

Imunidade celular, linfócitos T e seus marcadores, receptor da célula T e mecanismos efetores da resposta celular

Os linfócitos T têm papel fundamental na orquestração da resposta imune adaptativa. Estas células podem ser divididas em distintas subpopulações dependendo da sua função e de marcadores específicos expressos na superfície celular, identificados como CD, do inglês, "cluster of differentiation". Assim, todas as células T expressam na sua membrana o receptor de antígeno (TCR, do inglês T cell receptor), um complexo de polipeptídeos que incluem a molécula CD3 e a maioria pode ser distinguido pela expressão da molécula CD4, característica dos linfócitos T auxiliares (Th, T helper), produtores de citocinas, e a molécula CD8, característica dos linfócitos T citotóxicos (Tc). Outras subpopulações linfocitárias são distinguidas pelo padrão de produção de citocinas. Linfócitos T do tipo Th1 produzem predominantemente citocinas inflamatórias (IFN- γ e IL-2) e ativam outros linfócitos T e macrófagos. Por outro lado, linfócitos do tipo Th2 produzem citocinas antiinflamatórias (IL-4, IL-5 e IL-10) e ativam linfócitos B, levando ao aumento da produção de anticorpos. Outra subpopulação de linfócitos T importante é a de células reguladoras (Treg) que tem capacidade de suprimir a resposta imune humoral e celular. A definição de marcadores de superfície que caracterizem as células Treg ainda é controversa na literatura, no entanto, em humanos, estas células são freqüentemente identificadas como CD4+CD25+FoxP3+. A molécula CD25 (cadeia alfa do receptor de IL-2) é considerada como um dos principais marcadores de células Treg e FoxP3 é um fator de transcrição nuclear também associado ao fenótipo de células Treg. Este fator de transcrição se liga à região promotora do gene de IL-2, reprimindo este gene e, conseqüentemente, diminuindo a produção de IL-2 pelas células T CD4+.

Ainda é possível distinguir pelo menos duas subpopulações de linfócitos T de memória. Esta definição é baseada na expressão de moléculas de adesão e quimiocinas envolvidas no recrutamento celular para os linfonodos. Assim, estas populações podem ser distinguidas em linfócitos T de memória central (Tcm) que expressam a molécula de adesão L-selectinas (CD62L)

Kellen Cristhina

*Mestrado e doutorado em Imunologia pelo ICB da USP.
Pós-doutorado em Imunologia, Departamento de Clínica Médica, Alergia e Imunopatologia da FMUSP.*

e a quimiocina CCR7 (CD62L^{hi} CCR7⁺) e linfócitos T de memória efetora, que tem baixa expressão ou não expressam estas moléculas (CD62L^{lo}CCR7⁻). Ambas as populações não expressam a molécula CD45RA, marcador presente somente em células T ativadas.

A especificidade fina do reconhecimento antigênico desencadeado pela célula T é determinada pelo TCR. Este receptor é um heterodímero formado por duas cadeias polipeptídicas glicosiladas, designadas α e β , que estão ligadas covalentemente entre si por pontes de dissulfeto. Existe ainda um outro tipo de TCR, menos comum, encontrado num pequeno subgrupo de linfócitos T, composto pelas cadeias γ e δ . Os genes que codificam as cadeias α e β do TCR consistem de uma região variável (V), elementos de junção (J) e de uma região constante (C), sendo que o *locus* da cadeia β também contém segmentos gênicos de diversidade (D). Durante a ontogenia das células T no timo ocorrem inúmeras recombinações ao acaso por rearranjo somático dos genes V, D e J. Estes eventos são conduzidos pelas recombinases RAG1/RAG2, que reconhecem sinais de recombinação no DNA genômico e catalisam a junção dos segmentos VJ e VDJ. O rearranjo destes segmentos gera um tipo de TCR único para a célula em questão e sua progenia confere aos linfócitos T uma grande diversidade de repertório para o reconhecimento antigênico. Esta diversidade de receptores para o reconhecimento antigênico pode ser gerada por vários mecanismos tais como: 1) o grande número de segmentos gênicos na linhagem germinativa que codificam os domínios V e J da cadeia alfa e V, D e J da cadeia beta; 2) a junção destes segmentos gênicos durante o desenvolvimento da célula T; 3) a adição de nucleotídeos (N), não codificados na linhagem germinativa, na região de junção durante o

