



**MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE**

LARA FIDELIS VIEIRA LEMES

**CITOCINAS SÉRICAS DA RESPOSTA IMUNE EM ADULTOS E NEONATOS NA
IMUNIDADE TREINADA INDUZIDA POR BCG: REVISÃO SISTEMÁTICA.**

GOIÂNIA – GO

2022

LARA FIDELIS VIEIRA LEMES

**CITOCINAS SÉRICAS DA RESPOSTA IMUNE EM ADULTOS E NEONATOS NA
IMUNIDADE TREINADA INDUZIDA POR BCG: REVISÃO SISTEMÁTICA.**

Dissertação apresentada para o Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde, da Pró-Reitoria de Pós-graduação da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

Área de concentração: Ciências Ambientais e Saúde.

Linha de Pesquisa: Sociedade, Ambiente e Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer.

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva.

GOIÂNIA – GO

2022

Catálogo na Fonte - Sistema de Bibliotecas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Márcia Rita Freire - Bibliotecária - CRB1/1551

L552c Lemes, Lara Fidelis Vieira
Citocinas séricas da resposta imune em adultos e neonatos
na imunidade treinada induzida por BCG : revisão sistemática
/ Lara Fidelis Vieira Lemes. -- 2022.
44 f. : il.

Texto em português, com resumo em inglês.
Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, Escola de Ciências Médicas e da
Vida, Goiânia, 2022.
Inclui referências: f. 37-42.

1. Vacina BCG. 2. Imunidade. 3. Citocinas. I. Pfrimer,
Irmtraut Araci Hoffmann. II. Silva, Antonio Márcio
Teodoro Cordeiro. III. Pontifícia Universidade Católica
de Goiás - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
e Saúde - 30/03/2022. IV. Título.

CDU: 612.017(043)



**PUC
GOIÁS**



ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS.





No dia 30 de março de 2022, às 08h00 na sala de Defesas de Teses, Dissertações e Monografias, Bloco D, Área IV - PUC Goiás, **LARA FIDELIS VIEIRA LEMES**, discente do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde (PPGCAS) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, expôs, em Sessão Síncrona e Remota de Defesa de Dissertação de Mestrado, o trabalho intitulado **CITOCINAS SÉRICAS DA RESPOSTA IMUNE EM ADULTOS E NEONATOS NA IMUNIDADE TREINADA INDUZIDA POR BCG: REVISÃO SISTEMÁTICA**, para Comissão de Avaliação composta pelas docentes: **Prof. Dra. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer** (Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Presidente da Comissão), **Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva** (Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Co-orientador), **Prof. Dr. Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho** (Universidade Estadual de Goiás, Membro Convitado Externo) e **Prof. Dra. Iasmin Ribeiro da Costa** (Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Membro Convitado Interno). O trabalho da Comissão de Avaliação foi conduzido pelo(a) docente Presidente que, inicialmente, após apresentar os docentes integrantes da Comissão, concedeu **até 30 minutos** ao(a) discente candidato(a) para que este(a) expusesse o trabalho. Após a exposição, o(a) docente Presidente concedeu a palavra a cada membro convidado da Comissão para que estes arguissem o(a) discente candidato(a). Após o encerramento das arguições, a Comissão de Avaliação, reunida isoladamente, avaliou o trabalho desenvolvido e o desempenho do(a) discente candidato(a) na exposição, considerando a trajetória deste(a) no curso de mestrado. Como resultado da avaliação, a Comissão de Avaliação deliberou pela:

Aprovação da Dissertação

A Banca Examinadora considerou o(a) estudante **APROVADO(A)**. A Comissão de Avaliação pode sugerir alterações de forma e/ou conteúdo considerado aceitáveis, não impeditivo da aprovação do trabalho. As alterações deverão ser indicadas no Anexo ao presente documento e/ou podem constar na versão lida pelo membro da Comissão de Avaliação para a sessão de defesa da dissertação. Neste caso, a versão lida corrigida deverá ser entregue ao(a) discente candidato(a) no final da sessão. O(A) discente candidato(a) terá o prazo de sessenta (60) dias para os ajustes e entrega da versão final na Secretaria do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde, contado a partir da data da sessão de defesa da dissertação.

Reprovação da Dissertação

A Banca Examinadora considerou o(a) estudante **REPROVADO(A)**. A Comissão de Avaliação determina que o trabalho apresentado não satisfaz as condições mínimas para ser considerado dissertação de mestrado válida à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

A Comissão de Avaliação (Assinaturas):	Para uso da Coordenação/Secretaria do PPGCAS:
 Prof. Dra. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer Membro Presidente Pontifícia Universidade Católica de Goiás	
 Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva Co-orientador Pontifícia Universidade Católica de Goiás	Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges Coordenador do Programa de Pós-Graduação <i>Stricto Sensu</i> em Ciências Ambientais e Saúde Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 Prof. Dr. Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho Membro Externo Universidade Estadual de Goiás / UEG	Observações:
 Prof. Dra. Iasmin Ribeiro da Costa Membro Convitado Interno Pontifícia Universidade Católica de Goiás	Conforme normas institucionais esta banca de defesa ocorreu de forma síncrona e remotamente por meio de webconferência e a participação de todos os membros avaliadores é atestada pelo Presidente da Banca.
	1. O Presidente da Banca deverá informar qual recurso foi utilizado para realização da banca. 2. () Skype 3. () Microsoft Teams 4. () Outro(s) informar: _____



**PUC
GOIÁS**



ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS.

Discente: LARA FIDELIS VIEIRA LEMES

Título da Dissertação CITOCINAS SÉRICAS DA RESPOSTA IMUNE EM ADULTOS E NEONATOS NA IMUNIDADE TREINADA INDUZIDA POR BCG: REVISÃO SISTEMÁTICA

Data do exame: 30 de março de 2022, às 08h00

Correções; modificações; alterações; comentários; observações; pontos para reformulação etc. (Assinatura obrigatória).

Profa. Dra. Irmautra Araci Hoffmann Pfrimer (Membro Presidente) | Assinatura: Irmautra Araci Hoffmann Pfrimer
Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Prof. Dr. Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva (Co-orientador) | Assinatura: Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva
Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Prof. Dr. Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho (Membro Convidado Externo) | Assinatura: Hermínio Maurício da Rocha Sobrinho
Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

Profa. Dra. Iasmin Ribeiro da Costa (Membro Interno) | Assinatura: Iasmin Ribeiro da Costa
Assinale em caso afirmativo: [] O exemplar lido para o exame foi entregue ao discente com as correções necessárias.

Observações adicionais (Opcional):

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, ao meu esposo Ariel, à minha família e aos meus amigos. A ajuda, incentivo e parceria de cada um contribuíram para que esse sonho se tornasse realidade.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Profa. Dr.^a Irmtraut Araci, pela nossa incrível jornada, desde o início da minha graduação e agora também no mestrado. Sou grata por ter conhecido e aprendido tanto com suas orientações, conversas e momentos preciosos junto a uma xícara de café e boas risadas.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Antonio Márcio, por ajudar a tornar esse trabalho impecável.

A todas as pessoas envolvidas no Núcleo de Estudos e Pesquisas Imunológicas (NEPY). Fernanda Feitosa, Ana Paula e aos alunos de Iniciação Científica.

A todos os professores do Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde da PUC Goiás, por nos auxiliar e ensinar a trilhar uma nova jornada na pesquisa científica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pelo fomento e bolsa, possibilitando a realização desse trabalho e sonho.

Aos professores e doutores Hermínio Sobrinho e Iasmim Ribeiro por aceitarem participar da banca, corrigir e apontar melhorias nesta dissertação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais dos estudos selecionados abordando as citocinas dosadas após indução da imunidade inata treinada pela BCG em voluntários adultos saudáveis. Revisão sistemática, 2022.....	26
Tabela 2. Características gerais dos estudos selecionados abordando as citocinas dosadas após indução da imunidade inata treinada pela BCG em neonatos saudáveis. Revisão sistemática, 2022.....	27
Tabela 3. Metodologia aplicada e resultados das citocinas após estimulação específica e não específica em voluntários adultos saudáveis vacinados pela BCG. Revisão sistemática, 2022.....	29
Tabela 4. Metodologia aplicada e resultados das citocinas após estimulação específica e não específica em neonatos saudáveis vacinados pela BCG. Revisão sistemática, 2022.....	31

