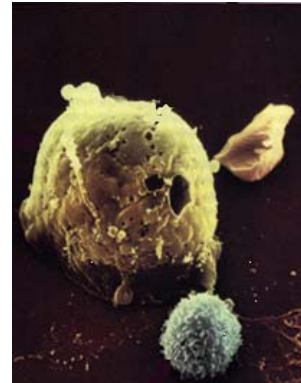
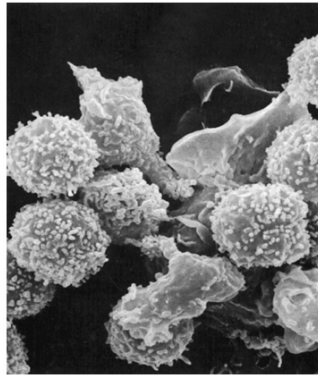




**Departamento de Biologia
Imunologia**

A Diversidade de Linfócitos T e a sua Importância na Resposta Imunitária Celular Específica



Elaborado por:

Ana Martinho n.º 16405

Patrícia Barros n.º 16143

Pedro Barros n.º 16392

Évora, Junho de 2004.

Índice

Introdução	1
O Sistema Imunitário	2
Tecidos e Órgãos Linfóides	3
- Órgãos Linfóides Primários	
- Órgãos Linfóides Secundários	
Células do Sistema Imunitário: Os Linfócitos T	8
Receptores de Antígenos dos Linfócitos T – TCR	13
Complexo Principal de Histocompatibilidade – MHC	14
Resposta Imunitária Celular Específica	16
Mecanismos de Desenvolvimento e de Morte Celular dos LT_c	18
A Origem da Diversidade	20
A Regulação da Resposta Imunitária	24
Resposta Imunitária Mediada por Células em:	27
- Transplantes	
- Ataque a Vírus	
- Ataque a Fungos e Bactérias	
Resumo do Artigo de Revisão	29
Considerações Finais	32
Referências	34

Introdução

A presente monografia resulta de um artigo de revisão (*“The many important facets of T-cell repertoire diversity”*- Janko Nikolich-Žugich, Mark K. Slifka e Ilhem Messaoudi), em que são abordados os aspectos mais relevantes da diversidade do repertório dos linfócitos T.

Para além de um breve resumo de todos os assuntos referidos ao longo do artigo, nesta monografia referem-se ainda, brevemente, os aspectos que caracterizam cada uma das estruturas e dos processos referidos, no já citado artigo. Tal, mostra-se de bastante interesse na medida em que, uma melhor compreensão dos mecanismos que contribuem para a elevada diversidade do repertório dos linfócitos T isoladamente, possibilita uma melhor compreensão desses mecanismos, no contexto do artigo.

O Sistema Imunitário

O nosso organismo possui mecanismos de defesa que podem ser diferenciados quanto à sua especificidade, ou seja, existem os específicos contra o antígeno (“o corpo estranho”) e os inespecíficos que protegem o organismo de qualquer material ou microorganismo estranho, sem que este seja específico (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

O organismo possui barreiras naturais que são obviamente inespecíficas, como a pele (queratina, lípidos e ácidos gordos), a saliva e o muco presente nas mucosas e no tracto respiratório, entre outras (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

Para além das barreiras naturais, existem respostas imunitárias inespecíficas e específicas para combater invasores que penetrem as barreiras naturais e infectem o organismo (Abbas & Lichtman, 2003). As respostas imunitárias inespecíficas são aquelas em que não há um combate contra um epítipo, mas sim contra um antígeno que se encontra no local, não sendo ele específico, mas qualquer substância estranha que esteja em contacto com ele (como uma célula envolvida por uma imunoglobulina ou célula tumoral). Neste tipo de resposta estão presentes certos tipos de células como, macrófagos (fig. 1), neutrófilos, eosinófilos, células NK e o complemento (Goldsby *et al.*, 2003, ³ e ⁴).



Figura 1: Fotografia ao microscópio electrónico de um macrófago em actividade.

