma vez que estão presentes em menor quantidade nestes doentes, implicando um papel importante das pDC's em mecanismos de tolerância intestinal.⁷⁶

Em doentes alérgicos, as pDC's são recrutadas para a mucosa nasal, pulmões ou outros tecidos e estão envolvidas no estabelecimento de uma resposta alérgica, caracterizada por uma polarização Th2, uma produção de imunoglobulina (Ig)E induzida pelo alergénio e um mecanismo de hipersensibilidade mediado por IgE com ativação de basófilos e FcεRI/II.^{77,78} Por outro lado, em crianças com atopia, uma redução relativa das pDC's circulantes parece constituir um fator de risco para o desenvolvimento de asma no futuro.⁷⁸ Curiosamente, em indivíduos saudáveis, a produção de IFN-I pelas pDC's diminui a produção de citocinas da resposta Th2 instituída aquando duma infeção vírica, como é o caso do rinovírus.⁷⁹ Este mecanismo de regulação negativa entre IFN-I e a resposta Th2 parece estar deletado na patologia alérgica, sendo esta uma possível explicação da existência de exacerbações de asma perante uma infeção viral.⁸⁰

No geral, a maioria dos estudos sugere um papel patológico das pDC's nas doenças alérgicas por um mecanismo de indução de resposta imune Th2, aquando da desregulação da resposta imunitária. No entanto, outros estudos sugerem que a indução de células Tregs pelas pDC's pode constituir um efeito protetor destas células nas patologias alérgicas. Desta forma, é importante rever os mecanismos de ação destas células nas diversas patologias alérgicas e otimizar as estratégias terapêuticas, tendo como alvo as pDC's para o tratamento destas patologias.

As pDC's e a sua implicação nas doenças alérgicas

As doenças alérgicas (asma, rinite alérgica, dermatite atópica e alergias alimentares) são patologias que partilham fatores de risco e mecanismos inflamatórios comuns, muito relacionados em parte com fatores ambientais.⁸¹ No entanto, a caracterização das diferentes patologias alérgicas e a caracterização fisiopatológica das doenças singularmente, é essencial para melhorar as estratégias terapêuticas de forma mais adequada e específica para cada patologia.

Devido à grande heterogeneidade das pDC's e à sua capacidade de gerar respostas imunitárias diferentes consoante o tempo, o local em que se encontram e a sua interação com o ambiente em que se integram, é fundamental que se esclareça o contributo destas células nos mecanismos fisiopatológicos das diferentes patologias alérgicas (Fig. 2). Desta forma, identificado o papel das pDC's na ação e modulação da imunopatogenicidade das doenças alérgicas, podem ser investigadas e implementadas novas estratégias terapêuticas.

Asma

A asma é uma doença inflamatória crónica das vias aéreas inferiores que afeta quase 300 milhões de pessoas em todo o mundo e nenhum tratamento, de momento, é capaz de curar a doença.¹⁶ Esta patologia, caracterizada por uma hiperreactividade das vias aéreas inferiores, leva a um processo crónico de aumento da produção de muco, de obstrução e de remodelação da via aérea, que determina o aparecimento de sintomas clássicos da doença como dispneia, sibilância, tosse e aperto torácico.

Em homeostasia, o sistema respiratório está em contacto permanente com o ambiente, sendo, desta forma, necessário subsistir a capacidade de desenvolver uma resposta imunitária robusta, tanto inata como adaptativa, de forma a combater patógenos que possam advir do exterior. As células epiteliais das vias respiratórias, presentes no microambiente pulmonar, têm também um papel fundamental na primeira de defesa do hospedeiro, induzindo uma resposta imunitária adequada e comunicando com outras células do sistema imunitário para reforçar e tornar mais eficiente essa mesma resposta. No entanto, a resposta inflamatória alérgica crónica, associada à asma, é considerada uma resposta excessiva, com ativação aberrante da resposta Th2, perante alérgenos ambientais, considerados inócuos em indivíduos saudáveis.⁸² Para além disto, o recrutamento de células imunes inatas, levam à perpetuação desta resposta alérgica, com a libertação de mediadores anti-inflamatórios, que determinam um aumento da inflamação alérgica das vias respiratórias e o desenvolvimento da patologia crónica.

Em doentes com asma, múltiplos estudos têm vindo a mostrar que as ações das pDC's e o número de células em circulação estão alteradas, quando comparados com indivíduos saudáveis.⁸³ A diminuição do número de pDC's circulantes durante a infância e, consequentemente, a inibição da produção de IFN- α são considerados fatores de risco importantes para o aparecimento de doença respiratória severa, perante infeções víricas estimadas como banais para indivíduos saudáveis.^{12,84} Para além disto, uma disfunção destas células também parece estar associada a uma desregulação da resposta imunitária com um prolongamento da inflamação alérgica das vias aéreas. Por exemplo, nos asmáticos, as pDC's sobre-expressam Fc ϵ RI de forma inversamente proporcional à sua capacidade de produzir IFN-I, o que, aquando da ligação de Fc ϵ RI a IgE, leva à supressão da atividade antiviral das pDC's e a um aumento do risco de exacerbações de asma nestes doentes.^{14,85,86} Perante isto, é compreensível que a utilização de um anticorpo monoclonal que se ligue à IgE, bloqueando a sua ação, determine uma diminuição das exacerbações da asma.⁸⁶ O *omalizumab* tem mostrado ser eficaz em doentes com asma alérgica severa, devido à sua capacidade de diminuir a inflamação mas também pela sua habilidade inesperada em restaurar a síntese de IFN-I pelas pDC's.¹⁶

A produção de IFN- α pelas pDC's é um importante mecanismo de resposta antiviral, mas também de supressão de linfócitos Th2 de memória e das ILC2.²⁰ Nos doentes asmáticos, parece existir uma limitação da estimulação das pDC's via TLR-7 e uma redução na produção de IFN- α , que leva a um defeito na resposta imunitária inata e a um aumento de suscetibilidade a infeções.⁸⁷ Os efeitos protetores das pDC's, mediados pela produção de IFN- α , modulam negativamente, no microambiente pulmonar, a secreção pelas células epiteliais de ligando de quimiocinas (*C-C motif*) (CCL)20, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) e IL-33⁸⁸, levando consequentemente à inibição do recrutamento de outras células do sistema imunitário, nomeadamente cDC2 e ILC2, responsáveis pela inflamação alérgica das vias aéreas e pela patogénese da doença.^{12,20} O papel das pDC's em suprimir a inflamação das vias aéreas e este *cross-talk* existente entre as pDC's e as células epiteliais respiratórias é essencial para manter a homeostasia nestes tecidos e prevenir uma resposta alérgica crónica, perante determinado alérgénio.⁸⁹ No entanto, uma inibição destes mecanismos de regulação, leva a um aumento da suscetibilidade para o desenvolvimento do perfil alérgico crónico das vias respiratórias dos doentes com asma, sendo estes mecanismos de doença considerados potenciais alvos terapêuticos moduladores em doentes com asma.^{20,88}

Nos últimos anos, também se tornou claro que a produção de IFN-III pelas pDC's também tem um efeito de inibição da replicação viral e a um aumento da resposta imune adaptativa citotóxica, contra as células infetadas por vírus. Para além disso, o IFN-III também induz a

proliferação de células Tregs e a inibe a produção de citocinas Th2, determinando mecanismos de tolerância central do hospedeiro.^{90,91} Relativamente à asma parece existir uma diminuição da produção de IFN-III, que se correlaciona com um aumento da gravidade da inflamação alérgica e com um aumento das exacerbações nestes doentes.¹⁶ Desta forma, a ação crítica das pDC's em induzir tolerância central pelas células Tregs e a sua capacidade de inibição da resposta alérgica Th2 e das ILC2 sustentam a necessidade de implementar linhas de investigação capazes de identificar novas estratégias no tratamento da asma alérgica.^{20,90,92}

Um conhecimento alargado sobre a biologia das pDC's e os seus contributos na patogénese da asma, tem vindo a aumentar nos últimos anos, sendo que, cada vez mais se criam novas estratégias terapêuticas utilizando como alvo as pDC's e os seus mecanismos de ação, de forma a melhorar a capacidade de defesa do hospedeiro perante infeções, diminuindo as exacerbações da asma e melhorando a regulação da inflamação alérgica existente nesta patologia. No entanto, é crucial o desenvolvimento destas novas estratégias terapêuticas de forma a melhorar o tratamento destes doentes e, consecutivamente, a sua qualidade de vida.

Rinite Alérgica

A rinite alérgica é a doença alérgica mais prevalente no mundo, afetando cerca de 400 milhões de pessoas no mundo, acarretando elevados custos diretos e indiretos para a sociedade. Esta doença é considerada, nos dias de hoje, uma patologia inflamatória crónica mediada por IgE, da mucosa nasal, que se desenvolve por uma desregulação da resposta imune perante alérgenos inalados e que é acompanhada por diversos efeitos adversos e uma diminuição da qualidade de vida destes doentes.⁹³ Os sintomas típicos incluem rinorreia, estertores, prurido nasal, congestão nasal e prurido ocular, se conjuntivite alérgica associada. Não havendo cura para esta patologia, a imunoterapia é o único tratamento considerado modificador da doença que melhora a qualidade de vida destes doentes.

A imunopatologia da rinite alérgica, semelhante à da asma alérgica, caracteriza-se por uma desregulação da resposta imunitária perante um alérgeno que ingressa nas vias respiratórias superiores, com a aquisição de uma resposta imunitária adaptativa Th2 e o recrutamento de outras células epiteliais e do sistema imunitário inato e adaptativo, que promovem a perpetuação da inflamação alérgica. Atualmente, sabe-se que as células CD4⁺ Th2 são as principais responsáveis pela produção das citocinas da resposta Th2, que vão desencadear o estabelecimento de uma resposta imunitária deletéria e levar ao aparecimento da inflamação alérgica das vias aéreas superiores, característica da rinite alérgica.⁹³ No entanto,

cada vez mais estudos têm mostrado que as ILC2 parecem ter um papel crítico na patogênese da rinite alérgica e, por vezes, parecem ainda ter um maior impacto no desenvolvimento da doença do que as células Th2.⁹⁴ As ILC2 têm a capacidade de produzir grandes quantidades de citocinas da resposta alérgica, como a IL-5, IL-9, IL-13 e também IL-4, em resposta às citocinas produzidas pelas células epiteliais, IL-25 e IL-33, perante a exposição ao alérgeno nas vias respiratórias superiores.⁹⁵⁻⁹⁷ Assim, tal como acontece na asma, verifica-se que altos níveis de ILC2 estão presentes no sangue de doentes com rinite alérgica e menores na mucosa das vias aéreas superiores, estando associados a uma maior severidade da doença.^{13,98}

Por outro lado, sabe-se que as DC's, presentes na mucosa nasal, têm uma ação importante na fisiopatologia da rinite alérgica, uma vez que estas células são as responsáveis pela polarização Th2, em resposta ao alérgeno, e pela regulação das ILC2.⁹⁹ No entanto, enquanto as cDC's induzem a resposta alérgica com a polarização da resposta Th2 e promoção da função das ILC2, pela produção de IL-33 e sobre expressão de *GATA-3*, as pDC's parecem atenuar a magnitude da resposta alérgica pela produção de IL-6 e supressão da ação das células ILC2, como também acontece nos indivíduos com asma e dermatite atópica.^{13,83,100,101} Estudos anteriores mostram que a ativação das pDC's diminuem a inflamação das vias respiratórias aquando da produção de IFN- α , suprimindo a função das ILC2 por diminuição da produção de citocinas por estas células e pela diminuição da sua taxa de proliferação.²⁰ Por outro lado, estudos de análise transcricional também mostram que, a ativação de mecanismos de regulação da ILC2 pelas pDC's, leva a uma melhoria da inflamação alérgica em doentes com rinite alérgica.²⁰

No caso de doentes com rinosinusite crónica, vários estudos têm mostrado que, tal como na terapêutica da asma, a ação de anticorpos anti-IgE, como o *omalizumab*, podem ter uma ação benéfica e melhorar o prognóstico destes doentes.¹⁰² A ação das pDC's em induzir células Tregs é restaurada pela ação do *omalizumab*, aquando da sua ligação à IgE, uma vez que esta molécula deixa de ter a capacidade de induzir a produção de TNF- α e de limitar a ação das pDC's.¹⁰² Por outro lado, tanto nos doentes com rinosinusite crónica como nos doentes com rinite alérgica, também parece haver uma alteração nas funções e nos níveis de células Tregs no microambiente da mucosa nasal, sendo estas células consideradas essenciais na regulação da inflamação das vias aéreas superiores e, consecutivamente, nestas doenças.¹⁰³ Desta forma, novas terapêuticas têm tentado modular estas populações celulares, de forma a regular a resposta imunitária e diminuir o estado inflamatório associado a estas doenças. Para além disso, uma vez que as DC's são a ponte entre a imunidade inata e adaptativa e são críticas no desenvolvimento ou combate à inflamação alérgica, todos estes mecanismos de regulação são considerados importantes alvos terapêuticos a modular, inovando a terapêutica da rinite alérgica no futuro.