desenvolvimento da célula T; 4) a associação combinatoria que ocorre entre as cadeias alfa e beta que irão formar o TCR; e 5) a presença de polimorfismo nos segmentos gênicos da linhagem germinativa que codificam o domínio variável do TCR. Quando ocorre a recombinação dos segmentos VDJ, ou seja, um rearranjo produtivo, há a expressão de uma cadeia beta na superfície da célula. Isto resulta em sinais de regulação negativos para o interior da célula que previnem outros rearranjos VDJ, por um mecanismo chamado de exclusão alélica, o qual garante que um clone de linfócitos T expresse uma única cadeia beta na superfície celular. Acredita-se que a exclusão alélica ocorra devido a mudanças na acessibilidade dos segmentos gênicos VB. No rearranjo da cadeia alfa não há a participação de mecanismos de exclusão alélica, ou seja, pode haver a expressão de mais de uma cadeia alfa na superfície celular, devido, provavelmente, ao grande número de segmentos gênicos VA e JA e também devido à ausência de segmentos de diversidade (D). Nas regiões variáveis do TCR existem domínios hipervariáveis que são denominados CDR (do inglês – “Complementarity-Determining Regions”). Estas regiões formam os pontos de contato para a ligação com os peptídeos antigênicos e as moléculas do MHC. Tanto a cadeia alfa como a beta do TCR apresentam três regiões hipervariáveis: CDR1, CDR2 e CDR3. As regiões CDR1 e 2 fazem o contato com a molécula do MHC, enquanto que a região CDR3, que apresenta maior grau de diversidade, interage com os peptídeos antigênicos reconhecidos pela célula T. A região do CDR3 é criada pela junção dos segmentos V, D e J. Modificações nesta região afetam o reconhecimento do complexo peptídeo antigênico / molécula HLA. Existe ainda a região CDR4, que está envolvida na ligação a superantígenos, através da cadeia beta do TCR.

Após o reconhecimento antigênico, inicia-se o processo de ativação da célula T. Uma vez que a interação entre o TCR e o peptídeo antigênico / molécula MHC é de baixa afinidade, é necessária a participação de coreceptores e moléculas acessórias para que ocorra completa ativação celular. Inicialmente, ocorre à ligação dos coreceptores CD4 ou CD8, que desencadeiam a cascata de sinalização intracelular com fosforilação e “desfosforilação” de diversas proteínas. Esta etapa é considerada o primeiro sinal de ativação. O segundo sinal é comumente induzido pela interação de moléculas coestimulatórias da família B7 expressas nas células apresentadoras de antígeno (APC, do inglês “antigen presenting T cells”) com a molécula CD28 expressa no linfócito T e a interação da molécula B7 com CTLA4 inibe esta ativação. Durante o processo de ativação e sinalização da célula T, também ocorre intensa reorganiza-

ção do citoesqueleto. Este processo inclui adesão mediada por integrinas, formação da sinapse imunológica, polarização celular e seqüestro e sinalização de receptores. A célula T também pode ser ativada por superantígenos, que não são processados pela APC, uma vez que interagem diretamente com uma região invariável da molécula do MHC de classe II, fora da fenda de ligação de peptídeos tradicionais.