Pelo contrário, as respostas imunitárias específicas são aquelas que envolvem a acção de epítipos específicos, formando populações monoclonais específicas para atacar o antígeno em questão. Neste tipo de respostas estão envolvidos os linfócitos B e/ou T que, para além da elevada eficiência no combate aos microorganismos invasores

são, também, os responsáveis pela “limpeza” do organismo, ou seja, a retirada de células mortas, a renovação de determinadas estruturas, a rejeição de enxertos e a memória imunológica (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

Diversos locais no organismo apresentam tecidos linfóides. O tecido linfóide pode estar acumulado formando os nódulos linfáticos, que se interpõem entre os vasos linfáticos do organismo, ou fazer parte do parênquima de órgãos como o baço, o timo ou as amígdalas, sendo estas últimas formadas puramente por tecido linfóide. Alguns órgãos, como os pulmões, o fígado, o cérebro e a pele, não possuem tecido linfóide, mas têm uma grande população de macrófagos preparados para actuar e fazer a “limpeza” do local (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

As células do sistema imunitário são altamente organizadas, e, cada tipo de célula age de acordo com a sua função. Deste modo, algumas estão responsáveis por receber ou enviar mensagens de ataque ou de supressão, outras apresentam o “inimigo” às células do sistema imunitário, outras apenas atacam com o intuito de matar e, outras produzem substâncias que neutralizam esses “inimigos” ou neutralizam substâncias libertadas por esses organismos (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

Tecidos e Órgãos Linfóides

No corpo humano existem diversos locais onde há produção de células linfóides maduras que vão agir no combate a agentes agressivos externos (Roitt *et al.*, 2001 e ³).

Alguns órgãos linfóides encontram-se interpostos entre vasos sanguíneos e vão originar glóbulos brancos na corrente sanguínea. Outros estão entre vasos linfáticos, e vão “filtrar” a linfa e combater antigénios que chegam até eles por essa via. Outros, ainda, podem ser encontrados fazendo parte da parede de outros órgãos, ou espalhados pela sua mucosa (Roitt *et al.*, 2001).

Os tecidos linfóides são classificados em primários e secundários. Os primários representam o local onde ocorre a formação e a maturação dos linfócitos. O timo e a medula óssea são tecidos primários, pois é o local onde amadurecem os linfócitos T e B (hematopoiese), respectivamente. Os tecidos primários não formam células activas na resposta imunitária, mas sim, apenas células até ao estágio de pró-linfócitos (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

Os tecidos linfóides secundários são os que, efectivamente, participam na resposta imunitária, quer humoral (mediada por células B), quer celular (mediada por células T). As células presentes nesses tecidos secundários tiveram origem nos tecidos primários, que migraram pela circulação e atingiram o tecido. Neles estão presentes os nódulos linfáticos difusos, ou encapsulados como os nódulos linfáticos, as placas de Peyer, o baço e a medula óssea. Por conseguinte, salienta-se a medula óssea que, funciona simultaneamente como órgão primário e secundário (Goldsby *et al.*, 2003, ³ e ⁴).

O sistema linfático é constituído por capilares linfáticos, vasos linfáticos, folículos linfóides e nódulos linfáticos, denominando-se o líquido que circula através dele por linfa, que se encontra espalhado por todo o corpo (fig. 2) (Roitt *et al.*, 2001).

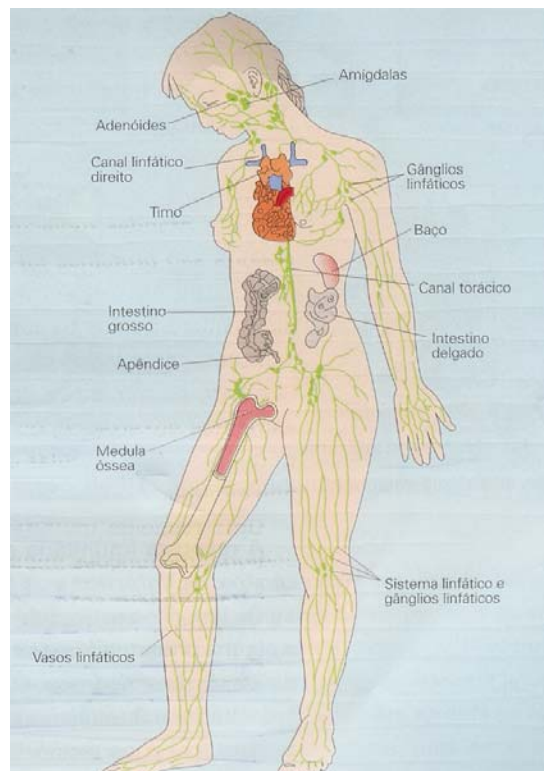


Figura 2: Representação esquemática dos órgãos que constituem o sistema imunitário.

