

IMUNOLOGIA

IMUNOLOGIA BÁSICA

LINFÓCITOS T E CÉLULAS NATURAL
KILLER



JALEKO

o melhor amigo do estudante de medicina

www.jaleko.com.br

MATURAÇÃO DE LINFÓCITOS T

O processo de maturação dos linfócitos T se inicia conforme as outras linhagens de linfócitos. Há rearranjo sequencial para produção de receptores de célula T (TCR), proliferação celular, seleção induzida por um antígeno apresentado e diferenciação em alguns subtipos efetores.

A sequência de tipos celulares nessa linhagem segue: célula-tronco, célula pró-T, célula pré-T, célula duplo positiva, célula positiva simples (imatura) e célula T madura. Alguns marcadores de superfície são usados para definição do estágio em que a célula se encontra.

Os precursores dos linfócitos T são produzidos na medula óssea e migram para o timo, principal órgão responsável pela maturação destas células, no estágio pró-T. Esses precursores se localizam no exterior da região cortical e são conhecidos como tímócitos. Conforme evoluem, se direcionam para dentro do órgão. É no córtex que os tímócitos vão expressar determinados tipos de TCR que vão diferenciá-los, posteriormente, nos subtipos CD4+ (restritos ao MHC II) ou CD8+ (restritos ao MHC I). Esse movimento das células em direção ao centro do órgão é mediado pelos receptores de quimiocinas CCL25 e CCR9. No timo, esse processo de maturação visa eliminar células autorreativas ou que respondam de forma fraca ao complexo MHC.

Os linfócitos pró-T são os que acabaram de chegar no timo e são conhecidos por serem duplo-negativo, ou seja, não expressam nem CD4 nem CD8. Nesse ponto, as proteínas Rag-1 e Rag-2 são as responsáveis por estimular o rearranjo de genes que vai expressar o TCR. Após alterações produtivas nas cadeias Alfa e Beta do TCR, esta última será expressa na superfície junto com outras proteínas para formar o pré-TCR e passar para o estágio de célula pré-T.

A fase pré-T é marcada pela expressão do pré-TCR e sua função é de manter a sobrevivência das células cuja expressão da cadeia proteica foi adequada. Além disso, inicia-se a recombinação dos locos da cadeia Alfa, que vai conduzir do estágio de duplo negativo para duplo positivo.



As células duplo-positivas expressam os receptores CD4 e CD8 e é nesse estágio que termina o rearranjo e expressão da cadeia Alfa do TCR, sendo expresso então, o receptor TCR AlfaBeta. Junto dele são expressas algumas proteínas, como a CD3. Conforme a maturação, os timócitos se comprometem com alguma linhagem, seja CD4 ou CD8, e então passam a ser chamados de células simples positivo.

PROCESSO DE SELEÇÃO DA MATURAÇÃO DEPENDENTE DE MHC

O funcionamento dos linfócitos T maduros depende da apresentação de antígenos pelo complexo MHC. Dessa forma, no timo, as células duplas positivas passam por dois processos de seleção. Eles envolvem os peptídeos próprios do organismo e os MHC desse mesmo indivíduo.

O processo de **seleção positiva** visa manter as células T que possuem fraco reconhecimento ao MHC próprio e induzir apoptose das células que não reconhecem essa mesma molécula. Dessa forma é garantido que as células que sobrevivem vão responder apenas ao MHC próprio. Dependendo do tipo de complexo que ela responder a linhagem vai se comprometer com CD4, caso reaja ao MHC II, ou CD8 caso reaja ao MHC I.

O processo de **seleção negativa** visa induzir apoptose das células que possuam alta afinidade pelos antígenos próprios apresentados pelo MHC. Dessa forma, as possíveis células T autorreativas são eliminadas e a auto tolerância é assegurada.

ATIVACÃO DOS LINFÓCITOS T

A ativação de linfócitos T ocorre principalmente em órgãos linfoides secundários, onde se encontram com as APC's. Durante essa interação, são produzidas algumas citocinas, como a IL-2, que vão ativar a diferenciação em linhagens efetoras ou de memória. Enquanto as primeiras vão para circulação e tecidos periféricos, as segundas permanecem nos linfonodos aguardando uma segunda exposição antigênica.



Para que as células sejam ativadas de forma correta, alguns sinais são necessários. O *primeiro sinal* é o reconhecimento dos antígenos apresentados pelas APCs no MHC. Além disso, as células que apresentam antígeno expressam coestimuladores essenciais para manter a interação celular, etapa também conhecida como *segundo sinal*.