LISTA DE SIGLAS

Akt – Proteína Quinase Serina/Treonina

AP-1 – Ativador de Proteína 1

BCG – Bacilo *Calmette-Guérin*

CoA – Coenzima A

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

FDA – *Food and Drug Administration*

H3K27ac – Acetilação na Lisina 27 da Histona 3

H3K27me3 – Trimetilação na Lisina 27 da Histona 3

H3K4me3 – Trimetilação na Lisina 4 da Histona 3

HIF – *Hypoxia-inducible Factor*

IFN – Interferon

IL – Interleucina

IL-1Ra – Antagonista de Receptor de Interleucina 1

KDM5 - Lisina Demetilase 5

LPS – Lipopolissacarídeo

mTOR – *Mammalian Target of Rapamycin*

NCBI - National Center for Biotechnology Information

NF-κB – Fator Nuclear κBt

NK – *Natural Killer*

RNA – Ácido Ribonucleico

STAT – *Signal transducer and Activator of Transcription*

TCA – Ciclo do Ácido Tricarboxílico

TLR – *Toll-like*

TNF – Fator de Necrose Tumoral

Vs – Versus

α – Alfa

β – Beta

γ – Gama

λ – Lamda

RESUMO

A resposta da imunidade treinada ocorre com baixa especificidade, em uma infecção secundária, promovendo uma resposta acentuada das células imunes inatas. Esse processo advém de estimulação da imunidade inata por meio de partículas derivadas de agentes infecciosos ou não infecciosos. A vacina BCG é considerada potente indutor da memória imune inata. Seus efeitos heterólogos estão sendo avaliados em diferentes micro-organismos, como: vírus, bactérias, fungos e parasitas. É possível avaliar o treinamento das células imunes inatas, após estímulo, utilizando métodos laboratoriais, e um deles é a dosagem de citocinas. As citocinas são mediadoras da resposta inflamatória, atuando tanto na indução do processo inflamatório, como no controle e na cicatrização do tecido lesionado. O objetivo desta revisão foi de avaliar as principais citocinas caracterizadas após a indução da imunidade treinada pela vacina BCG, em adultos e neonatos saudáveis, e verificar se os resultados encontrados nesses dois grupos apresentam semelhanças ou divergências nas citocinas. Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, utilizando os bancos de dados do NCBI (plataforma PubMed) e o Periódicos Capes para busca e seleção dos artigos. Ao final da busca, seleção e análise, foram encontrados 10 artigos. Os resultados demonstraram que não há grandes diferenças entre os achados das citocinas dosadas nos adultos e nos neonatos, após a indução da imunidade treinada, pela vacina BCG. Estes resultados sugerem que a imunidade treinada ocorre em qualquer idade. Dois dos estudos selecionados abordavam resultados de citocinas dosadas após um ano, demonstrando a permanência da imunidade treinada induzida pela BCG neste período. A IL-6, IL-1 β , TNF- α foram as citocinas que mais se destacaram, pois demonstraram altos níveis séricos na maioria dos estudos. As citocinas pró-inflamatórias são as que mais apresentam alteração após a indução da imunidade treinada. É necessário realizar mais estudos de longo prazo para o melhor entendimento da imunidade treinada, o que beneficiaria o avanço de novas vacinas visando proteção humana contra diferentes tipos de infecções por micro-organismos. A vacinação pela vacina BCG é segura, eficaz e aprovada, porém o seu uso para a proteção de outros patógenos ainda estão sendo estudadas.

Palavras-chave: imunidade treinada; citocinas; BCG; adultos e neonatos.

ABSTRACT

The response of trained immunity occurs with low specificity, in a secondary infection, promoting a marked response of innate immune cells. This process comes from the stimulation of innate immunity through particles derived from infectious or non-infectious agents. The BCG vaccine is considered a potent inducer of innate immune memory. Its heterologous effects are being evaluated in different microorganisms, such as: viruses, bacteria, fungi and parasites. It is possible to evaluate the training of innate immune cells, after stimulation, using laboratory methods, and one of them is the dosage of cytokines. Cytokines are mediators of the inflammatory response, acting both in inducing the inflammatory process and in controlling and healing the injured tissue. The objective of this review was to evaluate the main cytokines characterized after the induction of immunity trained by the BCG vaccine, in healthy adults and neonates, and to verify if the results found in these two groups present similarities or divergences in the cytokines. This is a systematic literature review, using the NCBI databases (PubMed platform) and the Capes Periodicals to search and select articles. At the end of the search, selection and analysis, 10 articles were found. The results showed that there are no major differences between the findings of cytokines measured in adults and neonates, after induction of trained immunity by the BCG vaccine. These results suggest that trained immunity occurs at any age. Two of the selected studies addressed the results of cytokines measured after one year, demonstrating the permanence of BCG-induced trained immunity in this period. IL-6, IL-1 β , TNF- α were the cytokines that stood out the most, as they demonstrated high serum levels in most studies. Pro-inflammatory cytokines are the ones that most change after induction of trained immunity. More long-term studies are needed to better understand trained immunity, which would benefit the advancement of new vaccines aimed at human protection against different types of infections by microorganisms. Vaccination with the BCG vaccine is safe, effective and approved, but its use to protect against other pathogens is still being studied.

Keywords: trained immunity; cytokines; BCG; adults and neonates.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo geral.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1. Reprogramação epigenética.....	17
3.2. Citocinas.....	18
3.3. Características da imunidade treinada.....	20
3.4. BCG na imunidade treinada.....	20
4. METODOLOGIA.....	22
4.1. Critérios de Elegibilidade.....	22
4.2. Origem.....	22
4.3. Estratégia de busca.....	22
4.4. Processo de seleção.....	23
4.5. Processo de coleta de dados.....	23
4.6. Itens de dados.....	23
5. RESULTADOS.....	25
6. DISCUSSÃO.....	33
7. CONCLUSÃO.....	36
8. REFERÊNCIAS.....	37
9. ANEXOS.....	43
9.1. PRISMA checklist 2020.....	43
9.2. PRISMA diagram 2020.....	44

1. INTRODUÇÃO

O sistema imunitário dos vertebrados, quando estimulado por um antígeno, produz uma resposta frente ao mesmo que é classicamente dividida em: resposta imune inata e resposta imune adaptativa. A resposta imune inata é a primeira linha de defesa do nosso organismo, ao encontrar um patógeno, gerando uma resposta rápida e pouco específica. A resposta imune adaptativa é a segunda linha de defesa do nosso organismo, que, embora mais lenta para responder, desenvolve resposta específica frente ao patógeno, além de gerar a memória imunológica (NETEA *et al.*, 2017).

A capacidade de produzir memória imunológica já foi descrita como exclusiva do sistema imune adaptativo. Contudo, vários experimentos comprovaram que o sistema imune inato também é capaz, também, de criar memória imunológica, denominando-se imunidade treinada ou imunidade inata treinada (RUSEK *et al.*, 2018).

A memória imunológica adaptativa clássica é diferente da memória utilizada no contexto da imunidade inata treinada. A resposta da imunidade treinada é acentuada em uma infecção secundária, podendo responder para o mesmo micro-organismo ou para um diferente, gerando proteção cruzada (NETEA; QUINTIN; VAN DER MEER, 2011).

Esse processo envolve programação epigenética no núcleo das células de origem mieloide, ocasionando mudanças no comportamento metabólico e fenotípico, o que promove uma resposta imune intensa a estímulos secundários (MULDER *et al.*, 2020). A reprogramação epigenética, induzida pela vacina Bacilo Calmette-Guérin (BCG) nas células da imunidade inata, leva a uma produção aumentada das citocinas inflamatórias, resultando em uma ação mais ativa após a reestimulação (ARTS *et al.*, 2018).

Para a indução da imunidade treinada, utilizam-se estímulos efetores como: Bacilo Calmette-Guérin, β -glucana, quitina, lipopolissacarídeo (LPS) (RUSEK *et al.*, 2018). A vacina BCG é uma variante atenuada do *Mycobacterium bovis*, que causa tuberculose (TB), em bovinos (MULDER *et al.*, 2020).

A vacina BCG é aplicada em recém-nascidos, logo após o nascimento ou alguns dias após. Sua eficácia está acima de 70% contra a meningite tuberculosa e a TB miliar. Em contrapartida, a TB pulmonar resulta em proteção de 52% (COVIÁN *et al.*, 2019). A vacinação com a BCG reduziu a mortalidade em crianças, em decorrência da proteção cruzada não específica, gerada por essa vacina a outros patógenos. A primeira evidência descrita desse fenômeno foi em 1927, na Suécia, por Carl Näslund, que relatou uma taxa

de mortalidade três vezes menor em recém-nascidos vacinados com BCG, quando comparados aos não vacinados (AABY; BENN, 2012).

O estudo dos efeitos heterólogos da vacinação com BCG forneceu subsídios para a descoberta da imunidade treinada (NETEA; VAN DER MEER, 2017). Em 1959, a vacina BCG foi utilizada como produto imunoterapêutico para o tratamento do câncer. O seu uso foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA), dos EUA, para o tratamento do câncer de bexiga, além de outras doenças malignas, como: linfoma e melanoma (MULDER *et al.*, 2020).

Há diversas evidências sobre os efeitos protetores da vacinação e de estudos experimentais, com a BCG, induzindo a imunidade treinada em animais (KAUFMANN *et al.*, 2018) e humanos. A utilização da vacina BCG apresenta aplicações importantes, comprovadas em tratamentos imunoterapêuticos, e em efeitos protetores não específicos contra infecções virais, bacterianas e/ou fúngicas (MOORLAG *et al.*, 2019)

A imunidade treinada tem mudado nossa visão sobre o entendimento do sistema imunitário inato, além de diferentes formulações de vacinas, visando, futuramente, a produção de vacinas com proteção ampla, contra vários patógenos ao mesmo tempo. Nos últimos 10 anos, tem crescido bastante o conhecimento científico para compreender melhor como funciona a imunidade treinada (GOURBAL *et al.*, 2018).