Dermatite Atópica

A dermatite atópica é uma doença inflamatória crónica da pele que resulta de diversos fatores como a predisposição genética, defeitos da barreira da pele e a existência de uma resposta imune desregulada.¹⁰⁴ Vários genes podem estar associados a esta suscetibilidade genética, principalmente genes relacionados com a barreira epidérmica da pele, como é o caso gene da filagrina e genes de proteases específicas de proteínas da composição da pele.¹⁰⁵ Desta forma, a dermatite atópica pode ser complicada perante irritantes ou alergénios e alterações no microbioma da pele, que leva a uma exacerbação da gravidade da doença e pode complicar a doença pré-existente, como acontece no caso da dermatite de contacto alérgica e no eczema. O prurido é o principal sintoma desta patologia e, por vezes, tem impacto significativo na qualidade de vida destes doentes, sendo por isso importante melhorar as terapêuticas convencionais, uma vez que não existe cura para a doença. Doentes diagnosticados com dermatite atópica têm tendência a ter, mais tarde, manifestações outras doenças alérgicas, como alergias alimentares, asma e rinite alérgica, sendo o que se designa de marcha alérgica.¹⁰⁶

Na dermatite atópica, existe uma correlação estreita entre processos estruturais da barreira e alterações imunológicas associadas. Muitas alterações da pele são causadas por uma produção exagerada de citocinas Th2, como por exemplo IL-4 e IL-13, em resposta a alergénios ou irritantes que contactam com a pele destes doentes.²¹ A existência de uma resposta Th2 excessiva leva a um recrutamento de células do sistema imunitário para a pele e a uma remodelação ao nível dos nódulos linfáticos, verificando-se uma perturbação dos subtipos de DC's e um aumento da resposta alérgica Th2. Desta forma, vários estudos mostram que a preservação de um subtipo específico de DC's, as CD326⁺ DC's, é essencial para prevenir e atenuar a resposta alérgica na pele.²¹

Na dermatite atópica, as pDC's circulantes encontram-se em elevado número, enquanto que nas lesões da pele apenas são detetadas algumas pDC's, o que parece contribuir para a alta suscetibilidade destes doentes.¹⁰⁷ Esta desregulação parece estar associada a uma indução da apoptose das pDC's causada pela IL-4 da resposta Th2 e uma depleção destas células associada a uma disfunção das mesmas, leva a um aumento da predisposição destes doentes a infeções virais.¹⁰⁶

Por outro lado, tal como acontece noutras doenças alérgicas respiratórias, vários estudos mostram que as ILC2 também estão presentes em elevado número na pele de doentes com dermatite atópica e são responsáveis pela iniciação da resposta Th2.^{13,108} O mecanismo exato pelo qual estas células são ativadas ainda permanece em discussão, no entanto, a presença

destas células nos locais de inflamação da pele e a expressão de vários recetores associados à inflamação alérgica, como é o caso dos recetores de IL-25 e de IL-33, demonstram a influência destas células na patologia.¹⁰⁹ A ação das ILC2 em induzir a resposta Th2 leva ao aumento da produção de IL-4, IL-5 e IL-13, responsáveis pela estimulação da produção de anticorpos IgE pelos linfócitos B e pelo recrutamento de eosinófilos para os tecidos, levando a um aumento da inflamação alérgica e a danos na barreira epidérmica, como é o caso da redução da filagrina.¹⁰⁹ Estas lesões da epiderme levam ao desenvolvimento de novas respostas inflamatórias, à produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-25, IL-33 e *thymic stromal lymphopoietin* (TSLP) e ao desenvolvimento de nova resposta imune Th2, conduzindo a um ciclo inflamatório da resposta alérgica, característica da dermatite atópica.¹¹⁰

A alta expressão de FcεRI também está associada a um aumento da afeção da pele nestes doentes. As imunoglobulinas IgE produzidas pelos linfócitos B ligam-se ao FcεRI, levando a uma exacerbação da resposta inflamatória e ao dano da pele, podendo estar associado a uma maior gravidade da doença.¹¹¹

A patogénese da dermatite atópica envolve múltiplos mecanismos de desregulação da resposta imune aliados a defeitos da barreira da pele. Desta forma, a identificação de alvos nestes mecanismos, como as ações das pDC's, podem ser importantes para instaurar novos tratamentos para a doença.

Alergias Alimentares

As alergias alimentares são reações adversas a um antigénio alimentar específico que, aquando da sua ingestão na alimentação, leva à indução de mecanismos imunológicos e ao desenvolvimento de uma resposta alérgica.¹¹² Geralmente estes alergénios são considerados inócuos em indivíduos saudáveis, contrariamente a toxinas, patogéneos ou alguns aditivos alimentares que, após ingestão, podem desencadear sintomatologia gastrointestinal semelhante à ocorrida nas formas alérgicas. No entanto, o mecanismo fisiopatológico subjacente é diferente e, no caso das alergias alimentares, trata-se de um mecanismo mediado por IgE que leva ao desenvolvimento da patologia.¹¹³

Nos últimos anos, as alergias alimentares têm vindo a aumentar a sua prevalência no mundo e as suas manifestações são cada vez mais frequentes em todas as faixas etárias, incluído nos mais idosos.¹¹³ As variações ambientais e nutricionais parecem ser responsáveis pelas mudanças na epidemiologia destas doenças e, nos últimos anos, têm surgido novos síndromes de alergénios moleculares na dependência de reatividade cruzada. Por outro lado,

alterações na microbiota intestinal também parece ser um dos mecanismos de adaptação imunológica da mucosa intestinal importantes na aquisição de tolerância imunológica aos antígenos alimentares e que parece estar desregulado em doentes com alergias alimentares.¹¹² Desta forma, torna-se cada vez mais essencial conhecer os mecanismos fisiopatológicos por detrás da perda de tolerância e/ou sensibilização a alérgenos alimentares, de forma a promover estratégias terapêuticas inovadoras para abordar de forma personalizada estes doentes.

A fisiopatologia das alergias alimentares é caracterizada por uma reação de hipersensibilidade tipo I mediada por IgE a um determinado antígeno alimentar, que leva à quebra da tolerância do organismo e ao desenvolvimento de uma resposta alérgica Th2.¹¹⁴ A IgE liga-se aos recetores dos mastócitos e basófilos circulantes, induzindo a sua desgranulação e a síntese de moléculas vasoativas e mediadores inflamatórios como a histamina e, perante um segundo contacto com o alérgeno, desencadeia-se uma resposta imunológica intensa, com a desgranulação de células efectoras e a síntese de novos mediadores inflamatórios e citocinas como a IL-4, IL-5 e IL-13, características da resposta Th2.¹¹⁵ Esta resposta imunitária exagerada leva a um conjunto de sintomas, que podem abranger desde simples manifestações gastrointestinais até a uma reação anafilática. Enquanto numa fase inicial existe um controlo da resposta imunitária pelas células Tregs a nível local, numa fase mais tardia em que o alérgeno entra na corrente sanguínea, há uma quebra na tolerância e o desenvolvimento de uma resposta imunitária sistémica, com a produção de histamina, que pode levar a sintomas associados a outros órgãos, como é o caso da urticária e da asma.¹¹⁶

As pDC's possuem um papel fundamental nos mecanismos de tolerância imunitária no intestino, uma vez que estas células têm a capacidade de induzir a diferenciação de células Tregs na mucosa intestinal e transportar os antígenos até às placas de Peyer e aos nódulos linfáticos mesentéricos, permitindo a apresentação antigénica e produção de IgA pelos linfócitos B, mantendo a tolerância imunológica intestinal.^{19,76} No entanto, a resposta inflamatória exagerada e a indução das citocinas Th2 levam a uma diminuição das pDC's no intestino e a uma supressão das células Tregs, possibilitando uma exacerbação da resposta alérgica.¹¹⁷ As ILC2 são também células efectoras importantes nestes mecanismos de disrupção da tolerância imunológica, levando ao dano na barreira intestinal existente nestas patologias.¹¹⁸

Todos estes mecanismos levam a um ciclo vicioso de aumento da inflamação intestinal e de disrupção da barreira intestinal, facilitando a sensibilização alérgica a novos antígenos alimentares.

Em resumo, os mecanismos imunopatológicos são idênticos entre cada uma das manifestações fenotípicas da doença alérgica. Na caracterização do mecanismo principal, comum a todas as doenças abordadas, podemos reconhecer o desenvolvimento de uma reação de hipersensibilidade mediada por IgE, em contexto de perfil Th2 e o recrutamento de outras células inflamatórias que permitem o desenvolvimento e a perpetuação da resposta alérgica. As IgE produzidas ligam-se ao FcεRI, desencadeando uma exacerbação da resposta inflamatória e destas doenças. Tanto na asma, como na rinite alérgica, dermatite atópica e alergias alimentares, a ativação das ILC2 parece ser um fator comum para a manutenção e exacerbação da resposta, uma vez que as ILC2 têm a capacidade de produzir grandes quantidades de citocinas características da inflamação T do tipo 2, como a IL-4, IL-5 e IL-13, responsáveis pela estimulação da produção de anticorpos IgE. No entanto, no caso das alergias alimentares, as ILC2 ainda parecem ter uma ação direta que leva ao dano na barreira intestinal.¹¹⁹

A ação das pDC's é outro fator em comum, que parece ser essencial nos mecanismos de regulação da resposta nestas doenças, uma vez que as pDC's encontram-se aumentadas em circulação, mas diminuídas nas estruturas sede de inflamação alérgica. A sua ação supressora da resposta Th2 e das células ILC2 é mediada pela produção de IFN-α, aquando da ativação dos mecanismos de resposta antiviral-*like* das pDC's, sendo que estes mecanismos antivirais podem vir a constituir potenciais alvos terapêuticos para estas patologias. Os efeitos protetores das pDC's prosseguem na indução da proliferação de células Tregs, inibindo a resposta Th2 e induzindo mecanismos de tolerância imunológica no hospedeiro. Desta forma, podemos sustentar num papel protetor das pDC's na regulação da resposta inflamatória das doenças alérgicas.

No entanto, há particularidades interessantes de cada tipo fenotípico de doença que devem ser reforçados, como no caso da asma e da rinite alérgica, nas quais as células epiteliais do trato respiratório parecem ter um papel importante na indução da própria resposta alérgica. Por outro lado, no caso da dermatite atópica e das alergias alimentares parece existir uma correlação entre alterações imunológicas e a existência de processos de dano estrutural direto da barreira, nomeadamente da pele e do trato gastrointestinal. No caso da indução de tolerância imunológica intestinal, este processo também parece ser distinto e facilitado pela presença das placas de Peyer ao nível intestinal, tornando mais fácil o processo de apresentação antigénica e a produção de IgA, que também contribui e reforça o efeito tolerogénico das pDC's a nível intestinal.⁷⁶ Desta forma, é importante conhecer as semelhanças e diferenças nos mecanismos de patogenicidade destes fenótipos alérgicos, de forma a compreender e encontrar novos alvos terapêuticos e inovar no tratamento destes doentes.