Dentro do segundo sinal, a principal via conhecida é a dos receptores CD28 e seu coestimulador ligante B7. Essa ligação é importante na interação entre imunidade inata e adaptativa. Quando uma APC é estimulada por um receptor Toll-like, por exemplo, ocorre aumento da expressão desses ligantes B7 e assim, maior estímulo aos linfócitos T. Além disso, as próprias células CD4 ativadas aumentam a expressão de B7 nas APCs numa via dependente de CD40-CD40L. As vias intracelulares dessa ligação acarretam em sobrevivência celular, proliferação celular e diferenciação. Estudos posteriores descobriram que os ligantes B7 servem não só como coestimuladores, mas também coinibidores, participando do processo de retorno à homeostase e diminuição da resposta imune.

RESPOSTAS FUNCIONAIS DOS LINFÓCITOS T

Após ativação das células T, ocorrem alterações na expressão de moléculas de superfície que vão nortear a migração dos linfócitos dos órgãos centrais para os periféricos. Entre elas estão CD69, CD25 e CD40L.

Algumas citocinas tem papel importante na imunidade adaptativa, pois auxiliam o desenvolvimento de células T, ajudam na proliferação e diferenciação celular além de atuarem de forma autócrina e parácrina. A Interleucina 2 (IL-2) merece destaque pelo seu papel na proliferação, **expansão clonal**, sobrevivência e diferenciação das células T. É produzida principalmente pelo linfócito T CD4 e possui ação autócrina. Além de sua ação estimulante para a resposta mediada por células T, ela atua de forma a manter as células T reguladoras ativadas e com isso controlar a magnitude das respostas imunes.

A resposta imune mediada por células T produz células de memória por um mecanismo ainda não bem descrito. Independente disso é sabido que essa linhagem



celular é importante no processo de resposta secundária a antígenos muito presentes no meio ambiente e que necessitam de resposta rápida numa posterior infecção. São células capazes de permanecer quiescentes após erradicação do antígeno, expressam proteínas antiapoptóticas, respondem mais rápido que as células imaturas e, ao contrário das células imaturas, são capazes de migrar para praticamente qualquer tecido. Algumas citocinas envolvidas na proliferação e diferenciação das células de memória são IL-7 e IL-15.

DIFERENCIAÇÃO E FUNÇÕES DAS CÉLULAS T CD4

Além de ativar fagócitos e induzir o processo inflamatório, as células T CD4 auxiliam os linfócitos B na produção de anticorpos. Esses processos fazem parte da imunidade mediada por células, um subtipo da imunidade celular. Isso acontece, pois quem possui a função efetora em destruir os patógenos é o próprio fagócito e não a célula CD4.

Após sua ativação, esse tipo celular sai dos órgãos linfoides secundários e migra para locais periféricos onde haja infecção. No entanto, alguns clones podem se direcionar aos folículos linfóides dos órgãos onde vão auxiliar a resposta de células B contra o antígeno apresentado.

A ativação dos macrófagos pela célula CD4 utiliza principalmente o ligante CD40 e outras citocinas. Essas citocinas produzidas são o marco que diferencia cada subtipo de linfócito CD4 (Th1, Th2 e Th17). Basicamente o subgrupo Th1 produz interferon-gama (IFN-gama), enquanto o Th2 produz IL-4, IL-5 e IL13. Já o Th17 produz IL-17 e IL-22. Durante o processo de ativação, essas células passam por indução, comprometimento com linhagem e amplificação.

SUBGRUPO TH1

É o principal subgrupo atuante na defesa mediada por fagócitos e são ativados pelos microrganismos intracelulares.



Sua diferenciação é mediada por IL-12 e microrganismos de células dendríticas, macrófagos e células NK. Uma vez ativadas, inicia-se a produção de Interferon-Gama que estimula novas proliferações, inibe as linhagens Th2 e Th17 e realiza as funções efetoras de ativação de macrófagos.

Dentre as funções do IFN-gama temos: a ativação clássica de macrófagos para atuação microbicida, indução de mudanças nas classes de Ig produzidas pelas células B facilitando opsonização e fagocitose, mudanças estruturais e expressão de coestimuladores que facilitam a apresentação antigênica pelo MHC. O resultado final é um aumento da ingestão e destruição de microrganismo – potencialização da atividade microbicida

No processo de ativação macrofágica, são produzidas enzimas nos fagolisossomos, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico.

SUBGRUPO TH₂

Essa linhagem tem atuação maior na defesa contra helmintos e eliminação de microrganismos nos tecidos de mucosa.

O desenvolvimento dessa linhagem se inicia com a infecção crônica por helmintos. Estes estimulam os mastócitos a secretar IL-4, principal citocina envolvida na maturação Th2. Nesse processo crônico, não há forte ativação da imunidade inata nem das linhagens Th1 e Th17.

A atuação do subgrupo Th2 envolve ativação de linfócitos B para produção de IgE, ativação de eosinófilos através da IL-5 e ativação alternativa dos macrófagos (M2) nas barreiras mucosas através de IL-4 e IL-13 para reparo tecidual.