Este sistema desempenha um importante papel na defesa imunitária, pois serve de meio de transporte para antígenos e linfócitos. Os antígenos estranhos que estão nos

tecidos, ao serem captados pelos capilares linfáticos, são levados para tecidos linfóides organizados: os folículos linfóides ou os nódulos linfáticos (Roitt *et al.*, 2001).

Órgãos Linfóides Primários

- O Timo

O timo é um órgão linfático que se localiza no tórax, anterior ao coração, e está dividido em dois lobos, o esquerdo e o direito, sendo estes, subdivididos em vários lóbulos, cada um dos quais com uma zona medular e uma zona cortical (fig. 3). É nesta última que se encontram os linfócitos em maturação, que se desenvolvem em pró-*linfócitos T*, a partir da chegada a este órgão das células fonte que migraram do fígado e do baço do embrião. Quando os linfócitos atingem a fase de pró-*linfócitos* ou *linfócitos* maduros não activos, atingem a zona medular onde penetram nas vénulas, dirigindo-se para as veias ou vasos eferentes linfáticos, saindo do órgão em direcção aos tecidos linfóides secundários (⁶).

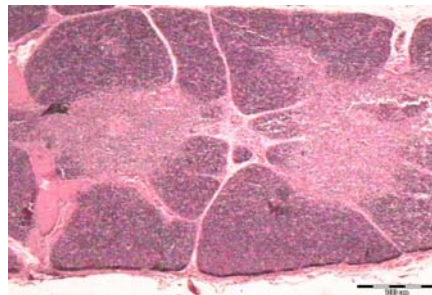


Figura 3: Fotografia de um corte transversal do timo ao microscópio óptico composto.

A função do timo é promover a maturação dos *linfócitos T*, que vieram da medula óssea, até ao estágio de pró-*linfócitos*, que vão depois para os outros tecidos linfóides, onde se tornam activos. Porém, o timo também dá origem a *linfócitos T* maduros que vão fazer o reconhecimento e identificação do que é material estranho ou próprio do organismo. Outra função importante do timo é a produção de factores de desenvolvimento e a proliferação de *linfócitos T*, que vão agir no próprio timo ou nos tecidos secundários, nos quais estimulam a maturação completa dos *linfócitos* (⁶).

- A Medula Óssea

Como já foi referido a medula óssea pode considerar-se simultaneamente um órgão linfóide primário e secundário. É constituída por células reticulares, associadas a fibras reticulares e, no seu centro, uma enorme quantidade de capilares sanguíneos com grandes poros que permitem a saída de células maduras (fig. 4). Tem uma função sustentadora e é indispensável ao desenvolvimento das células que participam da hematopoiese (6).

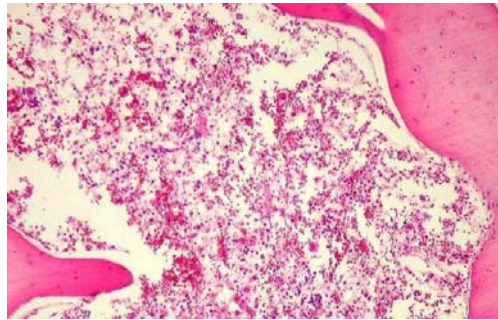


Figura 4: Fotografia de um corte transversal da medula óssea ao microscópio óptico composto.

A libertação das células para o sangue é feita por estímulos (factores estimulatórios de libertação), sendo o componente C3b do complemento, glicocorticóides, androgénios e algumas toxinas bacterianas os factores mais relevantes.

Como órgão linfóide primário, a medula, é capaz de formar pró-linfócitos que provêm das células totipotentes, que não são capazes de realizar uma resposta imunitária, dirigindo-se aos órgãos secundários para se desenvolver. A célula multipotente mielóide e os linfoblastos T dirigem-se ao timo para formar linfócitos T (6).

Órgãos Linfóides Secundários

- Os Nódulos Linfáticos

Os nódulos linfáticos são órgãos pequenos em forma de feijão que aparecem no meio do trajecto de vasos linfáticos, encontrando-se, normalmente, agrupados na superfície e na profundidade nas partes proximais dos membros, como as axilas, entre

outras. Têm a função de “filtrar” a linfa que chega até eles e remover bactérias, vírus e restos celulares, entre outros (6).