Assim, questionamos: Há relação do aumento dos níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias, após indução da imunidade treinada pela BCG e proteção/ memória imunológica contra infecções secundárias em neonatos e adultos saudáveis?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Identificar as citocinas séricas estudadas na imunidade treinada induzida pela BCG em células da imunidade inata humana.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar as principais citocinas envolvidas no processo da imunidade inata treinada estimulada por BCG, em adultos e neonatos saudáveis.
- Analisar e comparar as metodologias utilizadas para dosagem de citocinas e os resultados apresentados nos estudos selecionados.
- Correlacionar as alterações dos níveis de citocinas com os benefícios e/ou prejuízos para a resposta imune em infecções secundárias.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Reprogramação epigenética

É definido como epigenética, o estudo das alterações hereditárias que ocorrem no cromossoma, não alterando a sequência de nucleotídeos no Ácido Desoxirribonucleico (DNA). As alterações epigenéticas podem regular a expressão gênica e o fenótipo, sendo induzidas por fatores endógenos ou exógenos, podendo ser propagadas para as próximas gerações. Os principais mecanismos para reprogramação epigenética são: alteração das histonas, por meio de enzimas (histonas acetiltransferases, histonas deacetiltransferases, histonas metiltransferases) e alteração de Ácido Ribonucleico (RNA) não codificantes (BECERRA et al., 2019). A metilação é um mecanismo que promove o silenciamento do gênico (FEINBERG, 2018), enquanto que a acetilação descompacta o cromossoma, promovendo acessibilidade e enriquecendo as marcas epigenéticas (COSTA; PACHECO, 2013).

As células mononucleares apresentam muitos loci que codificam genes inflamatórios, porém quando estão em repouso a cromatina encontra-se em estado condensado. Após o primeiro estímulo, inicia-se a acetilação das histonas, ativação dos fatores de transcrição, além do recrutamento de RNA polimerase II (SMALÉ; TARAKHOVSKY; NATOLI, 2014). Os promotores de citocinas pró-inflamatórias intensificam as assinaturas epigenéticas, promovendo a acetilação na lisina 27 da histona 3 (H3K27ac) e trimetilação na lisina 4 da histona 3 (H3K4me3) induzindo a transcrição (NETEA et al., 2016).

Após o segundo estímulo, ocorre aumento da expressão gênica em um curto período de tempo, sendo impulsionadas principalmente pelo Fator Nuclear κ B (NF- κ B), Ativador de Proteína 1 (AP-1) e membros da família *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT), trazendo maior acessibilidade à cromatina. O aumento da eficácia e rapidez no segundo contato é descrita como imunidade treinada (ARAÚJO, 2020).

A reprogramação epigenética e metabólica das células são dependentes uma da outra, ou seja, para que a reprogramação epigenética ocorra, é necessário que vários metabólitos atuem como cofatores induzindo modificações na cromatina e DNA (NETEA et al., 2016). Após o primeiro contato ou estímulo, a Proteína Quinase Serina/Treonina (Akt) é fosforilada ativando a via do *Mammalian Target of Rapamycin* (mTOR),

estimulando a mudança imunometabólica, além de promover a tradução e ativação da proteína *hypoxia-inducible factor* (HIF), importante regulador na resposta imune contra patógenos intracelulares. O HIF atua aumentando a glicólise e a codificação da IL-1 β e receptor de *Toll-like-2* (TLR2) e TLR4 (LIU et al., 2020). O metabolismo da glutamina junto ao Ciclo do Ácido Tricarboxílico (TCA) liberam metabólitos importantes (citrato e fumarato) para a indução do fenótipo treinado. O citrato é convertido em oxalacetato e Acetilcoenzima A (Acetil-CoA), atuando como doador de acetil para as histonas acetil transferases. O fumarato atua inibindo a lisina demetilase 5 (KDM5) histona demetilase, promovendo a acessibilidade para alteração na cromatina, enriquecendo a marca epigenética H3K4me3 (BEKKERING et al., 2018).

A vacinação com BCG induz reprogramação epigenética nas células tronco hematopoiéticas e nas células imunes circulantes, contribuindo para a expansão da linhagem mielóide treinada (KAUFMANN et al., 2018). As alterações induzidas pela vacina BCG atuam nos sítios promotores que codificam as citocinas pró-inflamatórias, enriquecendo marcas epigenéticas H3K27ac e H3K4me3 e diminuindo a H3K27me3 que atua na repressão gênica (ARAUJO, 2020).

3.2 Citocinas

A resposta inflamatória é o resultado de um dano tecidual, podendo ser de origem externa, como: agentes infecciosos e traumas, ou de origem interna, como: a atividade desregulada do sistema imunitário e de outros sistemas do nosso organismo. O propósito da inflamação é remover o estímulo que induziu tal resposta e promover a recuperação do tecido. Durante o processo da inflamação, as células endoteliais e imunes produzem e liberam os mediadores solúveis da inflamação. Os principais mediadores celulares são: as histaminas, óxido nítrico, leucotrieno B₄, prostaglandinas, bradicininas, citocinas e quimiocinas ((MARQUESI; REIGOTA; BUENO, 2018).

As citocinas são proteínas potentes, de baixo peso molecular, com capacidade de alterar a síntese de RNA, promovendo a maturação, diferenciação, ativação e inativação de diferentes células do organismo. Apresentam pleiotropismo, atuando na célula produtora, em células próximas ou distantes. A ação das citocinas se inicia logo após a ligação em receptores específicos, diminuindo ou aumentando a resposta imunitária (BONECCHI et al., 2016).

As citocinas são divididas nas seguintes famílias: os Fatores de Necrose Tumoral (TNF), os Interferons (IFN) e as Interleucinas (IL). As IL e os TNF são produzidas pelos monócitos, células Natural Killer (NK) e células T. Os IFNs são produzidos pelas células NK e apresentam quatro tipos: α , β , γ e λ (MERINI *et al.*, 2012). As principais citocinas estudadas na imunidade treinada e que têm apresentado aumento em diversos estudos são: IL-1 β , IL-6 e TNF- α . As três citocinas são pró-inflamatórias, atuando na regulação do processo inflamatório, por meio de mecanismos diretos e indiretos (MERINI *et al.*, 2012; NETEA *et al.*, 2011).

A IL-1 β atua em diferentes funções biológicas, como o aumento da sinalização durante uma infecção na fase aguda, promovendo o deslocamento das células imunes para o local de infecção e a produção secundária de citocinas (TISONCIK *et al.*, 2012). A regulação da hematopoiese de emergência também é outra função da IL-1 β ; sua ação está relacionada à atividade funcional nos progenitores hematopoiéticos da medula óssea, aumentando a sobrevivência das células mielóides maduras (MITROULIS *et al.*, 2018). A IL-1 β apresentou capacidade de gerar imunidade treinada *in vitro*. Foi utilizada como estimulante em monócitos humanos, demonstrando um fenótipo semelhante ao gerado pelo estímulo da BCG, e apresentou aumento na produção de IL-6 e TNF- α (ARTS *et al.*, 2018).

A IL-6 apresenta atividades pró e anti-inflamatórias; sua função protetora está ligada à via de sinalização clássica, onde o receptor da IL-6 (IL-6R) se liga à membrana da célula. A atividade pró-inflamatória é mediada pela via de trans-sinalização, utilizando o receptor de IL-6 solúvel (sIL-6R) (JOHN, 2018). Outras funções mediadas pela IL-6 são: regulação metabólica; ação neurotrófica; diferenciação de linfócitos B e células-tronco mielóides em plasmócitos; proliferação de células T (MARQUESI *et al.*, 2018).

O TNF- α apresenta funções homeostáticas benéficas, como: a defesa contra microorganismos, regeneração tecidual, resolução do processo inflamatório, desenvolvimento do órgão linfóide e inibição do crescimento tumoral. Após o início da inflamação, o TNF- α promove a proliferação de células imunes e estimulação do endotélio vascular (KEMANETZOGLOU; ANDREADOU, 2017). É considerado um importante regulador nas respostas inflamatórias e está envolvido na patogênese de doenças autoimunes e inflamatórias (JANG *et al.*, 2021).

3.3. Características da imunidade treinada

A imunidade treinada apresenta três características, de acordo com Netea *et al.* (2011). A primeira ocorre após uma infecção primária ou vacinação, gerando uma estimulação e proteção a uma infecção secundária de forma independente das respostas das células imunes adaptativas. A segunda é que há resposta aumentada das células imunes treinadas na infecção secundária e em qualquer outra infecção, pois não apresenta muita especificidade. A terceira é que as células que medeiam o estado de alta ativação da imunidade treinada são os monócitos, macrófagos e células *Natural-killer* (NK).