SUBGRUPO TH₁₇

É o subgrupo envolvido no recrutamento de leucócitos (principalmente neutrófilos), indução da inflamação e conseqüentemente destruição de bactérias extracelulares e fungos.



A diferenciação nessa linhagem envolve as citocinas IL-1, IL-6 e IL-23 produzidas pelas células dendríticas.

As suas funções são estimuladas e mediadas pela IL-17, produzida por esta célula. Essa citocina é um importante elo entre a imunidade adaptativa e a resposta inflamatória aguda. Além disso, a IL-22 e IL-21 também são produzidas por este perfil.

DIFERENCIAÇÃO E FUNÇÕES DAS CÉLULAS T CD8

Alguns patógenos virais desenvolveram capacidades de burlar sua destruição citoplasmática e sérica do corpo humano. Sendo assim, a única forma de destruir esse tipo de invasor é destruindo a célula em que ele está alojado. É nesse momento que entra em atuação os linfócitos T CD8.

A ativação dessa linhagem celular acontece em órgãos linfoides periféricos após apresentação de antígenos pelas células dendríticas. No processo de diferenciação, ocorre produção de lisossomos contendo enzimas cuja função é destruir outras células, seja ela infectada, neoplásica ou derivada de um enxerto.

Os antígenos que ativam essa linhagem utilizam a via de apresentação do MHC classe I (antígenos citoplasmáticos) É importante lembrar que também há o processo de apresentação cruzada de antígenos citosólicos pelas células dendríticas. As APCs mais eficientes no processo de apresentação cruzada são as células dendríticas de tecidos linfoides que expressam CD8.

Em alguns casos existe a necessidade de atuação da célula T CD4, principalmente nos casos de infecções virais latentes, transplantes de órgãos e tumores. Estas são situações onde há fraca indução de resposta inata.

As citocinas envolvidas na ativação e diferenciação em células efetoras e de memória são, principalmente, IL-2, IL-12, IFN tipo 1, IL-15 e IL-21.

Na resposta de células T existe um fenômeno conhecido por exaustão. Nele, as células T vão gradualmente perdendo sua atuação, diminuindo a produção de citocinas e aumentando a expressão de receptores inibitórios.



A atuação dos linfócitos T CD8 acontece de forma direta ou pela secreção de IFN-Gama, que ativa macrófagos na forma clássica, ajudando na defesa. No caso da atuação direta, o reconhecimento acontece por MHC I junto com o antígeno que desencadeou a proliferação daquela linhagem e a proteína CD8. A ativação resulta na liberação dos grânulos de lise celular (granzimas e perforinas) e destruição da célula-alvo sem que haja dano ao linfócito citotóxico (conhecido como “tiro letal”).

CÉLULAS NATURAL KILLER (NK)

Existe um grupo de células da linhagem linfoide que atua na imunidade inata sem a necessidade de expansão clonal ou diferenciação pós-exposição antigênica. São conhecidas como células linfoides inatas e são subdivididas em 3 subgrupos (ILC1, ILC2, ILC3) de acordo com as moléculas de superfície celular e funções protetoras.

O subgrupo ILC1 é o mais bem descrito e alojam as células Natural Killer (NK). Seu nome deriva da sua função básica de destruir células infectadas com vírus e bactérias. São abundantes no sangue e no baço e podem ser identificadas pelos receptores CD56 e CD16.

Seu mecanismo destruidor é bem similar ao mecanismo dos linfócitos T CD8, utilizando grânulos contendo perforinas e granzimas. Essas moléculas induzem apoptose da célula infectada e posterior destruição do reservatório viral intracelular. Inicialmente seu processo de ativação ocorre por estímulo de IL-12 e IL-15. No curso da infecção, o processo também passa a ser mediado por uma diminuição quantitativa da expressão de MHC classe I das células infectadas bem como das células tumorais.

Outra função importante é a produção de IFN-Gama, capaz de ativar macrófagos e manter as células fagocitadas enquanto as células T citotóxicas estão amadurecendo.

A célula NK possui um conjunto de receptores ativadores e inibitórios. Dessa forma, a ativação única do receptor ativador (receptor KIRK, CD16) promove destruição celular enquanto a ativação simultânea dos receptores ou somente do receptor inibitório (KIR) não estimula nenhum processo citotóxico. Enquanto os receptores



ativadores reconhecem ligantes nas células-alvo, os receptores inibitórios reconhecem as moléculas de MHC classe I. Dessa forma, uma célula infectada produz menos receptor MHC classe I e conseqüentemente não se liga ao receptor que inibe a célula NK. Assim, o receptor ativador permanece acoplado e sem um contrabalanceamento inibitório, o que gera destruição celular.