O sistema linfático consiste num conjunto de vasos que possuem válvulas e distribuem-se por todo o corpo, com excepção de alguns órgãos como o cérebro.

Na zona paracortical (zona entre o córtex e a medula) encontram-se os linfócitos T, que resultam da maturação dos pró-lymfócitos, e estão já aptos a desencadear uma resposta imunitária. Também na zona medular deste órgão encontram-se linfócitos T maduros, que estão já prontos para sair do nódulo linfático e se dirigirem ao local de acção. As células maduras saem pelas veias e vasos linfáticos eferentes e atingem a circulação sanguínea e linfática (6).

Abaixo da cápsula de tecido conjuntivo que cobre os nódulos linfáticos, existe um espaço que se designa por seio subcapsular, onde circula a linfa, sendo esse o primeiro local de contacto do nódulo linfático com a linfa. Neste, existem células apresentadoras de antígenos, as chamadas células dendríticas, que fagocitam os antígenos que chegam pela linfa e vão apresentar os seus epitopos aos linfócitos B ou T maduros que se encontram no parênquima do órgão, desenvolvendo-se uma resposta imunitária. Nesta fase, os linfócitos activados proliferam e atacam os antígenos que atingem o órgão. Os linfócitos também saem do órgão para a linfa e vão para a circulação sanguínea a fim de se dirigirem ao local de acção (Purves, *et al.*, 1998 e 6).

- O Baço

O baço é um órgão maciço avermelhado, de consistência gelatinosa, situado no quadrante superior esquerdo do abdómen (fig. 5). É o maior órgão linfático secundário do organismo e tem como função imunológica a libertação de linfócitos B, T, plasmócitos e outras células linfóides maduras, capazes de realizar uma resposta imunitária, para o sangue e não para a linfa (6).

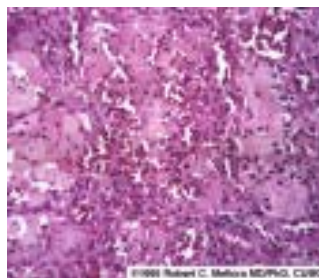


Figura 5: Fotografia de um corte transversal do baço, observada ao microscópio óptico.

Tem a capacidade de filtrar e reter antígenos que estejam na circulação sanguínea, permitindo, deste modo, responder a infecções sistêmicas (6).

- Os Gânglios Linfáticos

Os gânglios linfáticos são estruturas capsulares bastante organizadas, que se encontram mais concentradas na cabeça, no pescoço, nas axilas, no peito, no abdômen e nas virilhas e contêm os folículos linfóides. São especializados em reter antígenos de tecidos locais e, por este motivo, podem encontrar-se neles, células B, células T_h, macrófagos, plasmócitos e células dendríticas foliculares e interdigitantes (Roitt *et al.*, 2001, Goldsby *et al.*, 2003 e 4).

- Os Folículos Linfóides

Os folículos linfóides são constituídos por agregações de células rodeadas por uma rede de capilares linfáticos, possuindo, entre outras, células dendríticas foliculares, linfócitos T_h, linfócitos B e macrófagos (Roitt *et al.*, 2001, Goldsby *et al.*, 2003 e 4).

Células do Sistema Imunitário: Os Linfócitos T

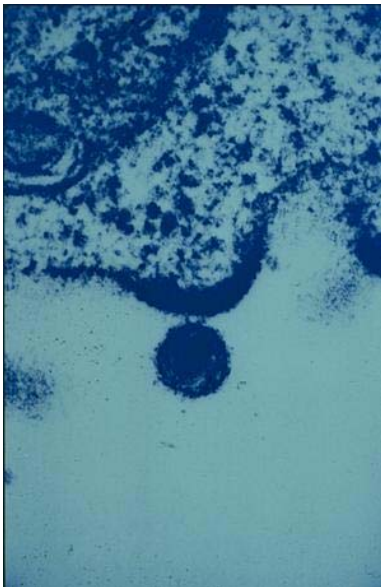
As células do sistema imunitário designam-se por leucócitos, designação essa que deriva do latim *Leukos* que significa branco (4).