A resposta imune treinada está associada à reprogramação epigenética nos monócitos circulantes e nas células progenitoras da medula óssea, com modificação intracelular do metabolismo e das histonas. As células imunes inatas treinadas demonstram uma resposta transcricional forte até certo ponto, quando comparadas a células imunes inatas não treinadas. Mudanças na disposição da cromatina e persistência de microRNAs são evidências induzidas pelo primeiro estímulo. As células NK, os monócitos e os macrófagos estão em maior destaque, não por serem as únicas ou as melhores células na atividade da resposta imune treinada, mas por conexão histórica em estudos que demonstraram que os macrófagos mostraram mecanismos semelhantes à memória, por meio de experimentos com LPS (NETEA *et al.*, 2017).

3.4. Vacina BCG na imunidade treinada

A BCG foi uma das vacinas mais administradas, no mundo, desde a década de 1930, para a prevenção da tuberculose. Além disso, foram observados efeitos inespecíficos de proteção da vacina, beneficiando o sistema imunitário de bebês e neonatos de baixo peso e saudáveis, a responderem, de forma menos agressiva, a infecções respiratórias; consequentemente, a alta mortalidade de bebês e neonatos começaram a diminuir (HEIJDEN *et al.*, 2018).

Estudos experimentais em células mononucleares humanas têm sido mais utilizados para a análise da imunidade treinada. Kleinnijenhuis *et al.* (2012) fizeram um treinamento inespecífico com o patógeno *Candida albicans*, em voluntários vacinados recentemente com BCG. O obtiveram resultados da resposta imune inata aumentada em IFN γ produzida por linfócitos e, principalmente, TNF α e IL6 produzidos por monócitos.

A utilização de macrófagos alveolares humanos, a partir da amostra de escarro de voluntários saudáveis vacinados com BCG, demonstrou a possibilidade da aplicação da metodologia de indução da imunidade treinada em células imunes de diferentes sistemas. Foi observada alteração fenotípica na inflamação dos macrófagos alveolares durante a inflamação e aumento das citocinas: IL-1 β , Antagonista de receptor da interleucina 1 (IL-1Ra), TNF- α e IL-6 nas primeiras 24h (KOEKEN *et al.*, 2020).

4. METODOLOGIA

Esta pesquisa trata-se de uma revisão sistemática da literatura sobre o sistema imunitário de adultos e neonatos saudáveis, após a indução da imunidade treinada pela BCG, nas células imunes inatas, sendo avaliada a responsividade pela análise da dosagem de citocinas.

4.1. Critérios de Elegibilidade

Para a seleção dos estudos, foram adotados, como critérios de inclusão: artigos com *abstract*, revisado por pares, no período de 2010 a 2021, com tema principal de imunidade treinada induzida por BCG e estudos experimentais em células imunes humanas. Como critérios de exclusão, foram retirados: estudos experimentais com animais, estudos voltados para doenças de origem não infecciosa e com comorbidades.

4.2. Origem

As bases de dados escolhidas para busca foram: *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) – utilizando a plataforma do PubMed e Periódicos Capes, pois indexam grande quantidade de revistas de vários países. As buscas pela PubMed foram iniciadas no dia 26 de abril e finalizadas no dia 21 de maio de 2021, enquanto as buscas pelo Periódicos Capes se iniciaram e terminaram no dia 28 de julho de 2021.

4.3. Estratégia de busca

Foram utilizados os mesmos descritores e filtros nas bases de dados: Pubmed e Periódicos Capes. Os cinco descritores escolhidos foram: *trained immunity*; *innate memory*; *trained innate immunity*; *innate immunity memory*; e *trained immunity in monocytes*. Os filtros usados foram: operador booleano – aspas (“”), recorte temporal no período de 2010 a 2021, com *abstract* e revisado por pares.

4.4. Processo de seleção

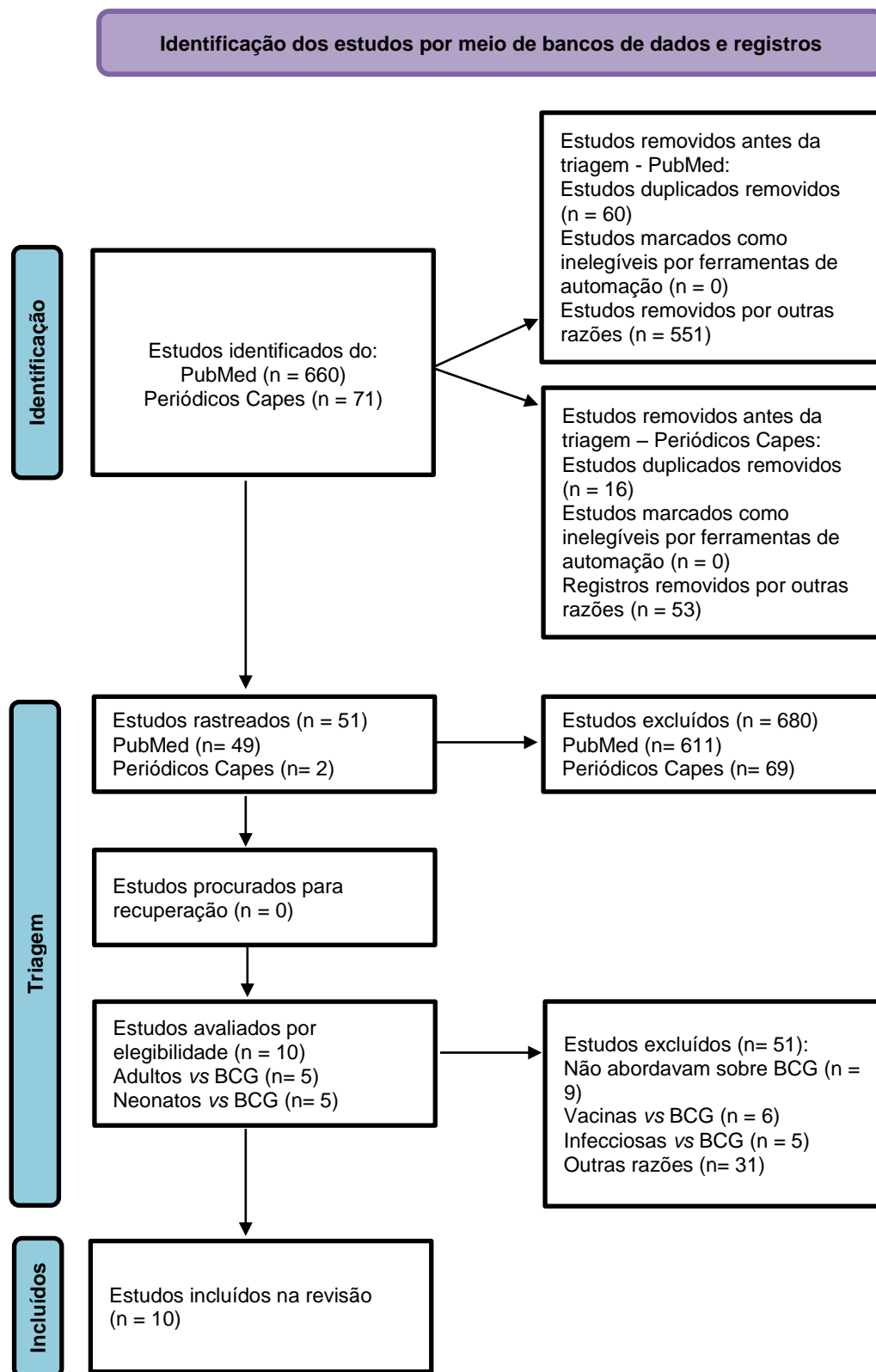
Ao fim da busca, foram obtidos 51 estudos (49 da PubMed e 2 do Periódicos Capes) para seleção, duas revisoras fizeram a análise dos estudos manualmente de forma independente e depois em conjunto. Foram analisados a metodologia e os resultados de todos os estudos, separando-os em 2 grupos: adultos e BCG (5 estudos); neonatos e BCG (5 estudos).

4.5. Processo de coleta de dados

Após a seleção dos 10 estudos mencionados anteriormente, se iniciou o processo de coleta de dados, avaliando cada estudo de forma independente.

4.6. Itens de dados

Figura 1:



Obs.: Todos os filtros citados anteriormente foram usados e contribuíram para que não houvesse estudos procurados para recuperação. As outras razões não detalhadas dos estudos excluídos são: estudos que não tinham dosagem de citocinas, dosagem de citocinas antes da vacinação com BCG e estudos com animais.

5. RESULTADOS

Dentre os 10 estudos selecionados para análise, Kleinnijenhuis et al. (2012), Kleinnijenhuis et al. (2013) e Kleinnijenhuis et al. (2014) foram os únicos que não descreveram o tipo de vacina BCG que foi utilizada nos seus estudos. As vacinas BCG; utilizadas nos demais estudos foram de dois tipos: a primeira vem de uma estirpe dinamarquesa com numeração 1331 (BCG 1331 Danish), e a segunda foi feita pelo Laboratório Intervax, na Bulgária (BCG Bulgaria Intervax). Ambas utilizam o *M. tuberculosis* vivo atenuado (SISCO et al., 2020).

Na Tabela 1, há a descrição dos 5 estudos selecionados, apresentando resumidamente o tema ou título abordado, o autor, o ano da publicação, a quantidade de voluntários, adultos saudáveis e as citocinas dosadas. Optamos por demonstrar os resultados em forma de tabela para facilitar a visualização e entendimento de todos os artigos. Para os estudos com adultos, foi constatada uma média de 26,0 (\pm 11,6) participantes, com variação de 18 até 48.