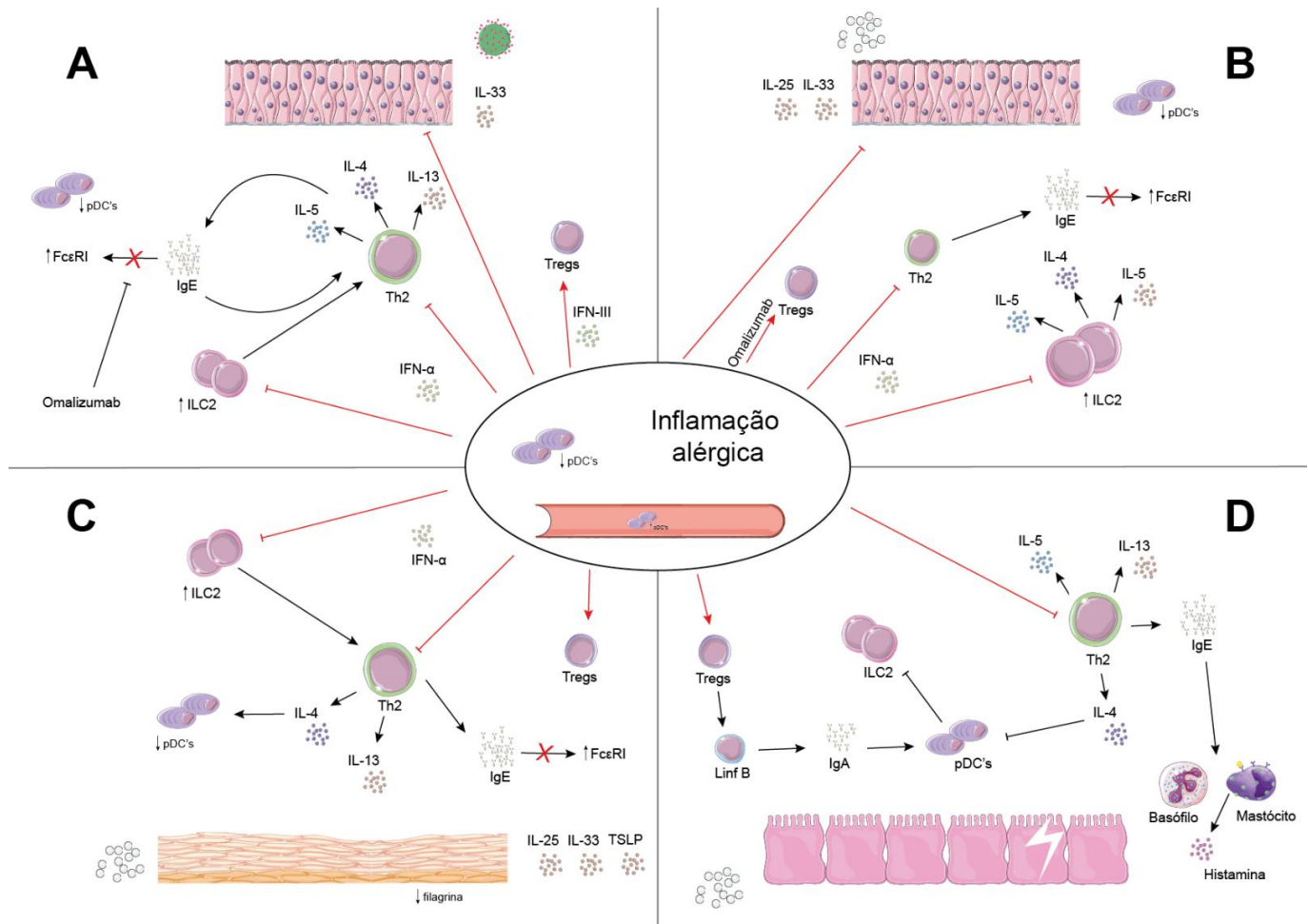


Figura 2 - **Implicação das pDC's na fisiopatologia das doenças alérgicas.** Na patologia alérgica, o processo imunoinflamatório está associado a um aumento dos níveis circulantes de pDC's e a uma diminuição das pDC's nas estruturas mucosas envolvidas. **A – Asma.** Num quadro de exacerbação de asma por uma infecção vírica, a ação das pDC's fica inibida e estas células deixam de modular a resposta imune Th2 e as ILC2, de produzir células Tregs e de inibir a secreção de moléculas pró-inflamatórias pelas células epiteliais. Desta forma, há uma ativação da resposta Th2 e uma síntese aumentada de IgE que, quando se liga ao FcεRI sobre-expressado nas pDC's, determina um quadro de resposta alérgica. No entanto, o *omalizumab* é um fármaco capaz de inibir a ligação da IgE e diminuir a inflamação alérgica existente. **B – Rinite Alérgica.** O contacto e posterior transmigração epitelial do alergénio nas vias respiratórias superiores, determina a libertação de IL-33 e IL-25 pelas células epiteliais, favorecendo uma resposta imunitária adaptativa Th2, com uma produção aumentada de IgE e um aumento significativo de ILC2. Estas células vão a ser cruciais na inflamação alérgica pela síntese acrescida de IL-4, IL-5, IL-13 e TSLP. Na rinite alérgica, para além de neutralizar a IgE, o *omalizumab* tem uma ação importante na facilitação da capacidade das pDC's em induzir células Tregs. **C – Dermatite Atópica.** O contacto e posterior transmigração epitelial do alergénio na pele induz uma produção de IL-25, IL-33 e TSLP pelas células epiteliais e uma indução de resposta Th2, aumento de ILC2 e produção de citocinas Th2 e IgE que vão lesar diretamente a barreira epitelial da pele, com implicações no processo de maturação da filagrina. As pDC's encontram-se em baixo número nas lesões da pele e perdem a sua capacidade de regular a resposta imunitária, diminuindo a resposta Th2 e induzindo a síntese de Tregs. **D – Alergias alimentares.** No caso da mucosa intestinal, a presença do alergénio leva a um desenvolvimento de uma resposta Th2, aumento das células ILC2 e a síntese de citocinas Th2 que levam a dano direto da mucosa. Estas citocinas induzem a produção de IgE pelos linfócitos B e inibem a ação das pDC's. Quando inibidas, estas células perdem a capacidade de induzir Tregs e de apresentarem os alergénios aos linfócitos B presentes nas placas de Peyer, diminuindo a síntese de IgA e, consecutivamente, a tolerância imunológica intestinal. A IgE produzida liga-se aos basófilos e aos mastócitos e induz a sua desgranulação e a produção de moléculas vasoativas como é o caso da histamina, que vai contribuir para a inflamação alérgica local e sistémica. (pDC's – células dendríticas plasmocitóides; ILC2 – células linfoides inatas do tipo 2; Th2 – “T helper” do tipo 2; Tregs – células T reguladoras; IL – interleucina; Ig – imunoglobulina).

Modulação das pDC's e da resposta imunitária com intuito terapêutico

Tal como se salientou anteriormente, as pDC's são células essenciais na regulação da imunidade inata e adaptativa e são responsáveis pela ativação e desenvolvimento de uma resposta imunitária eficaz, sendo que, quando a sua ação está desregulada, as implicações patogénicas são facilitadoras de patologia, como acontece nas doenças alérgicas. Desta forma, é fundamental compreender as implicações diretas das estratégias terapêuticas usando pDC's e da modulação da resposta imunitária, de forma a inovar no tratamento destas patologias.

A epidemiologia das doenças atópicas mostra que doenças como a asma, rinite alérgica e dermatite atópica estão intimamente associadas a infeções virais, sendo que estas infeções desenvolvem ou exacerbam as doenças alérgicas pré-existentes. Desta forma, a modulação de mecanismos antivirais do sistema imunitário, pode coadjuvar o tratamento destas doenças alérgicas.¹²⁰ O ambiente inflamatório existente nestas patologias, parece induzir respostas antivirais deficientes, sendo este um ponto que contribui de forma semelhante para a patogénese destes distúrbios. Assim, embora não haja estratégias terapêuticas para prevenir o desenvolvimento de exacerbações induzidas para a maioria dos vírus, diversos estudos começam a mostrar que induzindo os mecanismos antivirais do hospedeiro, seja possível poderá otimizar o tratamento e a prevenção das doenças alérgicas. Por exemplo, a utilização de mecanismos de inibição da ação da IgE, como a utilização do anticorpo monoclonal *omalizumab*, mostrou reduzir as exacerbações de asma, rinite alérgica e dermatite atópica.¹²¹ Por outro lado, o *omalizumab* também parece restaurar a resposta antiviral e a produção de IFN- α pelas pDC's, levando a uma diminuição das exacerbações da asma com uma diminuição dos sintomas e do período sintomático da exacerbação.¹²² No caso da asma grave, outros fármacos biológicos também têm vindo a ser aprovados, tendo como alvos o IL-4R, a IL-5 e o IL-5R.¹²³ No caso da dermatite atópica, o primeiro fármaco biológico aprovado, o *dupilumab*, tem como alvos terapêuticos o IL-4R e o IL-13R, mas outros alvos, nomeadamente os anticorpos anti IL-13 *tralokinumab* e *lebrikizumab*, do anticorpo anti IL-31R *nemoluzumab* e do anticorpo anti IL-33 *etokimab*, estão em ensaios e poderão vir a resultar em novas opções de tratamento eletivo.^{124,125} Para além destes novos fármacos, no caso da asma, rinite alérgica e dermatite atópica, outras linhas de investigação pretendem identificar outras vias, tendo-se demonstrado que o bloqueio na via de sinalização IL-33/ST2 parece ser uma intervenção terapêutica promissora, uma vez que

este mecanismo está associado à indução de eosinofilia e a exacerbação da doença nestes doentes.⁸⁸

Diversos estudos também mostram que reforçar a resposta antiviral do hospedeiro com moléculas agonistas, como é o caso do IFN- β , pode diminuir as exacerbações graves no caso dos doentes asmáticos.¹²⁶ Para além disto, novas estratégias terapêuticas têm surgido de forma a reforçar os mecanismos de resposta antiviral do hospedeiro, como é o caso da utilização de agonistas de TLR-9 e TLR-7.^{120,127} No caso da rinite alérgica, a utilização de um ligando CpG do TLR-9, determina um incremento da resposta imunitária antiviral e à diminuição de sintomas de rinoconjuntivite, melhorando a qualidade de vida destes doentes.¹²⁸ Já a utilização de agonistas do TLR-7 leva à diminuição de sintomas de rinite alérgica, aumento da expressão de genes da resposta antiviral e aumento da resposta Th1.¹²⁹ Apesar de ainda não se saber como é que estes tratamentos vão afetar as exacerbações das doenças alérgicas, a utilização destas novas opções terapêuticas, para induzir a resposta antiviral do hospedeiro, parecem ser muito promissoras.

As ILC2 têm vindo cada vez mais a ser implicadas nos mecanismos fisiopatológicos das doenças alérgicas como a asma, a rinite alérgica, a dermatite atópica e as alergias alimentares. No entanto, uma regulação apertada destas células poderá modificar a fisiopatologia das doenças alérgicas, podendo estas células vir a constituir um importante alvo terapêutico no tratamento destes doentes.⁹⁹ Nestas doenças, existe um aumento do número de ILC2 a nível local, que se correlaciona com a gravidade da doença.^{95,130} No entanto, uma ativação das pDC's por agonistas TLR-7 e TLR-8 precipita um aumento da produção de IFN- α e a uma supressão da inflamação alérgica Th2 mediada por ILC2, essenciais para a modulação da inflamação alérgica nestes doentes.²⁰ A ação das pDC's parece suprimir diretamente a proliferação, a sobrevivência e a produção de citocinas Th2 pelas ILC2, determinando uma diminuição do seu número e a uma modificação da fisiopatologia das doenças alérgicas.²⁰ Por outro lado, a ação direta de IFN- α nas ILC2, por si só, é suficiente para restringir a ação destas células e melhorar substancialmente a eficácia terapêutica na asma, principalmente em doentes com asma corticorresistente.¹³¹ Assim, a modulação da ação das pDC's parece ser essencial no tratamento destas doenças, pela regulação da homeostasia das ILC2 e pela diminuição da inflamação patológica induzida por estas células, tendo mostrado ter grandes implicações clínicas no controlo da doença.^{13,20}

Novos estudos também têm mostrado que outras moléculas, como a prostaglandina (PG)E2, têm capacidade de inibir as ILC2 presentes no sangue e nas tonsilas, por mediação de recetores de prostanóides do tipo E (EP)-2 e EP-4. Na presença de PGE2 parece haver uma diminuição da secreção de IL-5, IL-13 e uma redução da proliferação das ILC2, sendo estes

recetores considerados potenciais alvos terapêuticos inovadores na modulação da resposta imunitária nas doenças alérgicas.¹³² No entanto, há outras moléculas consideradas estimuladoras da viabilidade das ILC2 e da produção de citocinas Th2, como é o caso do leucotrieno (LT)E4, que determina uma desgranulação de mastócitos na dependência da ligação por IgE. Aquando da sua inibição, por exemplo com a utilização de um antagonista dos recetores dos leucotrienos, como o *montelukaste*, verifica-se uma diminuição considerável da ativação das ILC2 pelos LTE4.¹³³ Estes fármacos já se encontram aprovados clinicamente na terapêutica da asma são utilizados como terapêutica de controlo da inflamação alérgica da patogénese desta doença. Algumas linhas de investigação evidenciaram que metabolitos ativos da vitamina A e da vitamina D parecem influenciar significativamente a secreção de citocinas por ILC2 circulantes no sangue. Enquanto a vitamina A parece promover a secreção de IL-5 e IL-13 pelas ILC2, a vitamina D apresenta funções supressoras destas células, podendo ser considerada uma molécula potencialmente importante no tratamento das doenças alérgicas.¹³⁴ Outra molécula que parece ter uma ação de restrição da diferenciação das ILC2 é a dihidrotestosterona, um metabolito da testosterona que ativando o recetor de androgénios, determina uma diminuição do número de células ILC2 na circulação.¹³⁵ Estes estudos podem potencialmente explicar a diferença observada na prevalência aumentada de asma em mulheres comparativamente aos homens.

Para além das pDC's ativadas conseguirem regular diretamente as funções e homeostasia das ILC2, outros estudos também mostram que este controlo pode ser feito pela indução das células Tregs, o que as torna um potencial alvo terapêutico no tratamento das doenças alérgicas.⁹² As Tregs induzidas têm a capacidade de inibir a resposta imunitária Th2, inibir as ILC2 e os linfócitos B produtores de IgE, sendo essenciais na manutenção da tolerância imunológica a alérgenos e na regulação da inflamação alérgica em doentes com patologia alérgica.¹³⁶ Sendo a imunoterapia considerada, de momento, o único tratamento modificador de doença capaz de alterar a resposta imunitária a alérgenos e reduzir a sintomatologia alérgica, é essencial utilizar estes mecanismos de indução de tolerância imunológica em doentes alérgicos, sendo a ativação das pDC's e a modulação das Tregs consideradas oportunidades para novas estratégias terapêuticas nas doenças alérgicas.^{103,137}

Outras linhas de investigação focam-se na importância do metabolismo celular na modulação das respostas imunitárias, tanto na homeostasia, como na doença. Distintos mecanismos de desregulação metabólica estão intrinsecamente associados à aquisição de fenótipos patológicos pelas células imunitárias, que induzem alterações nos mecanismos de resposta e permitindo o desenvolvimento de uma resposta inflamatória exagerada, como acontece no caso das doenças alérgicas.¹³⁸ Nestes indivíduos, uma dieta rica em ácidos gordos

insaturados parece estar associada a uma redução na frequência das doenças alérgicas, sublinhando a importância da dieta e da sua implicação na metabolómica disfuncional das células e, conseqüentemente, na fisiopatologia destas doenças.¹³⁹ Apesar destes mecanismos ainda não estarem totalmente compreendidos, o imunometabolismo aparenta ter um papel essencial na regulação das mucosas, na regulação da imunidade inata e no estabelecimento de uma resposta imune adaptativa. Múltiplos estudos têm demonstrado distintos requisitos metabólicos pelos subtipos de DC's, dependendo da sua função na resposta imunitária. As células imaturas, aquando da sua ativação via TLR, adquirem um metabolismo glicolítico que permite aumentar a síntese e secreção de citocinas inflamatórias.¹⁴⁰ Por outro lado, as DC's tolerogénicas, como é o caso das pDC's, possuem um metabolismo oxidativo, com a utilização de ácidos gordos, que lhes vai permitir adquirir um fenótipo essencial na indução da tolerância aos alérgenos, como acontece na indução dos mecanismos da imunoterapia.¹⁴¹ Desta forma, mecanismos de tolerância alimentar dependentes de pDC's, presentes no tecido linfóide e lamina própria intestinais, estão intrinsecamente correlacionadas com a dieta e a produção de ácidos gordos pela microbiota intestinal presente.¹⁴² Por outro lado, metabolitos da flora, nomeadamente ácidos gordos de cadeia curta, têm um papel importante na manutenção da atividade reguladora das pDC's e na indução das células Tregs no microambiente intestinal, sendo que uma disbiose pode alterar a homeostasia intestinal e aumentar a suscetibilidade ao aparecimento de doença.¹⁴³ No entanto, o imunometabolismo e a ingestão de ácidos gordos na dieta não influencia só os mecanismos de ação das pDC's nas alergias alimentares, mas também noutras doenças alérgicas, como é o caso da asma, rinite alérgica e dermatite atópica.¹⁴⁴ Desta forma, os lípidos parecem ser reguladores críticos da inflamação alérgica, sendo importantes mediadores da resposta imunológica nas doenças alérgicas.¹⁴⁵ Com efeito, a investigação baseada no metabolismo das células imunitárias e o conhecimento da reprogramação metabólica associada a cada doença, são cada vez mais importantes para promover hábitos de vida saudáveis e novas estratégias terapêuticas para estas patologias.