Cada indivíduo adulto possui, em média, no seu sangue entre 5000 a 10000 leucócitos por milímetro, sendo que, ao nascimento, este valor ronda os 20000 leucócitos/mm² de sangue, decrescendo até aos doze anos de idade, em que atinge os valores de adulto. Este decréscimo verifica-se porque as barreiras naturais do organismo ainda não se encontram completamente desenvolvidas, aquando do nascimento, havendo uma maior possibilidade de contracção de infecções de diversas naturezas (4).

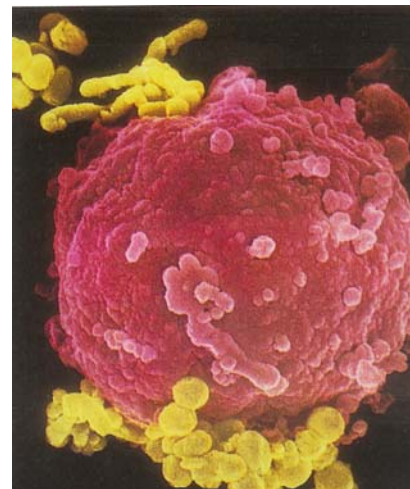
Diversas células têm um papel preponderante nas respostas do sistema imunitário, entre elas os linfócitos, que constituem cerca de 20-30% dos leucócitos, variando bastante consoante o estado de saúde do indivíduo. Por exemplo, se o

indivíduo está stressado ou deprimido esta percentagem é bastante inferior e, pelo contrário, se o indivíduo sofrer de uma infecção viral, ou de uma rejeição de transplante, esta mesma percentagem aumenta significativamente (4).

Os linfócitos são agranulócitos (não apresentam grânulos no seu citoplasma) que são identificáveis pela microscopia óptica pela sua imensa massa nuclear esférica e maciça, que ocupa quase todo o seu citoplasma. Tratam-se de células indiferenciadas entre si através deste tipo de microscopia, sendo, contudo, possível diferenciarem-se vários tipos de linfócitos por técnicas imunocitoquímicas de detecção de receptores específicos membranares. Os linfócitos T (figs. 6 a) e 7) possuem um receptor, designado por TCR, que é específico e que, funcionalmente, serve para reconhecer o antígeno que lhe é apresentado a activar o linfócito. Os linfócitos B (figs. 6 b) e 7) possuem receptores diversos, sendo a IgM monomérica o principal, também ela, identificável por imunohistoquímica (Goldsby *et al.*, 2003 e 4).



a)



b)

Figura 6: a) Fotografia de um linfócito T ao microscópio electrónico.

b) Fotografia de um linfócito B ao microscópio electrónico.

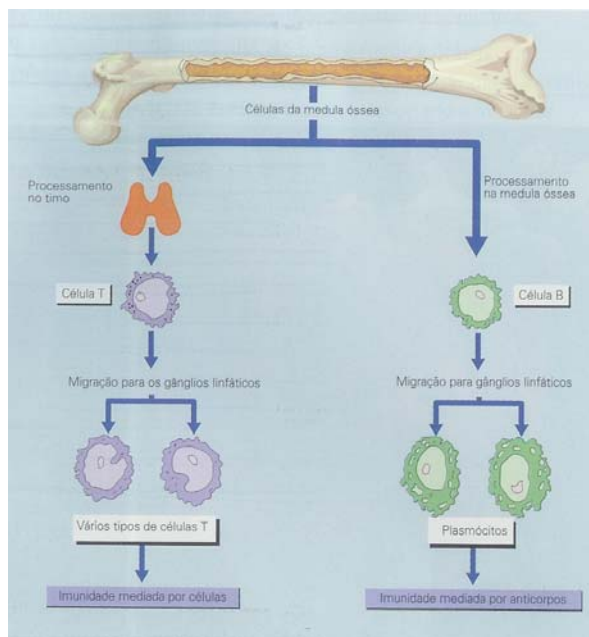


Figura 7: Esquema representativo da origem e função dos linfócitos B e T.

Os linfócitos têm diversas funções no organismo, todas elas de extrema importância para o sistema imunitário (Roitt *et al.*, 2001). Dividem-se em linfócitos T (fig. 8), linfócitos B e linfócitos NK, sendo o linfócito T responsável, principalmente, pelo auxílio ao sistema imunitário e resposta imunitária celular, o linfócito B responsável pela resposta imunitária humoral e os linfócitos NK pela resposta imunitária inespecífica. Os linfócitos T e os linfócitos B produzem respostas imunitárias específicas, pois ambos são estimulados a partir de epítopos de antígeno específico. Neste caso, formam populações monoclonais específicas para atacar o antígeno em questão (Goldsby *et al.*, 2003 e ⁴).