Tabela 1. Características gerais dos estudos selecionados abordando as citocinas dosadas após indução da imunidade inata treinada em voluntários adultos saudáveis. Revisão sistemática, 2022.

TÍTULO	AUTOR E ANO	Nº PARTICIPANTES	CITOCINAS DOSADAS
(1) Long-Lasting Effects of BCG Vaccination on Both Heterologous Th1/Th17 Responses and Innate Trained Immunity.	KLEINNIJENHUIS <i>et al.</i> (2013).	18 voluntários	TNF α , IL-1 β , IFN- γ , IL-17 e IL-22.
(2) BCG-induced trained immunity in NK cells: role for non-specific protection to infection.	KLEINNIJENHUIS <i>et al.</i> (2014).	29 voluntários (dosagem de citocinas em 20 voluntários)	TNF α , IL-1 β , IL-6, IFN β e IFN γ .
(3) BCG Vaccination in Humans Elicits Trained Immunity via the Hematopoietic Progenitor Compartment.	CIROVIC <i>et al.</i> (2020).	20 voluntários	IFN α , IFN γ , IL-1 β , IL-10, IL-6, TNF, e IL-1Ra.
(4) Bacille Calmette-Guérin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes.	KLEINNIJENHUIS <i>et al.</i> (2012).	20 voluntários	TNF α , IL-1 β , IL-6 e IFN γ .
(5) BCG Vaccination Induces Long-Term Functional Reprogramming of Human Neutrophils.	MOORLAG <i>et al.</i> (2020).	25 voluntários antes da vacinação e 23 após a vacinação	IL-8, TNF α e IL-1 β .

Legenda: IL (interleucina), TNF α (fator de necrose tumoral alfa), β (beta), IFN γ (interferon gama), IL-1Ra.

A Tabela 2 apresenta as mesmas descrições da Tabela 1, só que o público-alvo é de neonatos. Todos os estudos aqui selecionados foram aprovados por comitês de ética em pesquisa e tinham a autorização por escrito dos pais. Para todos os estudos com neonatos, houve uma média de 84,6 ($\pm 88,8$) participantes, com variação de 15 até 212.

Tabela 2. Características gerais dos estudos selecionados abordando as citocinas dosadas após indução da imunidade inata treinada em neonatos saudáveis. Revisão sistemática, 2022.

TÍTULO	AUTOR E ANO	Nº PARTICIPANTES	CITOCINAS DOSADAS
(6) BCG-induced non-specific effects on heterologous infectious disease in Ugandan neonates: an investigator-blind randomized controlled trial.	PRENTICE <i>et al.</i> (2021).	462 neonatos (dosagem de citocinas em 31 neonatos)	TNF, IL-1 β , IL-6, IL-10 e IFN γ .
(7) Whole Blood Profiling of Bacillus calmette-guérin-induced Trained innate immunity in infants identifies epidermal growth Factor, il-6, Platelet-Derived growth Factor-aB/ BB, and natural Killer cell activation.	SMITH <i>et al.</i> (2017).	21 neonatos (11 vacinados e 10 não vacinados)	IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, IFN α 2, IFN γ , TNF α , TNF β .
(8) Bacillus Calmette-Guérin vaccination at birth and in vitro cytokine responses to non-specific stimulation. A randomized clinical trial.	NISSEN <i>et al.</i> (2017)	144 neonatos (76 vacinados e 68 não vacinados)	IL-1 β , TNF- α , IL-6, IFN- γ , IL-10, IL-17, IL-22.
(9) Neonatal BCG vaccination influences cytokine responses to Toll-like receptor ligands and heterologous antigens.	FREYNE <i>et al.</i> (2018).	212 neonatos (119 vacinados e 93 não vacinados)	IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IFN- γ , IL-10, TNF- α .
(10) Monocytes from neonates and adults have a similar capacity to adapt their cytokine production after previous exposure to BCG and β -glucan.	NAMAKULA <i>et al.</i> (2020).	30 voluntários adultos e 15 neonatos.	IL-6, IL-10 e TNF.

Nos estudos envolvendo a estimulação da imunidade treinada pela BCG em adultos foram utilizadas amostras de sangue total, para separação e cultivo celular das células imunes inatas. Após a estimulação com agentes microbianos foi realizada a dosagem das citocinas.

Em todos os 5 estudos dos adultos e a BCG, a metodologia escolhida para a coleta e análise dos experimentos ocorreu em 3 etapas. A primeira coleta foi realizada antes da vacinação dos voluntários saudáveis e virgens de BCG; a segunda coleta foi realizada após 2 semanas da vacinação com BCG; e a terceira após 3 meses. Apenas Kleinnijenhuis *et al.* (2013), optaram por fazer uma quarta coleta, após 1 ano da vacinação com BCG.

As citocinas dosadas nos adultos foram: IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-22, IFN- α , IFN- β , IFN- γ e TNF- α . As três citocinas que apresentaram altos níveis nos experimentos dos adultos vacinados com BCG foram: IL-1 β , IFN- γ e TNF- α (Tabela 3).

Tabela 3. Metodologia aplicada e resultados das citocinas após estimulação específica e não específica nos voluntários adultos saudáveis vacinados pela BCG. Revisão sistemática, 2022.

AUTOR	AMOSTRA/ COLETA	EXPERIMENTO	AUMENTO DAS CITOCINAS	NÃO ALTERAÇÃO DAS CITOCINAS
(1) KLEINNIJENHUIS et al. (2013).	Sangue venoso, coleta antes da vacinação, 2 semanas, 3 meses e 1 ano após a vacinação.	Separação celular, estimulação com <i>M. tuberculosis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S.</i> <i>aureus</i> e <i>E. coli</i> .	Após vacinação: IFN- γ , IL-17, IL-22, TNF- α e IL-1 β .	-
(2) KLEINNIJENHUIS et al. (2014).	Sangue venoso, coleta antes da vacinação, 2 semanas, 3 meses após a vacinação.	Separação celular, estimulação com <i>M. tuberculosis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S.</i> <i>aureus</i> .	Após a vacinação: IL- 1 β , IL-6 e TNF- α .	IFN β estava abaixo do limite de detecção e o IFN- γ não teve aumento significativo.
(3) CIROVIC <i>et al.</i> (2020).	Sangue venoso, coleta antes da vacinação, 2 semanas, 3 meses após a vacinação.	Separação celular, estimulação com placebo e <i>C.</i> <i>albicans</i> .	Após vacinação: IFN- γ , IL-1Ra, IL-10, IFN- α e IL-1 β .	TNF e IL-6 não apresentaram diferença nas dosagens antes e depois da vacinação.
(4) KLEINNIJENHUIS <i>et al.</i> (2012).	Sangue venoso, coleta antes da vacinação, 2 semanas, 3 meses após a vacinação.	Separação celular, estimulação com <i>M. tuberculosis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>S.</i> <i>aureus</i> .	Após vacinação: IFN- γ , IL-1 β , TNF- α .	IL-6 estava abaixo do limite de detecção.
(5) MOORLAG <i>et</i> <i>al.</i> (2020).	Sangue venoso, coleta antes da vacinação, 2 semanas, 3 meses após a vacinação.	Separação celular, estimulação com <i>M. tuberculosis</i> , <i>C. albicans</i> e LPS.	Após vacinação: IL-8.	IL-1 β e TNF- α estavam abaixo do limite de detecção.

Legenda: *M. tuberculosis* (*Mycobacterium tuberculosis*), *S. pneumoniae* (*Streptococcus pneumoniae*), *C. albicans* (*Candida albicans*), *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*), *E. coli* (*Escherichia coli*) e LPS (Lipopolissacarídeo bacteriano).

Nos estudos envolvendo a estimulação da imunidade treinada pela BCG em neonatos, para verificação da dosagem de citocinas foram utilizados sangue venoso e/ou sangue do cordão umbilical para realização dos experimentos. As citocinas dosadas nos neonatos foram: IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10,

IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17, IL-22, IFN γ , IFN α 2, TNF, TNF α e TNF β . As três citocinas que apresentaram altos níveis nos experimentos foram: IL-1 β , IL-6 e TNF- α .

Prentice *et al.* (2021), realizaram a coleta em dois grupos: neonatos vacinados após o nascimento e neonatos vacinados de forma tardia (após 6 semanas). As coletas foram realizadas após 5 dias da vacinação. Os neonatos vacinados no nascimento tiveram sua primeira coleta de sangue após 5 dias e após 6 semanas. No grupo tardio da vacinação, a primeira coleta foi realizada na sexta semana após alguns dias já vacinados e em 10 semanas. Houve diferença significativa no aumento das citocinas dos neonatos vacinados no nascimento, em comparação com os neonatos vacinados tardiamente.

Smith *et al.* (2017), dividiram seu experimento em dois grupos: neonatos vacinados com BCG após 6 semanas e neonatos não vacinados. Dentre as citocinas dosadas, a IL-6 foi a única que teve aumento estatisticamente significativo nos estímulos específicos, com o *M. tuberculosis* e, também, nos estímulos não específicos.