Imunoterapia com pDC's no tratamento das doenças alérgicas

A imunoterapia específica com alérgenos (AIT) é considerada o único tratamento capaz de modificar o curso natural da doença alérgica, pela modulação da resposta imunitária com aquisição de tolerância aos alérgenos, reduzindo significativamente os sintomas alérgicos e melhorando a qualidade de vida dos doentes com rinite alérgica, asma e alergias alimentares.¹⁴⁶ Os mecanismos de indução de tolerância a alérgenos desencadeiam diversos eventos celulares e moleculares, de forma a inibir a resposta imunitária precoce e tardia aos alérgenos e com indução de tolerância clínica a longo prazo. No entanto, a modulação da resposta imunitária, para diminuir a inflamação alérgica mediada por IgE, abrange uma rede complexa de interações, com a modulação de funções de mastócitos, basófilos, células Tregs, linfócitos B e a produção de anticorpos específicos.¹⁴⁶

Nos últimos anos, novos mecanismos de AIT têm sido identificados e têm permitido esclarecer mais ainda este tratamento imunomodulador tão eficaz e seguro na doença alérgica mediada por IgE. No entanto, ainda que num número muito restrito de doentes a resposta ao tratamento é limitada, pelo que é fundamental intuir e identificar biomarcadores precisos para obviar este constrangimento.¹⁴⁷

A imunoterapia subcutânea (SCIT), considerada a via de administração *gold-standard* nas últimas décadas, reduz os sintomas dos doentes e melhora a sua qualidade de vida, mostrando grande eficácia na redução da necessidade de farmacoterapia por parte destes doentes. No entanto, novas vias de administração têm surgido, sendo que, embora a imunoterapia sublingual (SLIT) possua um mecanismo de ação diferente, parece ter uma eficácia semelhante à SCIT no tratamento das doenças alérgicas.¹⁴⁶ Para além destas, outras vias de administração têm vindo a ser estudadas, como é o caso da imunoterapia oral (OIT), imunoterapia intralinfática (ILIT), imunoterapia epicutânea (EPIT), imunoterapia intradérmica (IDIT) e a imunoterapia nasal local (LNIT). No entanto, a SCIT e a SLIT são consideradas as vias de administração mais usadas no tratamento das doenças alérgicas, como a asma e a rinite alérgica.¹⁴⁸ Orientações europeias e mundiais também têm surgido no sentido de uniformizar a terapêutica destas doenças, recorrendo à SCIT e à SLIT, como acontece por exemplo no tratamento da rinite alérgica e da asma.¹⁴⁹ Por outro lado, a OIT tem cada vez mais vindo a ser usada nas alergias alimentares, com a administração oral regular de pequenos alérgenos alimentares, de forma a dessensibilizar e aumentar a tolerância alimentar a esses alérgenos.¹⁵⁰

Embora o objetivo primário da AIT seja o de restaurar a tolerância imunológica aos alérgenos, podem ser induzidos mecanismos distintos para inibir a resposta alérgica, dependendo da forma de AIT utilizada. Estes mecanismos englobam desde uma diminuição na atividade de mastócitos e basófilos perante determinado alérgeno, uma indução pelas pDC's de células Tregs e células reguladoras B, um aumento da produção de anticorpos IgG4, um aumento de citocinas anti-inflamatórias como é o caso da IL-10 e do TGF- β , uma promoção de mecanismos supressores como um aumento da expressão de *cytotoxic T lymphocyte antigen 4* (CTLA-4) e *programmed death 1* (PD-1) e uma indução de respostas citotóxicas pelos linfócitos T.¹⁵¹ O efeito modulador ocorre tanto na vertente inata do sistema imunitário tanto na vertente adaptativa e traduz-se numa redução da infiltração celular de mastócitos, eosinófilos, células Th2, ILC2 entre outras.¹⁵²

As DC's são células que desempenham um papel essencial nos mecanismos de AIT. Enquanto, por um lado, as cDC's conseguem iniciar a resposta imunológica e transportar os antígenos sublinguais até aos nódulos linfáticos submandibulares para a indução de Tregs, as pDC's são células fundamentais na indução das Tregs e na promoção da tolerância imunológica a nível periférico e central.^{137,153} As células Tregs executam as suas funções imunomodulador pela síntese de IL-10, bloqueando diretamente a desgranulação dos mastócitos e inibem as respostas T citotóxicas pela expressão de CTLA-4 e PD-1.¹⁴⁶ Desta forma, há uma diminuição da inflamação alérgica associada à resposta Th2, ao mesmo tempo que se verifica uma diminuição do número de ILC2 pela ação das pDC's com consequente implicação clínica.^{20,154} Dada a capacidade das DC's em induzir tolerância imunológica e o seu papel essencial em regular a imunidade inata e adaptativa, estas tornam-se células fundamentais e novos potenciais alvos para os mecanismos da imunoterapia.

Imunoterapia sublingual *versus* subcutânea

Atualmente, a SCIT é a estratégia mais comum, compreendendo duas fases, uma primeira fase de indução e uma segunda fase de manutenção, com uma duração de 3 a 5 anos.¹⁵⁵ No entanto, a via sublingual, a SLIT, tem surgido como alternativa e tem vindo a mostrar ser uma opção segura e eficaz para estes doentes, requerendo doses terapêuticas de alérgeno muitíssimo superiores (100 a 300 vezes) para induzir tolerância sobreponível à via subcutânea.¹⁵⁶ Enquanto a SLIT se baseia na administração de alérgenos por *sprays* ou comprimidos orodispersíveis administrados diariamente na região sublingual, a SCIT acarreta a administração de injeções periódicas por via subcutânea, de forma sistémica, sendo o tempo total de tratamento

semelhante nas duas vias de administração. De acordo com as recomendações europeias, o extrato de *Phleum* em comprimido é, de momento, o único extrato padronizado e autorizado na SLIT. No entanto, há países da Europa do Sul que continuam a preferir a forma de administração subcutânea da imunoterapia. Várias meta-análises têm mostrado que tanto a SLIT como a SCIT têm eficácia em doentes com rinite alérgica sazonal, perene e na prevenção de exacerbações da asma.¹⁴⁶ No entanto, a SLIT pela comodidade, segurança e eficácia tem sido a abordagem mais preconizada, particularmente em população pediátrica.¹⁵⁷

A SCIT e a SLIT são ambas consideradas opções terapêuticas eficazes para o tratamento da rinite alérgica e da asma, sendo os *outcomes* de controlo dos sintomas dos doentes semelhantes com ambas as vias de administração.¹⁵⁸ Desta forma, o tratamento é claramente para cada doente, tendo em conta a acessibilidade, o custo e a escolha do doente perante as duas técnicas. A SLIT tem como vantagens sobre as outras técnicas de AIT não ser administrada de forma sistémica, não sendo necessária a administração de injeções periódicas; ser considerada um tratamento mais simples e com menos efeitos secundários, como por exemplo a anafilaxia, que pode acontecer mais frequentemente na SCIT e na OIT; e estar associada a uma progressão mais lenta do aparecimento de outras doenças atópicas, comuns neste tipo de doentes.¹⁵⁹ No entanto, a SLIT também tem algumas desvantagens, principalmente a má adesão terapêutica, sendo que os doentes ao cumprirem menos o tratamento, implica uma menor eficácia desta forma de imunoterapia. Por outro lado, também existem doentes que não respondem a esta forma de imunoterapia, sendo que ainda não existem biomarcadores de resposta fiáveis que demonstrem quais serão este tipo de doentes.¹⁵⁹

Relativamente aos mecanismos de indução da AIT, ambas as técnicas SCIT e a SLIT são caracterizadas por induzir respostas imunes reguladoras B e T, modificar a resposta Th2 para uma resposta Th0/1⁻ e induzir uma resposta humoral com a produção de anticorpos IgG4 específica e IgA em detrimento da IgE característica na resposta alérgica (Fig. 3).¹⁶⁰ Estes mecanismos de regulação da resposta imunitária são essenciais para reverter a resposta inflamatória alérgica e melhorar os sintomas de doentes alérgicos. No entanto, compreender as diferenças nos mecanismos de ação pode ser muito útil na prática clínica e na escolha da melhor forma de imunoterapia para determinado doente, uma vez que o tratamento destes doentes pode passar a ser individualizado. Por exemplo, quer a SCIT como a SLIT têm sido consideradas no tratamento de doentes com rinite alérgica e asma, no entanto, no caso das alergias alimentares, a via oral e sublingual são as que têm maior efectividade.^{158,161,162}

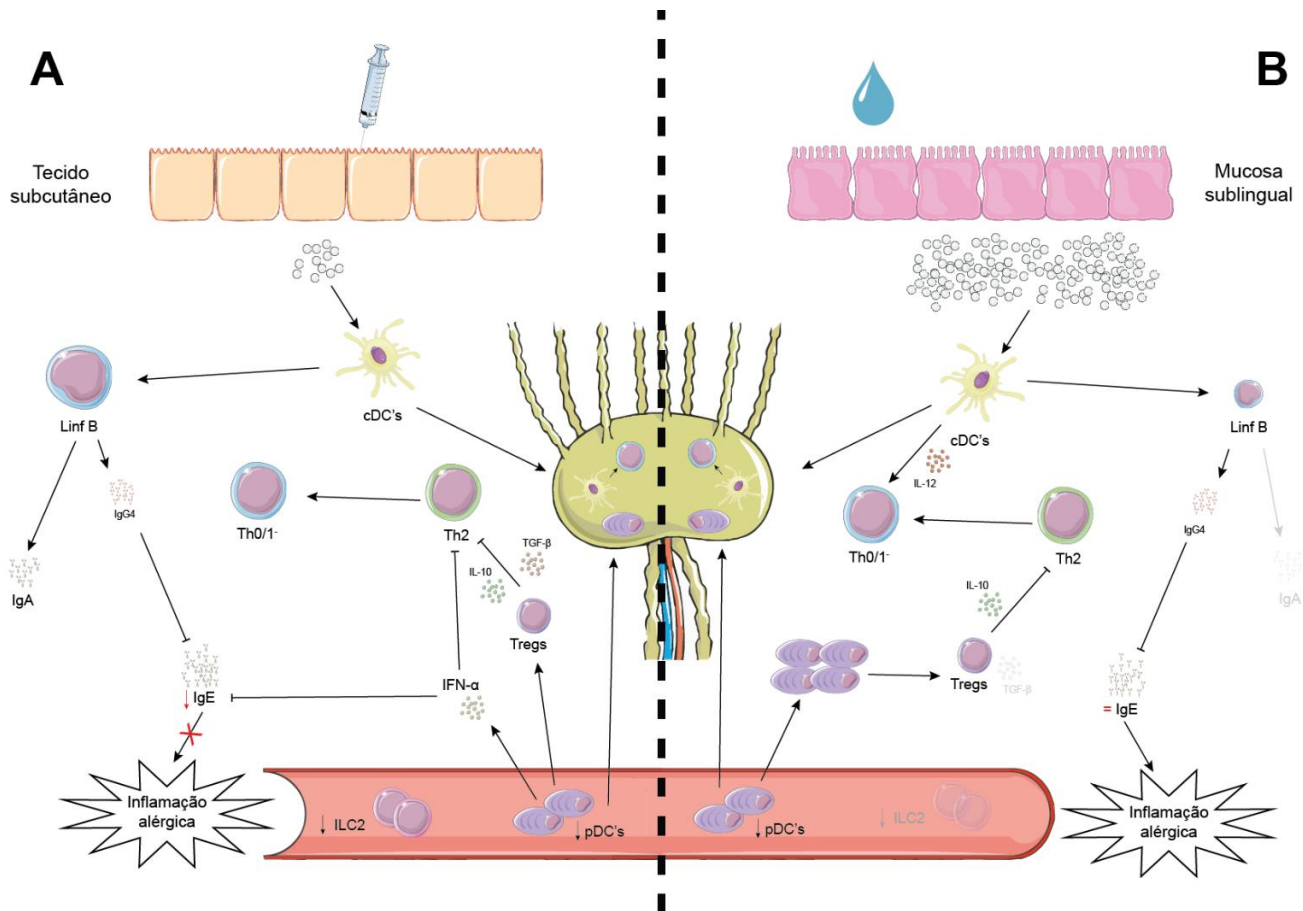


Figura 3 - **A - Modulação da resposta imunitária no mecanismo de imunoterapia subcutânea (SCIT).** Aquando da injeção subcutânea, os alérgenos inoculados no tecido subcutâneo são captados pelas cDC's que transportam as moléculas de alérgeno até aos gânglios linfáticos onde, com a intervenção das pDC's apresentam o antígeno e ativam as células T naïve. As células T ativadas migram para os tecidos onde vão desenvolver a resposta imunitária. Por outro lado, as células dendríticas promovem a produção de IgA e IgG4 específica que vão inibir a resposta inflamatória alérgica mediada por IgE. As pDC's induzem as Tregs e a produção de IFN- α que vão inibir a resposta imunitária Th2 e a diminuição das ILC2 circulantes. **B – Modulação da resposta imunitária no mecanismo de imunoterapia sublingual (SLIT).** Aquando da deposição do extrato alérgico terapêutico na mucosa sublingual, estes penetram a mucosa e são captados pelas cDC's que transportam as moléculas de alérgeno até às estruturas ganglionares subjacentes e em estreita proximidade onde, a apresentação antigénica é preponderantemente feita por pDC's bem como a ativação de células T naïve. Por outro lado, as células dendríticas promovem grande parte da resposta imunitária, com a síntese de IL-12 que ativa linfócitos Th1 e estimula a produção IgG4 específica que vai inibir a resposta inflamatória alérgica mediada por IgE. As pDC's embora em baixo número em circulação, encontram-se em níveis elevados na mucosa sublingual e induzem as Tregs, incremento da produção de IL-10 e indução de resposta tolerogénica e frenagem da resposta Imune Th2. (cDC's – células dendríticas convencionais; pDC's – células dendríticas plasmocitóides; ILC2 – células linfoides inatas do tipo 2; Th – "T helper"; Tregs – células T reguladoras; IL – interleucina; Ig – imunoglobulina).