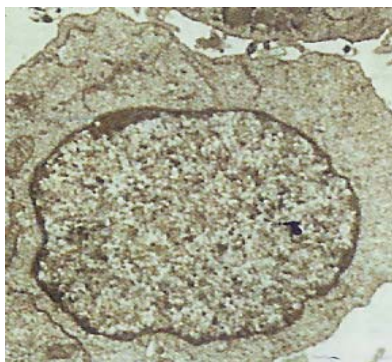


Figura 8: Fotografia de um linfócito T ao microscópio eletrônico (5000x).

A designação de linfócito T deriva do facto destas células serem “dependentes” do timo para o seu desenvolvimento, uma vez que, é nele que se desenvolvem e atingem a maturação. Morfologicamente, quando os linfócitos se encontram em repouso, observam-se dois tipos de linfócitos: linfócitos agranulares e granulares grandes (LGG). Os linfócitos agranulares possuem um núcleo bastante maior que o citoplasma e o tamanho da célula é menor. Apresentam lisossomas primários e pequenos aglomerados de lípidos no seu citoplasma, que conjuntamente vão formar o corpúsculo de Gall. Este tipo de linfócito representa a maioria dos linfócitos T (auxiliares, citotóxicos e supressores). Por sua vez, os linfócitos granulares grandes não apresentam o referido corpúsculo de Gall devido ao facto dos seus lisossomas se encontrarem dispersos no citoplasma. Este tipo de linfócito representa os linfócitos NK, cerca de 10% dos linfócitos T auxiliares (*helpers*) e cerca 35% dos linfócitos T citotóxicas (Roitt *et al.*, 2001, ² e ⁴).

Funcionalmente, os linfócitos T dividem-se em linfócitos T auxiliares ou *helpers* (LT_h), linfócitos T citotóxicos (LT_c) e linfócitos T supressores (LT_s) (fig. 9). Cada um deles possui receptores característicos, também eles, identificáveis por técnicas imunológicas e que apresentam funções específicas. Apesar deste facto, todos os linfócitos T possuem os receptores TCR e o CDR 3 (Abbas & Lichtman, 2003, Goldsby *et al.*, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ¹, ², ³ e ⁴).

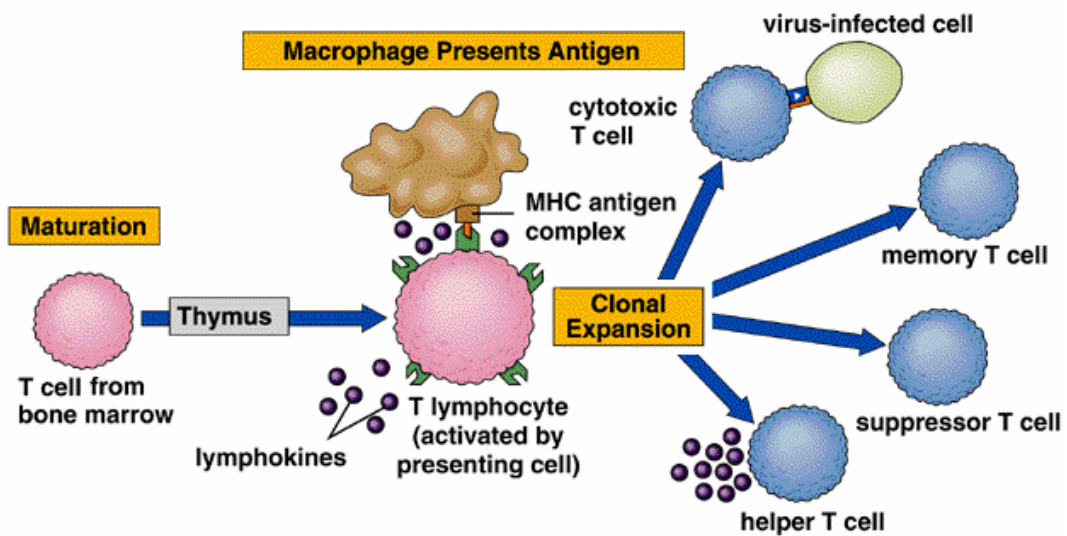


Figura 9: Representação esquemática do processo de diferenciação dos linfócitos T.