Nissen *et al.* (2017), avaliaram dois grupos: neonatos vacinados e não vacinados. A vacinação foi feita em até 7 dias após o nascimento e após 4 dias foi feita a primeira coleta desse grupo, seguindo depois o protocolo de coleta após 3 meses da vacinação com BCG e 13 meses. Dentre as citocinas dosadas, o IFN- γ e a IL-22 obtiveram aumento estatisticamente significativo com o estímulo da BCG, após 13 meses.

No estudo de Freyne *et al.* (2018), foi feita a vacinação com BCG do primeiro grupo em até 10 dias após o nascimento e a coleta de sangue foi realizada após 7 dias da vacinação, nos neonatos vacinados, e nos neonatos não vacinados. As citocinas que apresentaram aumento estatisticamente significativo (IL-1 β , IL-6 e IL-1Ra) foram dos neonatos vacinados e de mães que também haviam sido vacinadas pela BCG, em algum momento de suas vidas.

Namakula *et al.* (2020), fizeram a coleta de sangue dos neonatos pelo cordão umbilical no nascimento, e, nos adultos, foram realizadas coletas de sangue venoso. Os estímulos foram realizados utilizando a BCG, LPS e β -glucana. A IL-6 apresentou aumento estatisticamente significativo, após o estímulo com BCG, nos adultos e nos neonatos, e o TNF teve aumento somente nos adultos (Tabela 4).

Tabela 4. Metodologia aplicada e resultados das citocinas após estimulação específica e não específica nos neonatos saudáveis vacinados pela BCG. Revisão sistemática, 2022.

AUTOR	COLETA/ AMOSTRA	EXPERIMENTO	AUMENTO DAS CITOCINAS	NÃO ALTERAÇÃO DAS CITOCINAS
(6) PRENTICE <i>et al.</i> (2020).	Sangue venoso, 5 dias após vacinação, 6 semanas e 10 semanas.	Separação celular, estimulação com <i>E. coli</i> , <i>S.pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> e <i>C. albicans</i> .	Nos bebês vacinados no nascimento: IL-6, TNF e IL-1 β .	IL-10 e IFN- γ não foram divulgados.
(7) SMITH <i>et al.</i> (2017).	Sangue venoso, após 4 meses de vida.	Separação celular, estimulação com LPS, <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. tuberculosis</i> e PPD.	IL-8, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12p40, IL-2, IFN- γ , IL-13, IL-1 α , IL-1Ra, IL-5, TNF- α , IFN α 2 e TNF β .	IL-1 β , IL-3, IL-4, IL-9, IL-12p70 e IL-15.
(8) NISSEN <i>et al.</i> (2017).	Sangue venoso após 4 dias da vacinação, 3 meses e 13 meses.	Separação celular, estimulação com LPS, <i>E. coli</i> , <i>S. pneumoniae</i> , BCG, <i>C. albicans</i> e PHA.	IFN- γ e IL-22 – c/ estímulo da BCG.	IL-1 β , IL-10, TNF- α , IL-6 e IL-17.
(9) FREYNE <i>et al.</i> (2018).	Sangue venoso após \pm 17 dias do nascimento.	Separação celular, estimulação com <i>M. tuberculosis</i> , LPS, <i>E. coli</i> , <i>S. pneumoniae</i> , BCG, <i>C. albicans</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. grupo B</i> , <i>L. monocytogenes</i> , Peptídeo glucano e Pam3csk4.	IL-1 β , IL-6 e IL-1Ra.	IL-10, IFN- γ , IL-8, TNF- α .
(10) NAMAKULA <i>et al.</i> (2020).	Sangue umbilical e sangue venoso dos adultos.	Separação celular, estimulação com LPS, BCG, <i>C. albicans</i> e β -glucano.	Adultos: IL-6 e TNF. Neonatos: IL-6.	Adultos:IL-10. Neonatos: IL-10 e TNF.

Legenda: PPD ((S)-(2,3-bis(palmitoyloxy)-(2RS) -propyl)- N-palmitoyl-(R)-Cys-(S)-Ser(S)-Lys4-OH), PHA (phytohemagglutinin), *H. influenzae* (*Haemophilus influenzae*), *L. monocytogenes* (*Listeria monocytogenes*), *S. grupo B* (*Streptococcus* do grupo B.), β -glucano (beta-glucano).

Não houve diminuição das citocinas, em todos os 10 estudos analisados durante os experimentos. Utilizamos o termo nas Tabelas 3 e 4 de “não alteração das citocinas”, representando as citocinas que não puderam ser dosadas por estarem abaixo do nível de detecção, e para aquelas que não ultrapassaram o limite do controle. Curiosamente, nenhum estudo teve diminuição das citocinas durante o experimento, apenas mantiveram-se nos mesmos níveis do controle.

A metodologia aplicada aos estudos com neonatos foi diferente da aplicada com os adultos, principalmente, pela dificuldade da coleta e quantidade permitida de extração sanguínea. Portanto, dos 5 artigos selecionados, Smith *et al.* (2017), Freyne *et al.* (2018) e Namakula *et al.* (2020) fizeram apenas uma coleta. Namakula *et al.* (2020) optaram por fazer a coleta pelo cordão umbilical dos neonatos, logo após o nascimento e não foi identificado se as mães eram vacinadas com BCG. Prentice *et al.* (2021) conseguiram fazer 2 coletas e o Nissen *et al.* (2017) conseguiram fazer 3 coletas.

6. DISCUSSÃO

O termo de imunidade inata treinada surgiu após diversos estudos sobre os mecanismos de proteção, durante uma reinfecção ou proteção cruzada, não podendo continuar a afirmar que somente a imunidade adaptativa estava relacionada. Em 2011, foi utilizado o termo “imunidade treinada” para definir o processo em que as células da imunidade inata desenvolviam um “treinamento”, após o primeiro contato com algum agente microbiano ou estímulo, respondendo de forma mais ampla em um segundo contato com mesmo agente microbiano ou um diferente (NETEA *et al.*, 2011).

A reprogramação epigenética promove mudança nos sítios promotores das citocinas pró-inflamatórias. O resultado dessa ação é o aumento da produção de citocinas, que acarreta na potencialização da ação da resposta imune contra o invasor, eliminando-o com mais rapidez e eficácia (ARTS *et al.*, 2018). As principais citocinas descritas na característica da imunidade treinada foram as citocinas pró-inflamatórias, como: TNF- α e IL-6, e as anti-inflamatórias, como: IL-10 e IL-1Ra (BEKKERING *et al.*, 2016).

Nesta revisão, em todos os artigos selecionados, pelo menos uma das citocinas acima citadas estava presente. Nos artigos em que os voluntários eram adultos, o TNF- α foi dosado em todos os 5 artigos, e apresentou aumento significativo em 4 deles, sendo que no estudo de Moorlag *et al.* (2020), o TNF- α estava com o limite abaixo da detecção, portanto não pode-se afirmar que não houve aumento ou diminuição. Nos artigos em que os voluntários eram neonatos, a IL-6 foi a que mais apresentou aumento estatisticamente significativo.

Após a análise dos 10 artigos, as principais citocinas que apresentaram aumento estatisticamente significativo após os experimentos, tanto nos adultos *vs.* BCG, quanto nos neonatos *vs.* BCG foram as mesmas: IL-6, TNF- α e IL-1 β . Esses resultados encontrados estavam de acordo com os resultados apresentados por Netea *et al.* (2011), Cheng *et al.* (2015) e Merini *et al.* (2012), como as principais citocinas no papel da imunidade inata treinada.

Kleinnijenhuis *et al.* (2013) demonstraram que as respostas de potencialização inespecíficas, geradas pela imunidade inata treinada, se manifestaram por pelo menos 1 ano após estímulo específico (*M. tuberculosis*) e não específicos (*C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*), em adultos vacinados com a BCG. Nissen *et al.* (2017) também demonstraram a mesma capacidade das células imunes inatas treinadas de manterem a resposta por pelo

menos 1 ano com estímulo específico do *M. tuberculosis* após a vacinação com BCG, só que em neonatos. Podemos supor que talvez a imunidade treinada não tenha diferença no quesito de idade, entre neonatos e adultos, pois estão mantendo os níveis altos de citocinas, após um ano.

O estudo de Namakula *et al.* (2020) foi o único artigo que fez os experimentos com voluntários adultos e neonatos ao mesmo tempo. Os resultados demonstraram uma magnitude semelhante nas respostas das citocinas dos adultos e neonatos, principalmente, para a IL-6. Esses dados são similares aos artigos desta revisão, pois a IL-6 foi a que mais apresentou aumento estatisticamente significativo nos experimentos, com os neonatos, e em segundo com os adultos.

Entre os artigos selecionados e analisados, apenas os estudos de Kleinnijenhuis *et al.* (2013) e Nissen *et al.* (2017) conseguiram fazer acompanhamento e experimento de até 1 ano. Várias limitações impedem que os estudos se prolonguem por 1 ano ou mais, como: falta de financiamento, mudanças e/ou viagens dos voluntários, doenças infecciosas ou comorbidades, perda do contato, falta de interesse em continuar o estudo, dentre outros.