Sabe-se que, aquando da administração da imunoterapia específica, a migração das células ao local da inflamação alérgica é que permite o início da resposta, com o recrutamento de células apresentadoras de antígeno e outras células do sistema imunitário, a produção de mediadores inflamatórios e o desenvolvimento de uma resposta adaptativa.

No caso da via subcutânea, a administração do alérgeno desencadeia uma ativação de mastócitos e a produção de mediadores inflamatórios com a ativação do endotélio vascular e, aquando da ativação das cDC's, estas migram para os gânglios linfáticos de forma a, juntamente com as pDC's, apresentarem o antígeno e ativarem os linfócitos T.¹⁶³ Os linfócitos T ativados migram para os tecidos para o desenvolvimento da resposta e, através do aumento da permeabilidade vascular, novos leucócitos são também recrutados para os tecidos.¹⁶⁰

A diminuição dos níveis circulantes de pDC's observada após SCIT, parece estar associada à migração destas células para o local de contacto com o antígeno e a um recrutamento destas células para os gânglios linfáticos.¹⁶⁴ No entanto, verificou-se que esta diminuição é acompanhada por um aumento da produção de IFN- α , que vai ser importante na diminuição da ação da IgE, no estabelecimento da resposta alérgica e na modelação Th2 no local de entrada do alérgeno. Desta forma, a SCIT tem a capacidade de restaurar a resposta alterada das pDC's nas doenças alérgicas e de induzir a produção de citocinas Th1, como é o caso do IFN- α e da IL-6, capazes de restaurar a resposta das DC's ao estímulo e diminuir a resposta alérgica.¹⁶⁵ Para além disso, a indução da produção de IgG4 específica pela ação das DC's é essencial para atenuar a ação da IgE, por mecanismos de competição. Estudos anteriores também mostraram que a utilização de extratos de aeroalergéneos causa alterações dinâmicas na resposta imunitária inata e induz a produção de células Tregs e a produção de IL-10 e TGF- β .¹⁴¹ Este perfil citocínico tem um evidente efeito na coartação da resposta alérgica Th2, determinando uma modulação eficaz da resposta imune Th2 e a indução de tolerância imunológica antigénica nestes doentes.^{164,166} Por outro lado, uma diminuição dos níveis sanguíneos de ILC2 e um aumento de ILC1 (ambas sempre em concentrações extremamente muito reduzidas) estão associados a esta forma de imunoterapia, sendo que com esta terapêutica é possível repor esses níveis para patamares semelhantes aos dos indivíduos saudáveis.¹⁴¹ No geral, estes mecanismos celulares e moleculares desencadeados após a SCIT, permitem induzir alterações fenotípicas celulares e moleculares na resposta imunitária, de forma a diminuir a resposta alérgica nestes doentes e a diminuir e existência de novas respostas alérgicas no futuro. No caso da administração sublingual de antígeno, tal como acontece na SCIT, as cDC's presentes no tecido sublingual são ativadas e migram para os gânglios linfáticos onde, com a

colaboração das pDC's, iniciam a apresentação antigénica aos linfócitos T, que mais tarde vão migrar para os tecidos e desenvolver a resposta imunitária. No entanto, na SLIT o elevado número de pDC's existente no tecido sublingual e a capacidade menos eficientes na de apresentação antigénica, promove um aumento do recrutamento celular na presença do antígeno no local de administração.¹⁶³ As DC's maioritariamente presentes na mucosa sublingual são responsáveis pelo desenvolvimento da resposta imunitária, com a produção de IL-10, IL-12 e TGF- β , a modulação da resposta T e o desenvolvimento de uma resposta imunitária de tolerância.¹⁶⁷ E, uma vez que na mucosa oral também existe uma população residente enriquecida em DC's tolerogénicas, a SLIT parece ter uma ação essencial em promover respostas imunes tolerogénicas e em aumentar a tolerância aos alérgenos, pela existência de uma modificação da resposta imune Th2 para uma resposta imune Th0 e pela indução de células Tregs periféricas.¹⁶⁸ No entanto, estes mecanismos de ação da SLIT ficam limitados ao número de DC's presentes na mucosa sublingual, sendo que há indivíduos que mostraram não responder a esta forma de imunoterapia. Os endotipos individuais de cada doente podem ser fatores essenciais para prever a eficácia e a resposta à SLIT.¹⁵⁹

Contrariamente à SCIT, nos mecanismos de ação da SLIT não parece existir uma diminuição nos níveis de IgE após o tratamento de longa duração. No entanto, nesta forma de imunoterapia também se verifica um aumento significativo da produção de IgG4 específica importante para a neutralização de IgE, mas não de IgA.¹⁵⁹ De facto, estudos mais recentes mostram que a SLIT parece ter uma resposta humoral com um efeito sistémico mais limitado, outros assinalam uma inibição importante da resposta Th2 com alívio da sintomatologia alérgica.¹⁶⁹ No entanto, há mecanismos que ainda não estão bem caracterizados na SLIT, comparativamente com a SCIT, e que ainda necessitam de ser esclarecidos, nomeadamente o efeito da SLIT na alteração dos fenótipos das ILC's. Por outro lado, a regulação pelas células Tregs também não parece ser realizada pelos mesmos subtipos de Tregs na SCIT e na SLIT.¹⁷⁰ Para além disso, no caso da SLIT, as Tregs produzem IL-10, importante na inibição da proliferação de células de doentes alérgicos, mas não de TGF- β , podendo estas diferenças ser relevantes para a eficácia da forma de imunoterapia.¹⁷¹

Em ambas as formas de AIT, apesar de se verificar uma produção aumentada da IL-10 em cerca de 7 dias, são necessários cerca de 3 a 5 anos de tratamento com uma dose fixa para a indução de uma tolerância total, que se correlacione com o contexto imunoregulador estabelecido e com uma diminuição dos sintomas nestes doentes.¹⁷² Outros estudos com doentes alérgicos também mostraram que um aumento na expressão de mRNA de *Foxp3* e IL-10 está associado a um aumento de células Tregs circulantes, a uma supressão da proliferação e

ativação linfocítica e a uma mudança de paradigma da resposta imunitária de Th2 para Th0/1, acompanhada de melhoria sintomática nestes doentes.¹⁷³ Seguramente, muitos outros subtipos de linfócitos T têm vindo a ser implicados na fisiopatologia das doenças alérgicas, sendo que estes podem ser novos alvos terapêuticos promissores para o futuro.¹⁷⁴

No momento atual da Medicina Personalizada é importante para o futuro elencar distintos mecanismos para que possam sustentar uma maior efetividade no manejo da imunoterapia, de forma a melhorar a eficácia dos mecanismos de indução de tolerância aos alérgenos. Por outro lado, o estudo dos mecanismos moleculares e celulares da imunoterapia e a consideração das DC's como células centrais na regulação da imunidade inata e adaptativa, podem ser peças fundamentais para esclarecer, melhorar os mecanismos da imunoterapia e promover orientações para a prática com uma maior precisão no tratamento das doenças alérgicas.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Discussão

Nas últimas décadas, têm surgido questões importantes sobre a implicação das pDC's nos mecanismos fisiopatológicos de diversas doenças, nomeadamente nas doenças alérgicas. Novos estudos sobre a origem, desenvolvimento e funções destas células na modulação da resposta imunitária, têm vindo a ser cada vez mais importantes para esclarecer a biologia e as interações destas células no organismo, de forma a desenvolverem uma resposta imunitária eficaz ou como estas podem estar alteradas em diversos mecanismos patogénicos que levam ao desenvolvimento de doença.

As pDC's são células centrais na modulação da resposta imunitária inata e adaptativa, aquando da sua ativação via TLR, principalmente na defesa do organismo contra infeções virais. Devido ao seu fenótipo característico e à sua biologia multifacetada, estas células distinguem-se das restantes DC's por apresentarem uma rápida e diferenciada resposta, com uma grande produção e secreção citocínica, importantes para a resposta antiviral, e com a ativação de outras células do sistema imune inato e adaptativo, com o conseqüente desenvolvimento de uma resposta imunitária eficaz. Desta forma, sendo fundamentais e centrais no desenvolvimento da resposta imunitária, as pDC's têm vindo a ser implicadas na base da patogénese de várias doenças, aquando da sua desregulação e na existência de uma alteração da modulação da resposta imunitária, como acontece em doenças alérgicas, infecciosas, autoimunes e até no cancro.

Embora ainda existam algumas dúvidas sobre a origem mieloide ou linfoide destas células, a sua caracterização fenotípica e transcricional tem demonstrado a existência de marcadores da linhagem linfocítica que identificam uma origem linfoide para estas células. No entanto, devido à sua partilha de alguns mecanismos de regulação com as cDC's, não é possível excluir completamente uma origem mieloide para estas células, sendo que na atualidade persiste profusa investigação, no sentido de melhorar o conhecimento e compreender melhor a origem, a biologia e a heterogeneidade destas células.

Do ponto de vista funcional, após serem produzidas na medula óssea e serem libertadas na corrente sanguínea, as pDC's, contrariamente às cDC's que se encontram nos tecidos periféricos, migram para os órgãos linfoides secundários, onde residem até estimulação antigénica. Aquando da existência de uma infeção viral ou da entrada e contacto de um alérgeno no organismo, as pDC's são recrutadas para os tecidos onde são ativadas, aumentando os seus níveis circulantes e nos tecidos e vindo a desempenhar uma ação importante no estabelecimento

de uma resposta imunitária adequada. Desta forma, estas células são consideradas células sentinela do sistema imunitário, podendo constituir até 1% das células sanguíneas circulantes, e aquando do reconhecimento de ácidos nucleicos virais ou complexos com ácidos nucleicos derivados do hospedeiro por TLR 7 e TLR9, produzem grandes quantidades de IFN-I e ativam outras células da imunidade inata e adaptativa, levando ao desenvolvimento de uma resposta imunitária robusta. Curiosamente, a quantidade de IFN-I produzida perante a ativação das pDC's por diferentes vírus, parece ser um fator determinante para a existência de uma resposta antiviral eficaz ou para o desenvolvimento de uma resposta inflamatória crónica.

Uma alteração destes mecanismos de ativação e regulação da resposta imunitária pode levar ao desenvolvimento de uma resposta imune patológica e a uma quebra na homeostasia, com o desenvolvimento de doença. Nestes casos, é necessário a existência de uma regulação controlada da ação destas células, sendo que as pDC's possuem um mecanismo de autorregulação e, para além da regulação autócrina e parácrina destas células, alguns estudos na literatura também realçam a importância da existência de interações intercelulares que parecem ser essenciais na regulação destas células e, conseqüentemente, na regulação da resposta imunitária. Para além disto, sendo que exacerbações das doenças alérgicas frequentemente estão associadas a infeções virais existentes, a modulação dos mecanismos antivirais, como é o caso da ação das pDC's, e do microambiente alérgico pode ser muito útil no tratamento destas doenças. Por exemplo a utilização de fármacos biológicos como terapia dirigida, como o caso do *omalizumab*, que inibe a ação da IgE no microambiente alérgico, também parece ser eficaz e benéfica em reduzir exacerbações de doenças, como a asma e a rinite alérgica, e a reduzir a sintomatologia nestes doentes.

A estreita regulação da resposta imunitária pelas pDC's e a complexidade da interação intercelular no processo de regulação, tem cada vez mais vindo a implicar estas células nos mecanismos de iniciação de várias doenças inflamatórias, autoimunes e até mesmo no cancro. No caso das doenças alérgicas, a implicação destas células nos mecanismos fisiopatológicos da asma, da rinite alérgica, da dermatite atópica e das alergias alimentares, tem aberto portas ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas baseadas na modulação da resposta imunitária, de forma a melhorar o tratamento e a qualidade de vida destes doentes.

Na caracterização dos mecanismos fisiopatológicos destas doenças, a reação de hipersensibilidade mediada por IgE vem a determinar uma resposta inflamatória alérgica, caracterizada pela polarização Th2 e a produção de citocinas com este perfil, envolvidas na

ativação de outras células, que levam à perpetuação da resposta alérgica e ao aparecimento de sintomas.

Na asma, rinite alérgica, dermatite atópica e alergias alimentares, as pDC's parecem ter os seus níveis circulantes aumentados, mas diminuídos nos tecidos, sugerindo um papel fundamental destas células nos mecanismos fisiopatológicos. As pDC's parecem ter ações fundamentais na regulação da resposta imunitária e na prevenção do aparecimento destas doenças alérgicas, seja pela sua ação na supressão da resposta Th2 e na inibição das células ILC2, seja pela sua ação reguladora das células do sistema imunitário e das células epiteliais, diminuindo o recrutamento de novas células imunitárias e o desenvolvimento da resposta inflamatória alérgica. Embora alguns estudos sugiram um papel patológico das pDC's nas doenças alérgicas, outros estudos mostram que, para além das funções anteriormente mencionadas, as pDC's também têm funções tolerogénicas no organismo, tendo a capacidade de suprimir respostas imunológicas para alérgenos e induzir uma tolerância imunológica no organismo pela ativação de célula Tregs. Desta forma, podemos especular que estas células apresentam um papel protetor nas doenças alérgicas, sendo que podem ser consideradas potenciais alvos a modular nas estratégias terapêuticas destes doentes, como já acontece nos mecanismos da imunoterapia específica com alérgenos (SCIT e SLIT).

Por outro lado, sendo a imunoterapia considerada o único tratamento modificador de doença alérgica até ao momento, é essencial poder maximizar com outras estratégias complementares estes mecanismos de indução de tolerância a alérgenos, sendo que a ativação das pDC's e a modulação das Tregs podem ser consideradas oportunidades, no campo da imunoterapia, para o tratamento das doenças alérgicas pela indução de tolerância imunológica aos alérgenos.