As células T, após ativação, tornam-se células efectoras e desencadeiam sua função final na resposta imune celular. Os linfócitos Th, CD4+, quando reconhecem determinados tipos de antígenos, tornam-se ativados, proliferam e secretam diversas citocinas que induzem uma reação inflamatória local, chamada de reação de hipersensibilidade tardia (DTH, do inglês “Delayed-Type Hypersensitivity”) ou do tipo IV. Esta reação inflamatória é caracterizada pelo intenso influxo de células não específicas, principalmente macrófagos que se tornam ativados, liberando enzimas líticas que participam do dano tecidual local. Linfócitos Tc, geralmente CD8+, têm capacidade de lisar células infectadas por vírus, células tumorais e também atuam no processo de rejeição a enxertos alogênicos. As células Tc reconhecem antígenos apresentados via moléculas MHC de classe I expressos nas células-alvo. Após esta conjugação com a célula-alvo, a célula Tc libera diversos grânulos citotóxicos (granzimas e perforinas) que perfuram a membrana celular e fragmentam o DNA, iniciando um processo de apoptose. Outra via importante de citotoxicidade é desencadeada pela interação da molécula Fas expressa nas células alvo e seu ligante FasL expresso nas células Tc. Esta interação também resulta em apoptose, com ativação de inúmeras proteínas da família das caspases. Após o reconhecimento antigênico e ativação celular, parte dos linfócitos T se diferenciam em células de memória. Estas células têm vida longa e respondem mais rapidamente ao estímulo antigênico. Como mencionado anteriormente, as células de memória têm sido subdivididas em memória central (TCM) e memória efetora (TEM) com base na expressão do CD45RA e das moléculas CCR7 e CD62L, necessárias para a entrada das células T nos linfonodos, e pela sua capacidade de produzir citocinas e proliferar. Assim, células T de memória central têm alta capacidade proliferativa e produzem principalmente IL-2, enquanto células T de memória efetora apresentam capacidade proliferativa reduzida e produzem principalmente IFN- γ .

Na tentativa de buscar novas terapias para doenças de origem auto-imune, alguns grupos têm tentado identificar e isolar populações de linfócitos T antígeno específicas envolvidas nas lesões auto-ímunes ou, ainda, populações com potencial regulador (CD4+CD25+) para

utilização como fonte de terapia. Ensaios clínicos para tratamento de pacientes com esclerose múltipla e artrite reumatóide têm apresentado resultados clínicos promissores. Este tipo de terapia é chamada de vacinação T e no tratamento de pacientes com esclerose múltipla foi realizada com a utilização de linfócitos T CD4+ autólogos, irradiados e estimulados com proteína básica de mielina. Já para o tratamento de pacientes com artrite reumatóide as células utilizadas foram linfócitos T isolados do líquido sinovial e expandidos *in vitro* na presença de mononucleares autólogos irradiados e IL-2. O mecanismo de ação sugerido para este tipo de vacinação seria a indução de uma resposta imune reguladora, com a expansão de linfócitos T CD4+CD25+FoxP3+ e T CD8+ específicos contra a população utilizada na terapia.

LITERATURA RECOMENDADA

1. Huppa JB, Davis MM. T-cell-antigen recognition and the immunological synapse. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3(12):973-83.
2. Lefrancois L. Development, trafficking, and function of memory T-cell subsets. *Immunol Rev.* 2006; 211:93-103.
3. Billadeau DD, Nolz JC, Gomez TS. Regulation of T-cell activation by the cytoskeleton. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(2):131-43.
4. Nikolich-Zugich J, Slifka MK, Messaoudi I. The many important facets of T-cell repertoire diversity. *Nat Rev Immunol.* 2004; 4(2):123-32.
5. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004; 22:745-63.
6. Hong J, Zang YC, Nie H, Zhang JZ. CD4+ regulatory T cell responses induced by T cell vaccination in patients with multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(13):5024-9.
7. Chen G, Li N, Zang YC, Zhang D, He D, Feng G, Ni L, Xu R, Wang L, Shen B, Zhang JZ. Vaccination with selected synovial T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007; 56(2):453-463.
8. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA. *Kuby Immunology.* W.H. Freeman and Company, New York, USA, 2000. 4 ed. 670p.