Vários países que aderiram à vacina BCG, no programa nacional de imunização, têm visto resultados positivos. Na Guiné-Bissau, após a aplicação da vacinação com BCG, em neonatos, a mortalidade neonatal reduziu em 38% (SORENSEN *et al.*, 2017). Na África do Sul, após aplicação da vacina BCG, em adolescentes houve diminuição nas infecções do trato respiratório em 73% (NEMES *et al.*, 2018). Há ensaios controlados e randomizados, na Holanda e na Austrália, que estão avaliando se a vacina BCG reduz a gravidade e/ou a incidência da COVID-19 (CURTIS *et al.*, 2020).

Como citado anteriormente, as citocinas são proteínas que medeiam e/ou regulam todo o sistema imunitário. Durante uma infecção, as células da imunidade inata, que foram treinadas, produzem altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, promovendo resolução mais rápida da infecção (ARTS *et al.*, 2018; MERINI *et al.*, 2012). O que não se sabe ao certo é, até que ponto o treinamento das células imunes inatas pode trazer somente benefícios?

As citocinas são liberadas na corrente sanguínea e podem alcançar e ter acesso a todos os sistemas do nosso organismo e quando estão desreguladas podem trazer graves malefícios à saúde (VORNHAGEN *et al.*, 2018). A produção desregulada de TNF está associada ao agravamento de várias doenças autoimunes e inflamatórias crônicas, como: a artrite reumatoide (RADNER; ALETAHA, 2015), psoríase e doenças inflamatórias

intestinais (COTTONE *et al.*, 2019). E o uso de medicamentos inibidores de TNF já são aprovados e utilizados (ABRAHAM; AHMED; ALI, 2017).

A IL-6 se encontra em baixos níveis na corrente sanguínea, em condições fisiológicas normais, e aumentam milhares de vezes quando nosso organismo inicia algum processo inflamatório. O seu aumento desregulado está associado a doenças inflamatórias crônicas e autoimunes (JOHN, 2018). O medicamento Tocilizumabe promove a neutralização da IL-6, por meio de um anticorpo monoclonal, e já é utilizado em mais de 100 países em tratamentos de doenças autoimunes (TANAKA *et al.*, 2014).

A IL-1 β tem papel importante na regulação da resposta imune no sistema nervoso central (SNC). O aumento desregulado da IL-1 β está associado à neuroinflamação e problemas no aprendizado espacial e memória, já demonstrados em modelos murinos (TONG *et al.*, 2012; GARBER *et al.*, 2018). Altos níveis de citocinas pró-inflamatórias no SNC estão sendo descritas, associadas a doenças neurológicas, como: a doença de Parkinson, doença de Alzheimer, esquizofrenia e convulsões febris (KHAZIM *et al.*, 2018; MANTOVANI *et al.*, 2020).

Durante a busca e seleção dos artigos, uma limitação que encontramos foi que grande parte dos artigos apresentava experimentos em animais. Nossa revisão foi voltada para artigos em que os testes fossem realizados em células humanas saudáveis e com o uso da vacina BCG. Apenas 2 dos artigos selecionados nesta revisão obtiveram resultados até 1 ano de experimento, sendo necessário haver mais estudos a longo prazo para avaliação da mesma.

7. CONCLUSÃO

Países que têm a vacina BCG dentro do programa nacional de imunização apresentam índices de mortalidade menores, em neonatos, e infecções do trato respiratório, em comparação aos países que deixaram de utilizar a vacina. A utilização da vacina BCG em neonatos é aprovada e segura. Nossa recomendação é que ela deve sim continuar sendo aplicada em neonatos e em adultos que não foram vacinados anteriormente, em âmbito global. Entretanto, sua utilização para combate de outros patógenos e produção de vacinas ainda está sendo estudada em ensaios clínicos randomizados.

A imunidade treinada é um campo significativo para o melhor entendimento do sistema imunitário, além de beneficiar o avanço de estudos e produção de vacinas, visando à proteção humana contra diferentes tipos de ameaças microbianas. Este estudo contribuiu significativamente para elucidação das principais citocinas alteradas após a indução da imunidade treinada pela BCG em grupos com faixas etárias distintas. Todavia, é necessário ter mais estudos que ultrapassem um ano de teste, para descobrir e apurar as propriedades da imunidade treinada, em longo prazo e utilização de outras células do organismo. Além, de ter estudos no aprofundamento, dos mecanismos e vias, que as citocinas atuam, após treinamento das células imunes inatas.

8. REFERÊNCIAS

AABY, P.; BENN, C. S. Saving lives by training innate immunity with bacille Calmette-Guérin vaccine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 43, p. 17317–17318, 2012.

ABRAHAM, B. P.; AHMED, T.; ALI, T. Inflammatory Bowel Disease: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. **Handbook of Experimental Pharmacology**, p.32, 2017.

ARAÚJO, AC. Avaliação da proteção mediada pela Imunidade Treinada induzida pela cepa vacinal BCG contra a infecção pela bactéria patogênica *Brucella abortus*. **Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Imunologia)**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020; 78 p.

ARTS, R. J. W. et al. BCG Vaccination Protects against Experimental Viral Infection in Humans through the Induction of Cytokines Associated with Trained Immunity. **Cell Host and Microbe**, v. 23, n. 1, p. 89- 100.e5, 2018.

BECERRA, K. et al. Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: A systematic review. **Lipids in Health and Disease**, v. 18, n. 1, p. 1–18, 2019.

BEKKERING, S. et al. In Vitro experimental model of trained innate immunity in human primary monocytes. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 23, n. 12, p. 926–933, 2016.

BEKKERING, S. et al. Metabolic Induction of Trained Immunity through the Mevalonate Pathway. **Cell**, v. 172, n. 1–2, p. 135- 146.e9, 2018.

BONECCHI, R. et al. Cytokine decoy and scavenger receptors as key regulators of immunity and inflammation. **Cytokine**, v. 87, p. 37–45, 2016.

CHENG, S.-C. et al. mTOR/HIF1 α -mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for

trained immunity. **Science**, v. 345, n. 6204, p. 1–18, 2015.

CIROVIC, B. et al. BCG Vaccination in Humans Elicits Trained Immunity via the Hematopoietic Progenitor Compartment. **Cell Host and Microbe**, v. 28, n. 2, p. 322-334.e5, 2020.

COSTA, E.; PACHECO, C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 34, n. 2, p. 125, 2013.

COTTONE, M. et al. Psoriasis and Inflammatory Bowel Disease. **Digestive Diseases**, p. 1-7, 2019.

COVIÁN, C. et al. BCG-Induced Cross-Protection and Development of Trained Immunity: Implication for Vaccine Design. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. 2806, p. 1–14, 2019.

CURTIS, N. et al. Considering BCG vaccination to reduce the impact of COVID-19. **Elsevier**, v. 395, p. 1-3, 2020.

FEINBERG, A. P. The Key Role of Epigenetics in Human Disease Prevention and Mitigation. **New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 14, p. 1323–1334, 2018.

FREYNE, B. et al. Neonatal BCG Vaccination Influences Cytokine Responses to Toll-like Receptor Ligands and Heterologous Antigens. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 217, n. 11, p. 1798–1808, 2018.

GARBER, C. et al. Astrocytes decrease adult neurogenesis during virus-induced memory dysfunction via interleukin-1. **Nature Immunology**, p. 151–161, 2018.

GOURBAL, B. et al. Innate immune memory: An evolutionary perspective. **Immunological Reviews**, v. 283, n. 1, p. 21–40, 2018.

HEIJDEN, V. DER et al. Epigenetics and Trained Immunity. **Antioxidants and Redox**

Signaling, v. 29, n. 11, p. 1023–1040, 2018.

JANG, D. et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2719, p. 1-16, 2021.

JOHN, S. R. Interleukin-6 Family Cytokines. **Cold Spring Harbor perspectives in Biology**, n. II, p. 1–17, 2018.

KAUFMANN, E. et al. BCG Educates Hematopoietic Stem Cells to Generate Protective Innate Immunity against Tuberculosis. **Cell**, v. 172, n. 1–2, p. 176- 190.e19, 2018.

KEMANETZOGLOU, E.; ANDREADOU, E. CNS Demyelination with TNF- α Blockers. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 17, n. 36, p. 1-15, 2017.

KHAZIM, K. et al. Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease. **Immunological Reviews**, v. 281, n. 1, p. 40–56, 2018.

KLEINNIJENHUIS, J. et al. Bacille Calmette-Guérin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 43, p. 17537–17542, 2012.

KLEINNIJENHUIS, J. et al. Long-lasting effects of bcg vaccination on both heterologous th1/th17 responses and innate trained immunity. **Journal of Innate Immunity**, v. 6, n. 2, p. 152–158, 2013.

KLEINNIJENHUIS, J. et al. BCG-induced trained immunity in NK cells: role for non-specific protection to infection. **Elsevier – Clinical Immunology**. v. 155, n. 2, p. 213–219, 2014.