É fundamental continuar a tentar compreender a participação e as ações das pDC's na regulação da resposta imunitária, quer em homeostasia, quer em contexto de doença, e quais as implicações da sua utilização como alvo nas estratégias terapêuticas nos mecanismos de imunoterapia. Para além disso, devido à heterogeneidade destas células e à sua capacidade de gerar respostas imunitárias distintas, dependentes do microambiente onde se encontram, é essencial identificarmos o papel destas células em cada uma das patologias e perceber como é que a sua modulação poderá vir a constituir uma forma de terapêutica individualizada, de forma a inovar e personalizar o tratamento das doenças alérgicas e melhorar a qualidade de vida destes doentes.

Conclusão

As pDC's são células imunes essenciais na modulação da resposta imunitária inata e adaptativa e têm um papel fundamental na fisiopatologia das doenças alérgicas. Durante esta revisão, foi elencada a informação existente na literatura sobre a origem, o desenvolvimento e as funções das pDC's no estabelecimento e modulação da resposta imunitária e foi evidenciada a importância da ação destas células quer em homeostasia, quer em contexto de doença.

Graças às funções distintas das pDC's e à sua implicação nos mecanismos fisiopatológicos de várias doenças alérgicas, foi também sublinhada a importância do estudo e da utilização destas células em novas estratégias terapêuticas, para o tratamento destas patologias. No entanto, continuam a ser necessários novos estudos da participação das pDC's em imunoterapia, para compreender o seu verdadeiro papel nos mecanismos de modulação da resposta imunitária e de indução de tolerância a alérgenos, de forma a esclarecer a importância da sua utilização no tratamento das doenças alérgicas. Estes estudos são fundamentais no futuro, para compreender molecularmente e celularmente os mecanismos da imunoterapia, melhorar as estratégias terapêuticas e a promover orientações clínicas sustentadas para o tratamento dos doentes com patologia alérgica.

AGRADECIMENTOS

Concluída esta revisão, agradeço a todos os que estiveram do meu lado e me apoiaram na concretização deste trabalho final.

Agradeço, especialmente, ao meu orientador Prof. Doutor Celso Pereira e à minha coorientadora Dr.^a Graça Loureiro pela incrível orientação, disponibilidade e dedicação demonstradas durante a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

1. Reizis B. Plasmacytoid Dendritic Cells: Development, Regulation, and Function. *Immunity*. 2019;50(1):37–50.
2. Chrisikos TT, Zhou Y, Slone N, Babcock R, Watowich SS, Li HS. Molecular regulation of dendritic cell development and function in homeostasis, inflammation, and cancer. *Mol Immunol*. 2019 Jun 1;110:24–39.
3. Alculumbre S, Raieli S, Hoffmann C, Chelbi R, Danlos FX, Soumelis V. Plasmacytoid pre-dendritic cells (pDC): from molecular pathways to function and disease association. *Semin Cell Dev Biol*. 2019 Feb 1;86:24–35.
4. Swiecki M, Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Rev Immunol*. 2015 Aug;15(8):471–85.
5. Lande R, Gilliet M. Plasmacytoid dendritic cells: Key players in the initiation and regulation of immune responses. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1183:89–103.
6. Li S, Wu J, Zhu S, Liu YJ, Chen J. Disease-associated plasmacytoid dendritic cells. *Front Immunol*. 2017;8(OCT):1–12.
7. Bencze D, Fekete T, Pázmándi K. Type I interferon production of plasmacytoid dendritic cells under control. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8).
8. Qu SY, Ti XY, Zhang J, Wu C gui. Disruption of the Notch pathway aggravates airway inflammation by inhibiting regulatory T cell differentiation via regulation of plasmacytoid dendritic cells. *Scand J Immunol*. 2020;91(5):1–13.
9. Ye Y, Gaugler B, Mohty M, Malard F. Plasmacytoid dendritic cell biology and its role in immune-mediated diseases. *Clin Transl Immunol*. 2020;9(5):1–19.
10. Gulubova M. Myeloid and plasmacytoid dendritic cells and cancer – New insights. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(19):3324–40.
11. Husein H, Katharina L, Abdolhossein E, Cecilia O, Aida H, Russell P, et al. Plasmacytoid dendritic cells transport peripheral antigens to the thymus to promote central tolerance. *Immunity*. 2013;36(3):438–50.
12. Wu M, Gao L, He M, Liu H, Jiang H, Shi K, et al. Plasmacytoid dendritic cell deficiency in neonates enhances allergic airway inflammation via reduced production of IFN- α . *Cell Mol Immunol*. 2020;17(5):519–32.
13. Peng YQ, Qin ZL, Fang S Bin, Xu Z Bin, Zhang HY, Chen D, et al. Effects of myeloid and plasmacytoid dendritic cells on ILC2s in patients with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145(3):855-867.e8.

14. Chairakaki AD, Saridaki MI, Pyrillou K, Mouratis MA, Koltsida O, Walton RP, et al. Plasmacytoid dendritic cells drive acute asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(2):542-556.e12.
15. Perez-Novo C, Pezato R. Dendritic cell subset expression in severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2017 Feb;17(1):1–4.
16. Xi Y, Upham JW. Plasmacytoid dendritic cells and asthma: a review of current knowledge. *Expert Rev Respir Med*. 2020 Nov;14(11):1095–106.
17. Garzorz-Stark N, Lauffer F, Krause L, Thomas J, Atenhan A, Franz R, et al. Toll-like receptor 7/8 agonists stimulate plasmacytoid dendritic cells to initiate TH17-deviated acute contact dermatitis in human subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Apr 1;141(4):1320-1333.e11.
18. Gros E, Novak N. Cutaneous dendritic cells in allergic inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2012 Aug;42(8):1161–75.
19. Yu W, Freeland DMH, Nadeau KC. Food allergy: Immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2016. p. 751–65.
20. Maazi H, Banie H, Aleman Muench GR, Patel N, Wang B, Sankaranarayanan I, et al. Activated plasmacytoid dendritic cells regulate type 2 innate lymphoid cell-mediated airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Mar;141(3):893-905.e6.
21. Miller HL, Andhey PS, Swiecki MK, Rosa BA, Zaitsev K, Villani AC, et al. Altered ratio of dendritic cell subsets in skin-draining lymph nodes promotes Th2-driven contact hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Jan 19;118(3).
22. Royal C, Gray C. Allergy prevention: An overview of current evidence. *Yale J Biol Med*. 2020 Dec 1;93(5):689–98.
23. Voskamp AL, Kormelink TG, van Wijk RG, Hiemstra PS, Taube C, de Jong EC, et al. Modulating local airway immune responses to treat allergic asthma: lessons from experimental models and human studies. *Semin Immunopathol*. 2020;42(1):95–110.
24. Nolte H, Maloney J. The global development and clinical efficacy of sublingual tablet immunotherapy for allergic diseases. *Allergol Int*. 2018;67(3):301–8.
25. Eguiluz-Gracia I, Ariza A, Testera-Montes A, Rondón C, Campo P. Allergen Immunotherapy for Local Respiratory Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2020 Jul 1;20(7).
26. Vitiello G, Maltagliati L, Rossi O. New perspectives in allergen specific immunotherapy driven by big trials with house dust mite sublingual SQ®tablets. *Clin Mol Allergy*. 2020 Jun

- 11;18(1).
27. Rodrigues PF, Alberti-Servera L, Eremin A, Grajales-Reyes GE, Ivanek R, Tussiwand R. Distinct progenitor lineages contribute to the heterogeneity of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Immunol.* 2018;19(7):711–22.
 28. Grouard G, Rissoan MC, Filgueira L, Durand I, Banchereau J, Liu YJ. The enigmatic plasmacytoid T cells develop into dendritic cells with interleukin (IL)-3 and CD40-ligand. *J Exp Med.* 1997 Mar 17;185(6):1101–11.
 29. Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, Fitzgerald-Bocarsly PA, Shah K, Ho S, et al. The nature of the principal Type 1 interferon-producing cells in human blood. *Science* (80-). 1999 Jun 11;284(5421):1835–7.
 30. Rodrigues PF, Tussiwand R. Novel concepts in plasmacytoid dendritic cell (pDC) development and differentiation. *Mol Immunol.* 2020;126(April):25–30.
 31. Herman JS, Sagar, Grün D. FateID infers cell fate bias in multipotent progenitors from single-cell RNA-seq data. *Nat Methods.* 2018 Apr 9;15(5):379–86.
 32. Brasel K, De Smedt T, Smith JL, Maliszewski CR. Generation of murine dendritic cells from flt3-ligand-supplemented bone marrow cultures. *Blood.* 2000 Nov 1;96(9):3029–39.
 33. Karsunky H, Merad M, Cozzio A, Weissman IL, Manz MG. Flt3 ligand regulates dendritic cell development from Flt3+ lymphoid and myeloid-committed progenitors to Flt3+ dendritic cells in vivo. *J Exp Med.* 2003 Jul 21;198(2):305–13.
 34. Sathe P, Vremec D, Wu L, Corcoran L, Shortman K. Convergent differentiation: Myeloid and lymphoid pathways to murine plasmacytoid dendritic cells. In: *Blood.* Blood; 2013. p. 11–9.
 35. Cella M, Facchetti F, Lanzavecchia A, Colonna M. Plasmacytoid dendritic cells activated by influenza virus and CD40L drive a potent TH1 polarization. *Nat Immunol.* 2000;1(4):305–10.
 36. Cao W, Zhang L, Rosen DB, Bover L, Watanabe G, Bao M, et al. BDCA2/FcεRIγ complex signals through a novel BCR-like pathway in human plasmacytoid dendritic cells. *PLoS Biol.* 2007 Oct;5(10):2190–200.
 37. Chen YL, Chen TT, Pai LM, Wesoly J, Bluysen HAR, Lee CK. A type I IFN-Flt3 ligand axis augments plasmacytoid dendritic cell development from common lymphoid progenitors. *J Exp Med.* 2013 Nov 18;210(12):2515–22.
 38. Dress RJ, Dutertre CA, Giladi A, Schlitzer A, Low I, Shadan NB, et al. Plasmacytoid

dendritic cells develop from Ly6D+ lymphoid progenitors distinct from the myeloid lineage. *Nat Immunol.* 2019;20(7):852–64.

39. Li HS, Yang CY, Nallaparaju KC, Zhang H, Liu YJ, Goldrath AW, et al. The signal transducers STAT5 and STAT3 control expression of Id2 and E2-2 during dendritic cell development. *Blood.* 2012 Nov 22;120(22):4363–73.
40. Blom B, Ho S, Antonenko S, Liu YJ. Generation of interferon α -producing predendritic cell (pre-DC)₂ from human CD34+ hematopoietic stem cells. *J Exp Med.* 2000 Dec 18;192(12):1785–95.
41. Wendland M, Czeloth N, Mach N, Malissen B, Kremmer E, Pabst O, et al. CCR9 is a homing receptor for plasmacytoid dendritic cells to the small intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Apr 10;104(15):6347–52.
42. Woltman AM, De Fijter JW, Zuidwijk K, Vlug AG, Bajema IM, Van Der Kooij SW, et al. Quantification of dendritic cell subsets in human renal tissue under normal and pathological conditions. *Kidney Int.* 2007 May 14;71(10):1001–8.
43. Ito T, Kanzler H, Duramad O, Cao W, Liu YJ. Specialization, kinetics, and repertoire of type 1 interferon responses by human plasmacytoid predendritic cells. *Blood.* 2006 Mar 15;107(6):2423–31.
44. Santini SM, Lapenta C, Logozzi M, Parlato S, Spada M, Di Pucchio T, et al. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity in vitro and in Hu-PBL-SCID mice. *J Exp Med.* 2000 May 15;191(10):1777–88.
45. Marrack P, Kappler J, Mitchell T. Type I interferons keep activated T cells alive. *J Exp Med.* 1999 Feb 1;189(3):521–9.
46. Jego G, Palucka AK, Blanck JP, Chalouni C, Pascual V, Banchereau J. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity.* 2003 Aug 1;19(2):225–34.
47. Gerosa F, Gobbi A, Zorzi P, Burg S, Briere F, Carra G, et al. The Reciprocal Interaction of NK Cells with Plasmacytoid or Myeloid Dendritic Cells Profoundly Affects Innate Resistance Functions. *J Immunol.* 2005 Jan 15;174(2):727–34.
48. Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, Akira S, Reis E Sousa C. Innate Antiviral Responses by Means of TLR7-Mediated Recognition of Single-Stranded RNA. *Science (80-).* 2004 Mar 5;303(5663):1529–31.
49. Haas T, Metzger J, Schmitz F, Heit A, Müller T, Latz E, et al. The DNA Sugar Backbone 2'

- Deoxyribose Determines Toll-like Receptor 9 Activation. *Immunity*. 2008 Mar 14;28(3):315–23.
50. Honda K, Ohba Y, Yanai H, Hegishi H, Mizutani T, Takaoka A, et al. Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF-7 signalling for robust type-I interferon induction. *Nature*. 2005 Apr 6;434(7036):1035–40.
 51. Piqueras B, Connolly J, Freitas H, Palucka AK, Banchereau J. Upon viral exposure, myeloid and plasmacytoid dendritic cells produce 3 waves of distinct chemokines to recruit immune effectors. *Blood*. 2006 Apr 1;107(7):2613–8.
 52. Ito T, Yang M, Wang YH, Lande R, Gregorio J, Perng OA, et al. Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10-producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. *J Exp Med*. 2007 Jan 22;204(1):105–15.
 53. Ito T, Hanabuchi S, Wang YH, Park WR, Arima K, Bover L, et al. Two Functional Subsets of FOXP3+ Regulatory T Cells in Human Thymus and Periphery. *Immunity*. 2008 Jun 13;28(6):870–80.
 54. Goubier A, Dubois B, Gheit H, Joubert G, Villard-Truc F, Asselin-Paturel C, et al. Plasmacytoid Dendritic Cells Mediate Oral Tolerance. *Immunity*. 2008 Sep 19;29(3):464–75.
 55. Ochando JC, Homma C, Yang Y, Hidalgo A, Garin A, Tacke F, et al. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts. *Nat Immunol*. 2006 Apr 23;7(6):652–62.
 56. Tomasello E, Naciri K, Chelbi R, Bessou G, Fries A, Gressier E, et al. Molecular dissection of plasmacytoid dendritic cell activation in vivo during a viral infection . *EMBO J*. 2018 Oct;37(19).
 57. Alculumbre SG, Saint-André V, Di Domizio J, Vargas P, Sirven P, Bost P, et al. Diversification of human plasmacytoid predendritic cells in response to a single stimulus article. *Nat Immunol*. 2018 Jan 1;19(1):63–75.
 58. Fu C, Peng P, Loschko J, Feng L, Pham P, Cui W, et al. Plasmacytoid dendritic cells cross-prime naive CD8 T cells by transferring antigen to conventional dendritic cells through exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Sep 22;117(38):23730–41.
 59. Swiecki M, Wang Y, Gilfillan S, Colonna M. Plasmacytoid Dendritic Cells Contribute to Systemic but Not Local Antiviral Responses to HSV Infections. *PLoS Pathog*. 2013 Oct;9(10):e1003728.

60. Woltman AM, den Brouw MLO, Biesta PJ, Shi CC, Janssen HLA. Hepatitis b virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function. *PLoS One*. 2011;6(1).
61. Yonkers NL, Rodriguez B, Milkovich KA, Asaad R, Lederman MM, Heeger PS, et al. TLR Ligand-Dependent Activation of Naive CD4 T Cells by Plasmacytoid Dendritic Cells Is Impaired in Hepatitis C Virus Infection. *J Immunol*. 2007 Apr 1;178(7):4436–44.
62. Li Q, Estes JD, Schlievert PM, Duan L, Brosnahan AJ, Southern PJ, et al. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission. *Nature*. 2009 Apr 23;458(7241):1034–8.
63. Manches O, Fernandez MV, Plumas J, Chaperot L, Bhardwaj N. Activation of the noncanonical NF- κ B pathway by HIV controls a dendritic cell immunoregulatory phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Aug 28;109(35):14122–7.
64. Michea P, Vargas P, Donnadieu MH, Roseblatt M, Bono MR, Duménil G, et al. Epithelial control of the human pDC response to extracellular bacteria. *Eur J Immunol*. 2013 Apr;43(5):1264–73.
65. Parcina M, Miranda-Garcia MA, Durlanik S, Ziegler S, Over B, Georg P, et al. Pathogen-Triggered Activation of Plasmacytoid Dendritic Cells Induces IL-10–Producing B Cells in Response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*. 2013 Feb 15;190(4):1591–602.
66. Rönnblom L, Alm G V. A pivotal role for the natural interferon α -producing cells (plasmacytoid dendritic cells) in the pathogenesis of lupus. *J Exp Med*; 2001.
67. Means TK, Latz E, Hayashi F, Murali MR, Golenbock DT, Luster AD. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest*. 2005;115(2):407–17.
68. Ganguly D, Chamilos G, Lande R, Gregorio J, Meller S, Facchinetti V, et al. Self-RNA-antimicrobial peptide complexes activate human dendritic cells through TLR7 and TLR8. *J Exp Med*. 2009 Aug 31;206(9):1983–94.
69. Higgs BW, Liu Z, White B, Zhu W, White WI, Morehouse C, et al. Patients with systemic lupus erythematosus, myositis, rheumatoid arthritis and scleroderma share activation of a common type I interferon pathway. *Ann Rheum Dis*. 2011 Nov;70(11):2029–36.
70. Schwartz DM, Bonelli M, Gadina M, O’Shea JJ. Type I/II cytokines, JAKs, and new strategies for treating autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2016 Jan 1;12(1):25–36.
71. Aspod C, Leccia MT, Charles J, Plumas J. Plasmacytoid dendritic cells support melanoma progression by promoting Th2 and regulatory immunity through OX40L and ICOSL. *Cancer*

Immunol Res. 2013 Dec 1;1(6):402–15.

72. Sisirak V, Faget J, Gobert M, Goutagny N, Vey N, Treilleux I, et al. Impaired IFN- α production by plasmacytoid dendritic cells favors regulatory T-cell expansion that may contribute to breast cancer progression. *Cancer Res.* 2012 Oct 15;72(20):5188–97.
73. Hartmann E, Wollenberg B, Rothenfusser S, Wagner M, Wellisch D, Mack B, et al. Identification and functional analysis of tumor-infiltrating plasmacytoid dendritic cells in head and neck cancer. *Cancer Res.* 2003;63(19):6478–87.
74. Tel J, Anguille S, Waterborg CEJ, Smits EL, Figdor CG, de Vries IJM. Tumoricidal activity of human dendritic cells. *Trends in Immunology.* 2014. p. 38–46.
75. Kießler M, Plesca I, Sommer U, Wehner R, Wilczkowski F, Müller L, et al. Tumor-infiltrating plasmacytoid dendritic cells are associated with survival in human colon cancer. *J Immunother Cancer.* 2021 Mar 1;9(3):e001813.
76. Lombardi VC, Khaiboullina SF. Plasmacytoid dendritic cells of the gut: Relevance to immunity and pathology. *Clin Immunol.* 2014;153(1):165–77.
77. Jahnsen FL, Lund-Johansen F, Dunne JF, Farkas L, Haye R, Brandtzaeg P. Experimentally Induced Recruitment of Plasmacytoid (CD123 high) Dendritic Cells in Human Nasal Allergy. *J Immunol.* 2000 Oct 1;165(7):4062–8.
78. Dua B, Watson RM, Gauvreau GM, O'Byrne PM. Myeloid and plasmacytoid dendritic cells in induced sputum after allergen inhalation in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Jul;126(1):133–9.
79. Pritchard AL, Carroll ML, Burel JG, White OJ, Phipps S, Upham JW. Innate IFNs and Plasmacytoid Dendritic Cells Constrain Th2 Cytokine Responses to Rhinovirus: A Regulatory Mechanism with Relevance to Asthma. *J Immunol.* 2012;188(12):5898–905.
80. Christenson SA. Do not cross to avoid an exacerbation. *Sci Transl Med.* 2017;9(407).
81. Proper SP, Azouz NP, Mersha TB. Achieving Precision Medicine in Allergic Disease: Progress and Challenges. *Front Immunol.* 2021 Aug 18;12.
82. Thiriou D, Morianos I, Xanthou G, Samitas K. Innate immunity as the orchestrator of allergic airway inflammation and resolution in asthma. *Int Immunopharmacol.* 2017;48(November 2016):43–54.
83. Lynch JP, Mazzone SB, Rogers MJ, Arikatt JJ, Loh Z, Pritchard AL, et al. The plasmacytoid dendritic cell: At the cross-roads in asthma. *Eur Respir J.* 2014 Jan 1;43(1):264–75.

84. Upham JW, Zhang G, Rate A, Yerkovich ST, Kusel M, Sly PD, et al. Plasmacytoid dendritic cells during infancy are inversely associated with childhood respiratory tract infections and wheezing. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(4).
85. Leffler J, Read JF, Jones AC, Mok D, Hollams EM, Laing IA, et al. Progressive increase of FcεRI expression across several PBMC subsets is associated with atopy and atopic asthma within school-aged children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019;30(6):646–53.
86. Stoll P, Bähker A, Ulrich M, Bratke K, Garbe K, Christian Virchow J, et al. The dendritic cell high-affinity IgE receptor is overexpressed in both asthma and severe COPD. *Clin Exp Allergy*. 2016 Apr 1;46(4):575–83.
87. Lin TY, Lo CY, Tsao KC, Chang PJ, Kuo CHS, Lo YL, et al. Impaired interferon-α expression in plasmacytoid dendritic cells in asthma. *Immunity, Inflamm Dis*. 2021 Mar 1;9(1):183–95.
88. Mitchell PD, Salter BM, Oliveria JP, El-Gammal A, Tworek D, Smith SG, et al. IL-33 and Its Receptor ST2 after Inhaled Allergen Challenge in Allergic Asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018 May 1;176(2):133–42.
89. De Heer HJ, Hammad H, Soullié T, Hijdra D, Vos N, Willart MAM, et al. Essential role of lung plasmacytoid dendritic cells in preventing asthmatic reactions to harmless inhaled antigen. *J Exp Med*. 2004 Jul 5;200(1):89–98.
90. Morianos I, Semitekolou M. Dendritic cells: Critical regulators of allergic asthma. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):1–16.
91. Hadeiba H, Lahl K, Edalati A, Oderup C, Habtezion A, Pachynski R, et al. Plasmacytoid Dendritic Cells Transport Peripheral Antigens to the Thymus to Promote Central Tolerance. *Immunity*. 2012 Mar 23;36(3):438–50.
92. Lombardi V, Speak AO, Kerzerho J, Szely N, Akbari O. CD8α +B - and CD8α +B - plasmacytoid dendritic cells induce Foxp3 + regulatory T cells and prevent the induction of airway hyper-reactivity. *Mucosal Immunol*. 2012 Jul;5(4):432–43.
93. Greiner AN, Hellings PW, Rotiroti G, Scadding GK. Allergic rhinitis. *The Lancet*. 2011. p. 2112–22.
94. Halim TYF, Steer CA, Mathä L, Gold MJ, Martinez-Gonzalez I, McNagny KM, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. *Immunity*. 2014 Mar 20;40(3):425–35.
95. Zhong H, Fan XL, Yu QN, Qin ZL, Chen D, Xu R, et al. Increased innate type 2 immune response in house dust mite-allergic patients with allergic rhinitis. *Clin Immunol*. 2017 Oct

- 1;183:293–9.
96. Barlow JL, Peel S, Fox J, Panova V, Hardman CS, Camelo A, et al. IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13-producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Oct;132(4):933–41.
 97. Peng YQ, Chen DH, Xu Z Bin, Fang SB, He BX, Liu XQ, et al. IL-33 receptor expression on myeloid and plasmacytoid dendritic cells after allergen challenge in patients with allergic rhinitis. *Int Immunopharmacol*. 2021 Dec;101(Pt B):108233.
 98. Yu QN, Tan WP, Fan XL, Guo YB, Qin ZL, Li CL, et al. Increased Group 2 Innate Lymphoid Cells Are Correlated with Eosinophilic Granulocytes in Patients with Allergic Airway Inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018 May 1;176(2):124–32.
 99. Schulz-Kuhnt A, Wirtz S, Neurath MF, Atreya I. Regulation of Human Innate Lymphoid Cells in the Context of Mucosal Inflammation. *Front Immunol*. 2020;11(June).
 100. Hoyler T, Klose CSN, Souabni A, Turqueti-Neves A, Pfeifer D, Rawlins EL, et al. The Transcription Factor GATA-3 Controls Cell Fate and Maintenance of Type 2 Innate Lymphoid Cells. *Immunity*. 2012 Oct 19;37(4):634–48.
 101. Su Z, Lin J, Lu F, Zhang X, Zhang L, Gandhi NB, et al. Potential autocrine regulation of interleukin-33/ST2 signaling of dendritic cells in allergic inflammation. *Mucosal Immunol*. 2013 Sep;6(5):921–30.
 102. López-Abente J, Benito-Villalvilla C, Jaumont X, Pfister P, Tassinari P, Palomares O. Omalizumab restores the ability of human plasmacytoid dendritic cells to induce Foxp3+Tregs. *Eur Respir J*. 2021;57(1).
 103. Palmer C, Mulligan JK, Smith SE, Atkinson C. The role of regulatory T cells in the regulation of upper airway inflammation. *Am J Rhinol Allergy*. 2017 Nov 1;31(6):345–51.
 104. Ahluwalia J, Davis DM, Jacob S, Waldman A, Ong PY, Cohen S, et al. Atopic dermatitis: Addressing allergy, infection, itch and complementary therapies. *Semin Cutan Med Surg*. 2017;36(3):112–7.
 105. Pelc J, Czarnecka-Operacz M, Adamski Z. Structure and function of the epidermal barrier in patients with atopic dermatitis. *Postep Dermatologii i Alergol*. 2018;35(1):1–5.
 106. Hill DA, Spergel JM. The atopic march: Critical evidence and clinical relevance. *Ann Allergy Asthma Immunol*; 2018. p. 131–7.
 107. Wollenberg A, Råwer HC, Schaubert J. Innate immunity in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011 Dec;41(3):272–81.