KOEKEN, V. A. C. M. et al. The effect of BCG vaccination on alveolar macrophages obtained from induced sputum from healthy volunteers. **Cytokine**, v. 133, n. May, p.

155135, 2020.

LIU, Y. et al. BCG-induced trained immunity in macrophage: reprogramming of glucose metabolism: BCG-induced trained immunity by enhanced glycolysis and glutamine-driven tricarboxylic acid cycle in macrophage. **International Reviews of Immunology**, v. 39, n. 3, p. 83–96, 2020.

MANTOVANI, A. et al. IL-1 and related cytokines in innate and adaptive immunity in health and disease. **Europe PMC Funders Author Manuscripts**, v. 50, n. 4, p. 778–795, 2020.

MARQUESI, K. F.; REIGOTA, K. R.; BUENO, A. O. RESPOSTA IMUNE E QUIMIOCINAS: BREVE REVISÃO DA LITERATURA AUTORES. **União das Faculdades dos Grandes Lagos - UNILAGO**, p. 1-8, 2018.

MERINI, L. R. et al. CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS EM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE: UMA REVISÃO DA AÇÃO IMUNOMODULADORA DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS. **Scientia Amazonia**, v. 1, n. 3, p. 27–39, 2012.

MITROULIS, I. et al. Modulation of Myelopoiesis Progenitors Is an Integral Component of Trained Immunity Article Modulation of Myelopoiesis Progenitors Is an Integral Component of Trained Immunity. **Cell Press**, v. 172, p. 147–161, 2018.

MOORLAG, S. J. C. F. M. et al. Non-specific effects of BCG vaccine on viral infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 12, p. 1473–1478, 2019.

MOORLAG, S. J. C. F. M. et al. BCG Vaccination Induces Long-Term Functional Reprogramming of Human Neutrophils. **Cell Reports**, v. 33, n. 7, p. 108387, 2020.

MULDER, W. J. M. et al. Therapeutic targeting of trained immunity Willem. **Nat Rev Drug Discov.**, v. 18, n. 7, p. 553–566, 2020.

NAMAKULA, R. et al. Monocytes from neonates and adults have a similar capacity to

adapt their cytokine production after previous exposure to BCG and β -glucan. **PLoS ONE**, v. 15, n. 2, p. 1–8, 2020.

NEMES, E. et al. Prevention of M. tuberculosis Infection with H4:IC31 Vaccine or BCG Revaccination . **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 2, p. 138–149, 2018.

NETEA, M. G. et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. **Science**, v. 352, p. 1-27, 2016.

NETEA, M. G.; VAN DER MEER, J. Trained Immunity: An Ancient Way of Remembering. **Cell Host and Microbe**, v. 21, n. 3, p. 297–300, 2017.

NETEA, M.; QUINTIN, J.; VAN DER MEER, J. W. M. Trained immunity: A memory for innate host defense. **Cell Host and Microbe**, v. 9, n. 5, p. 355–361, 2011.

NISSEN, T. N. et al. Bacillus Calmette-Guérin vaccination at birth and in vitro cytokine responses to non-specific stimulation. A randomized clinical trial. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 37, n. 1, p. 29–41, 2017.

PRENTICE, S. et al. BCG-induced non-specific effects on heterologous infectious disease in Ugandan neonates: an investigator-blind randomized controlled trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 7, p. 993–1003, 2021.

RADNER, H.; ALETAHA, D. Anti-TNF Therapie in der Rheumatoiden Arthritis – ein Überblick. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 165, n. 1–2, p. 3–9, 2015.

RUSEK, P. et al. Infectious agents as stimuli of trained innate immunity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, 2018.

SISCO, MC. *et al.* Newly sequenced genomes of four bacillus calmette guerin vaccines. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, n. 4, p. 2–5, 2020.

SMALE, S. T.; TARAKHOVSKY, A.; NATOLI, G. Chromatin contributions to the

regulation of innate immunity. **Annual Review of Immunology**, v. 32, p. 489–511, 2014.

SMITH, S. G. et al. Whole Blood Profiling of Bacillus Calmette–Guérin-Induced Trained Innate Immunity in Infants Identifies Epidermal Growth Factor, IL-6, Platelet-Derived Growth Factor-AB/BB, and Natural Killer Cell Activation. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. June, p. 1–11, 2017.

SORENSEN, B. et al. Early BCG-Denmark and Neonatal Mortality among Infants Weighing <2500 g: A Randomized Controlled Trial. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 7, p. 1183–1190, 2017.

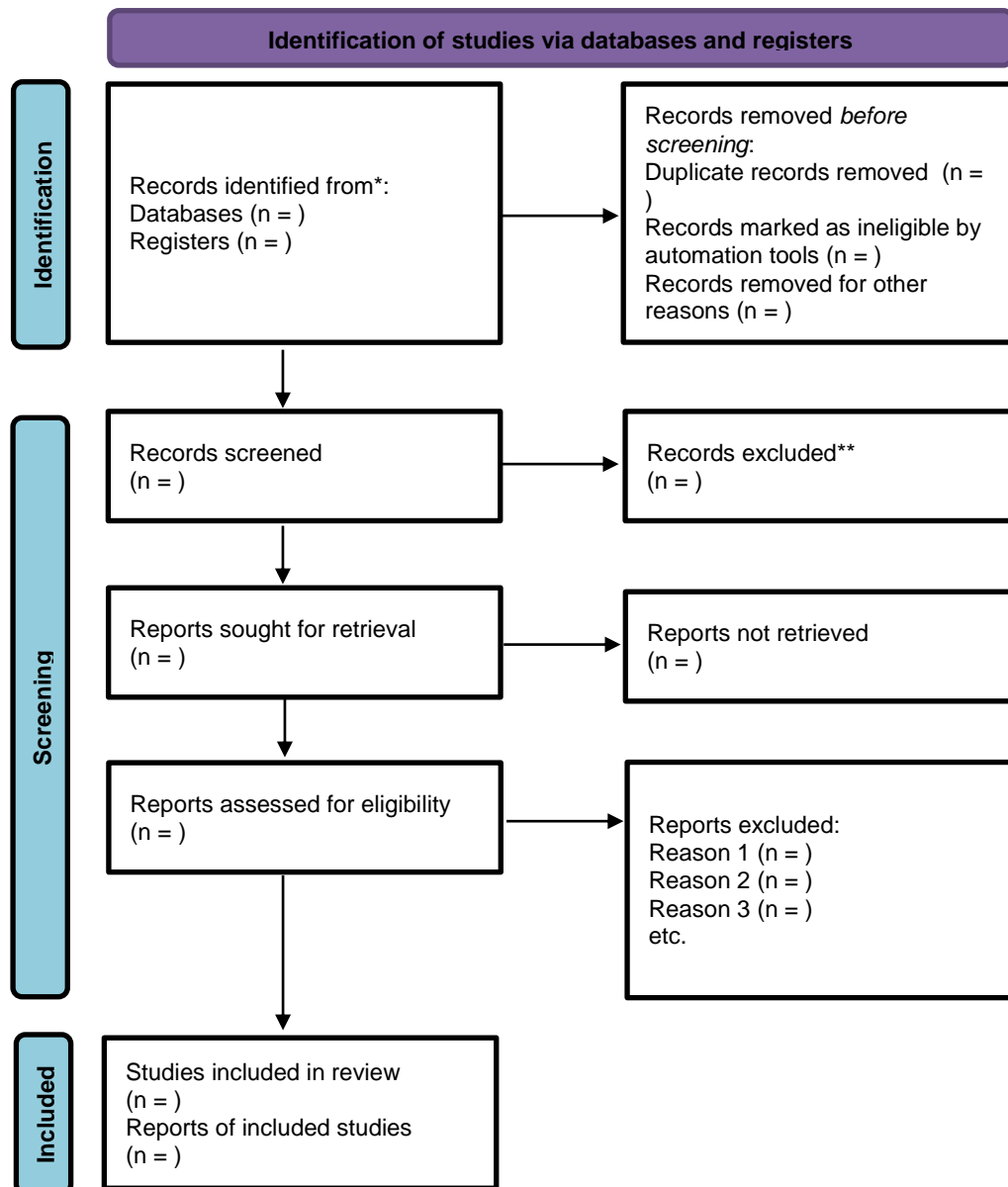
TANAKA, T. et al. A new era for the treatment of inflammatory autoimmune diseases by interleukin-6 blockade strategy. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 1, p. 88–96, 2014.

TISONCIK, J. R. et al. Into the Eye of the Cytokine Storm. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. 16–32, 2012.

VORNHAGEN, A. et al. Cytokine release syndrome. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 6, n. 5, p. 1-14, 2018.

Anexo 1:

Prisma 2020 flow diagram for new systematic reviews which included searches of databases and registers only.



*Consider, if feasible to do so, reporting the number of records identified from each database or register searched (rather than the total number across all databases/registers). **If automation tools were used, indicate how many records were excluded by a human and how many were excluded by automation tools.

From: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>

Anexo 2:

METHODS		
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses. Especifique os critérios de inclusão e exclusão para a revisão e como os estudos foram agrupados para as sínteses.
Information sources - origem	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.

From: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>