108. Brügger MC, Bauer WM, Reininger B, Clim E, Captarencu C, Steiner GE, et al. In Situ Mapping of Innate Lymphoid Cells in Human Skin: Evidence for Remarkable Differences between Normal and Inflamed Skin. *J Invest Dermatol*. 2016 Dec 1;136(12):2396–405.
109. Imai Y, Yasuda K, Sakaguchi Y, Haneda T, Mizutani H, Yoshimoto T, et al. Skin-specific expression of IL-33 activates group 2 innate lymphoid cells and elicits atopic dermatitis-like inflammation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(34):13921–6.
110. Klonowska J, Gleń J, Nowicki RJ, Trzeciak M. New cytokines in the pathogenesis of atopic dermatitis—New therapeutic targets. *Int J Mol Sci*; 2018.
111. Tang TS, Bieber T, Williams HC. Does “autoreactivity” play a role in atopic dermatitis? *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(5):1209-1215.e2.
112. Eiwegger T, Hung L, San Diego KE, O’Mahony L, Upton J. Recent developments and highlights in food allergy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019. p. 2355–67.
113. De Martinis M, Sirufo MM, Suppa M, Ginaldi L. New perspectives in food allergy. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 2;21(4).
114. Liu EG, Yin X, Swaminathan A, Eisenbarth SC. Antigen-Presenting Cells in Food Tolerance and Allergy. *Front Immunol*. 2021 Jan 8;11.
115. Abrams EM, Sicherer SH. Diagnosis and management of food allergy. *Canadian Medical Association*; 2016. p. 1087–93.
116. Deschildre A, Lejeune S. How to cope with food allergy symptoms? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*; 2018. p. 234–42.
117. Nakajima-Adachi H, Shibahara K, Fujimura Y, Takeyama J, Hiraide E, Kikuchi A, et al. Critical role of intestinal interleukin-4 modulating regulatory T cells for desensitization, tolerance, and inflammation of food allergy. *PLoS One*. 2017 Feb 1;12(2).
118. Shik D, Tomar S, Lee JB, Chen CY, Smith A, Wang YH. IL-9-producing cells in the development of IgE-mediated food allergy. *Semin Immunopathol*; 2017. p. 69–77.
119. Ye Y, Gaugler B, Mohty M, Malard F. Plasmacytoid dendritic cell biology and its role in immune-mediated diseases. *Clin Transl Immunol*. 2020;9(5):1–19.
120. Rowe RK, Gill MA. Targeting Antiviral Pathways for Treatment of Allergic Diseases. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2018 Dec 26;7:S54–6.
121. Castillo JR, Peters SP, Busse WW. Asthma Exacerbations: Pathogenesis, Prevention, and

- Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017 Jul 1;5(4):918–27.
122. Gill MA, Liu AH, Calatroni A, Krouse RZ, Shao B, Schiltz A, et al. Enhanced plasmacytoid dendritic cell antiviral responses after omalizumab. *J Allergy Clin Immunol.* 2018 May 1;141(5):1735-1743.e9.
 123. Van Buul AR, Taube C. Treatment of severe asthma: Entering the era of targeted therapy [Internet]. Vol. 15, *Expert Opinion on Biological Therapy.* Expert Opin Biol Ther; 2015. p. 1713–25.
 124. Wu J, Guttman-Yassky E. Efficacy of biologics in atopic dermatitis [Internet]. Vol. 20, *Expert Opinion on Biological Therapy.* Expert Opin Biol Ther; 2020. p. 525–38.
 125. Sroka-Tomaszewska J, Trzeciak M. Molecular mechanisms of atopic dermatitis pathogenesis. *Int J Mol Sci*; 2021.
 126. Djukanović R, Harrison T, Johnston SL, Gabbay F, Wark P, Thomson NC, et al. The effect of inhaled IFN- β on worsening of asthma symptoms caused by viral infections a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Jul 15;190(2):145–54.
 127. Kirtland ME, Tsitoura DC, Durham SR, Shamji MH. Toll-Like Receptor Agonists as Adjuvants for Allergen Immunotherapy. *Front Immunol.* 2020;11:599083.
 128. Klimek L, Willers J, Hammann-Haenni A, Pfaar O, Stocker H, Mueller P, et al. Assessment of clinical efficacy of CYT003-QbG10 in patients with allergic rhinoconjunctivitis: A phase IIb study. *Clin Exp Allergy.* 2011 Sep;41(9):1305–12.
 129. Greiff L, Ahlström-Emanuelsson C, Alenäs M, Almqvist G, Andersson M, Cervin A, et al. Biological effects and clinical efficacy of a topical Toll-like receptor 7 agonist in seasonal allergic rhinitis: a parallel group controlled phase IIa study. *Inflamm Res.* 2015 Nov 1;64(11):903–15.
 130. Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M, Huang C, Oliveria JP, O’Byrne PM, et al. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Jan 1;137(1):75-86.e8.
 131. Simon HU, Seelbach H, Ehmann R, Schmitz M. Clinical and immunological effects of low-dose IFN- α treatment in patients with corticosteroid-resistant asthma. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2003 Dec;58(12):1250–5.
 132. Maric J, Ravindran A, Mazzurana L, Björklund ÅK, Van Acker A, Rao A, et al. Prostaglandin E2 suppresses human group 2 innate lymphoid cell function. *J Allergy Clin Immunol.* 2018

May 1;141(5):1761-1773.e6.

133. Salimi M, Stöger L, Liu W, Go S, Pavord I, Klenerman P, et al. Cysteinyl leukotriene E4 activates human group 2 innate lymphoid cells and enhances the effect of prostaglandin D2 and epithelial cytokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Oct 1;140(4):1090-1100.e11.
134. Ruiter B, Patil SU, Shreffler WG. Vitamins A and D have antagonistic effects on expression of effector cytokines and gut-homing integrin in human innate lymphoid cells. *Clin Exp Allergy*. 2015 Jul 1;45(7):1214–25.
135. Cephus JY, Stier MT, Fuseini H, Yung JA, Toki S, Bloodworth MH, et al. Testosterone Attenuates Group 2 Innate Lymphoid Cell-Mediated Airway Inflammation. *Cell Rep*. 2017 Nov 28;21(9):2487–99.
136. Boonpiyathad T, Sözüner ZC, Akdis M, Akdis CA. The role of treg cell subsets in allergic disease. *Asian Pacific J Allergy Immunol*. 2020 Sep;38(3):139–49.
137. Bertolini TB, Biswas M, Terhorst C, Daniell H, Herzog RW, Piñeros AR. Role of orally induced regulatory T cells in immunotherapy and tolerance. *Cell Immunol*. 2021 Jan 1;359:104251.
138. Rodriguez-Coira J, Villaseñor A, Izquierdo E, Huang M, Barker-Tejeda TC, Radzikowska U, et al. The Importance of Metabolism for Immune Homeostasis in Allergic Diseases. *Front Immunol*. 2021 Jul 28;12.
139. Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Ohya Y, Miyamoto S, Matsunaga I, et al. Fish and fat intake and prevalence of allergic rhinitis in Japanese females: The Osaka Maternal and Child Health Study. *J Am Coll Nutr*. 2007 Jun 1;26(3):279–87.
140. Malinarich F, Duan K, Hamid RA, Bijin A, Lin WX, Poidinger M, et al. High Mitochondrial Respiration and Glycolytic Capacity Represent a Metabolic Phenotype of Human Tolerogenic Dendritic Cells. *J Immunol*. 2015 Jun 1;194(11):5174–86.
141. Eljaszewicz A, Ruchti F, Radzikowska U, Globinska A, Boonpiyathad T, Gschwend A, et al. Trained immunity and tolerance in innate lymphoid cells, monocytes, and dendritic cells during allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 May 1;147(5):1865–77.
142. Stagg AJ. Intestinal Dendritic Cells in Health and Gut Inflammation. *Front Immunol*. 2018;9:2883.
143. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. *Adv Immunol*; 2014. p. 91–119.

144. Venter C, Meyer RW, Nwaru BI, Roduit C, Untersmayr E, Adel-Patient K, et al. EAACI position paper: Influence of dietary fatty acids on asthma, food allergy, and atopic dermatitis. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019. p. 1429–44.
145. Hagemann PM, Nsiah-Dosu S, Hundt JE, Hartmann K, Orinska Z. Modulation of mast cell reactivity by lipids: The neglected side of allergic diseases. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2019. p. 1174.
146. Głobińska A, Boonpiyathad T, Satitsuksanoa P, Kleuskens M, van de Veen W, Sokolowska M, et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: Diverse mechanisms of immune tolerance to allergens. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2018 Sep;121(3):306–12.
147. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*; 2017. p. 1485–98.
148. Carlos Nunes; Elisa Pedro, Amélia Spínola Santos, Anabela Lopes ACC, Ana Todo -Bom, Ângela Gaspar, Carlos Loureiro, Celso Chieira, Celso Pereira, Eva Gomes, Leonor Bento LC, Mário Morais-Almeida RRA. Normas de Orientação em Imunoterapia Específica. *Rev Port Imunoalergologia*. 2011;19(4):199–213.
149. Bousquet J, Pfaar O, Togias A, Schünemann HJ, Ansotegui I, Papadopoulos NG, et al. 2019 ARIA Care pathways for allergen immunotherapy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019. p. 2087–102.
150. Mäntylä J, Thomander T, Hakulinen A, Kukkonen K, Palosuo K, Voutilainen H, et al. The effect of oral immunotherapy treatment in severe IgE mediated milk, peanut, and egg allergy in adults. *Immun Inflamm Dis*. 2018 Jun 1;6(2):307–11.
151. Palomares O, Akdis M, Martín-Fontecha M, Akdis CA. Mechanisms of immune regulation in allergic diseases: the role of regulatory T and B cells. *Immunol Rev*; 2017. p. 219–36.
152. Scadding GW, Eifan AO, Lao-Araya M, Penagos M, Poon SY, Steveling E, et al. Effect of grass pollen immunotherapy on clinical and local immune response to nasal allergen challenge. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jun 1;70(6):689–96.
153. Miyanaga N, Takagi H, Uto T, Fukaya T, Nasu J, Fukui T, et al. Essential role of submandibular lymph node dendritic cells in protective sublingual immunotherapy against murine allergy. *Commun Biol*. 2020 Dec 1;3(1).
154. Lao-Araya M, Steveling E, Scadding GW, Durham SR, Shamji MH. Seasonal increases in peripheral innate lymphoid type 2 cells are inhibited by subcutaneous grass pollen

- immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Nov 1;134(5):1193-1195.e4.
155. Calderon MA, Carr VA, Jacobson M, Sheikh A, Durham S. Allergen injection immunotherapy for perennial allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jan 8;2019(1).
 156. Dranitsaris G, Ellis AK. Sublingual or subcutaneous immunotherapy for seasonal allergic rhinitis: An indirect analysis of efficacy, safety and cost. *J Eval Clin Pract*. 2014;20(3):225–38.
 157. Okamoto Y, Fujieda S, Okano M, Yoshida Y, Kakudo S, Masuyama K. House dust mite sublingual tablet is effective and safe in patients with allergic rhinitis. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2017 Mar 1;72(3):435–43.
 158. Tie K, Miller C, Zanation AM, Ebert CS. Subcutaneous Versus Sublingual Immunotherapy for Adults with Allergic Rhinitis: A Systematic Review with Meta-Analyses. *Laryngoscope*. 2021;
 159. Gotoh M, Kaminuma O. Sublingual immunotherapy: How sublingual allergen administration heals allergic diseases; Current perspective about the mode of action. *Pathogens*. 2021 Feb 1;10(2):1–11.
 160. Lawrence MG, Steinke JW, Borish L. Basic science for the clinician: Mechanisms of sublingual and subcutaneous immunotherapy. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2016 Aug;117(2):138–42.
 161. Frischmeyer-Guerrero PA, Keet CA, Guerrero AL, Chichester KL, Bieneman AP, Hamilton RG, et al. Modulation of dendritic cell innate and adaptive immune functions by oral and sublingual immunotherapy. *Clin Immunol*. 2014;155(1):47–59.
 162. Giannetti A, Ricci G, Procaccianti M, Santoro A, Caffarelli C. Safety, efficacy, and preventive role of subcutaneous and sublingual allergen immunotherapy for the treatment of pediatric asthma. *J Asthma Allergy*. 2020;13:575–87.
 163. Pereira C. Dinâmica da inflamação alérgica e da imunoterapia específica. Contribuição para o seu estudo in vivo. PhD [Dissertação]. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2009.
 164. Sousa L, Martín-Sierra C, Pereira C, Loureiro G, Tavares B, Pedreiro S, et al. Subcutaneous immunotherapy induces alterations in monocytes and dendritic cells homeostasis in allergic rhinitis patients. *Allergy, Asthma Clin Immunol*. 2018;14(1).
 165. Tversky JR, Bieneman AP, Chichester KL, Hamilton RG, Schroeder JT. Subcutaneous

- allergen immunotherapy restores human dendritic cell innate immune function. *Clin Exp Allergy*. 2010 Jan;40(1):94–102.
166. Jutel M, Akdis M, Budak F, Aebischer-Casaulta C, Wrzyszczyk M, Blaser K, et al. IL-10 and TGF- β cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol*. 2003 May 1;33(5):1205–14.
167. Allam JP, Würtzen PA, Reinartz M, Winter J, Vrtala S, Chen KW, et al. Phl p 5 resorption in human oral mucosa leads to dose-dependent and time-dependent allergen binding by oral mucosal Langerhans cells, attenuates their maturation, and enhances their migratory and TGF- β 1 and IL-10-producing properties. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3).
168. Allam JP, Stojanovski G, Friedrichs N, Peng W, Bieber T, Wenzel J, et al. Distribution of Langerhans cells and mast cells within the human oral mucosa: New application sites of allergens in sublingual immunotherapy? *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jun;63(6):720–7.
169. Kitzmüller C, Jahn-Schmid B, Kinaciyan T, Bohle B. Sublingual immunotherapy with recombinant Mal d 1 downregulates the allergen-specific Th2 response [Internet]. Vol. 74, *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Wiley-Blackwell; 2019. p. 1579–81.
170. Tsai YG, Yang KD, Wen YS, Hung CH, Chien JW, Lin CY. Allergen-specific immunotherapy enhances CD8⁺ CD25⁺ CD137⁺ regulatory T cells and decreases nasal nitric oxide. *Pediatr Allergy Immunol*. 2019 Aug 1;30(5):531–9.
171. Burastero SE, Mistrello G, Falagiani P, Paolucci C, Breda D, Roncarolo D, et al. Effect of sublingual immunotherapy with grass monomeric allergoid on allergen-specific T-cell proliferation and interleukin 10 production. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2008;100(4):343–50.
172. Bohle B, Kinaciyan T, Gerstmayr M, Radakovics A, Jahn-Schmid B, Ebner C. Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Sep;120(3):707–13.
173. Potter PC, Baker S, Fenimore B, Nurse B. Clinical and cytokine responses to house dust mite sublingual immunotherapy. *Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2015 Apr 1;114(4):327–34.
174. Miura K, Inoue K, Ogura A, Kaminuma O. Role of CD4⁺ T cells in allergic airway diseases: Learning from murine models. *Int J Mol Sci*; 2020. p. 1–15.