O LT_h possui um receptor CD4 na superfície, que tem a função de reconhecer os macrófagos activados e é o principal alvo do HIV. Esta célula é o mensageiro mais importante do sistema imunitário, na medida em que, envia mensagens para os diversos leucócitos a fim destes realizarem um conflito imunológico contra o agente agressor. Esta célula é a que interage com os macrófagos, reconhecendo o epitopo que lhe é apresentado (¹, ² e ⁴).

A interleucina 1 (IL-1) estimula a expansão clonal de LT_h monoclonais que vão secretar diversas interleucinas, sendo portanto, dividido em LT_h 1 e LT_h 2. Estes subtipos de LT_h secretam interleucinas distintas, cada uma com uma função específica. O LT_h 1 produz as IL-2 e o interferão gama (IFN- γ) que estão relacionados, principalmente, com a resposta imunitária celular. Por sua vez, o LT_h 2 produz as interleucinas 4, 5, 6 e 10, sendo a IL-4 e a IL-10 as mais importantes, estando relacionadas com a resposta imunitária humoral (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ³ e ⁴).

Os LT_h têm uma função reguladora e servem principalmente para estimular o crescimento e proliferação de LT_c e LT_s contra o antigénio, estimular o crescimento e diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos para produzir anticorpos contra o antigénio, activar os macrófagos e auto-estimulação, ou seja, um determinado LT_h pode estimular o crescimento de toda a população de LT_h (⁴).

Os LT_c possuem receptores de membrana CD8, que têm a função de reconhecer o MHC-classe I expressada por células rejeitadas (transplantes e enxertos). O MHC (*Major Histocompatibility Complex*) diz respeito ao complexo de histocompatibilidade principal e todas as células do organismo possuem genes próprios para este complexo, denominados de HLA. Quando uma célula estranha invade o organismo, vão expressar o MHC-classe I na superfície, cuja expressão é ampliada por estímulos como o IFN- γ . O MHC-classe II é produzido por macrófagos e linfócitos B, e tem a função de ligá-los aos linfócitos T_h para lhe apresentar o antigénio, através da interacção CD4-MHC-II e TCR-epitopo (Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ³ e ⁴).

Os linfócitos T citotóxicos são os principais “soldados” do sistema imunitário, pois atacam directamente as células estranhas que expressam o MHC-I e lisam a célula, através da destruição da sua membrana celular. Esta resposta imunitária específica baseia-se na activação e ataque das células CD8. O seu papel estimulador é devido à IL-2, produzida pelo LT_h , que causa a expansão clonal de linfócitos T citotóxicos monoclonais na resposta imunitária mediada por células (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e ¹).

Os LT_s são linfócitos que têm a função de modular a resposta imunitária através da sua inibição. Ainda não se conhece muito a respeito destas células, mas sabe-se que agem através da inativação dos LT_c e LT_h , limitando a sua acção no organismo aquando de uma reacção imunitária. Sabe-se que estes LT_h activam os LT_s , que vão controlar os próprios LT_h , impedindo que estes exerçam a sua actividade de forma excessiva. Os LT_s também participam na chamada tolerância imunológica, que é o mecanismo que o sistema imunitário utiliza para impedir que os leucócitos ataquem as próprias células do organismo. Portanto, se houver deficiência na produção ou activação dos LT_s , poderá ocorrer um ataque auto-imune ao organismo. Os receptores de superfície encontrados nos LT_s são os CD3 e o CD8, que também se observam nos LT_c . O receptor CD3 dos linfócitos T participa do mecanismo de activação intrínseca do linfócito (2 e 4).

Receptores de Antígenos dos Linfócitos T – TCR

O receptor de antígeno das células T (TCR - *T Cell Receptors*) é uma glicoproteína heterodimérica gerada por quatro diferentes grupos de genes ($\alpha\beta$ – presentes na maioria dos linfócitos T periféricos e $\gamma\delta$ – presentes numa subpopulação de linfócitos T tímicas e numa subpopulação menor de linfócitos T periféricos), ligada por pontes dissulfídricas que permitem o reconhecimento de uma ampla variedade de antígenos pelos linfócitos T (fig. 10). Encontra-se associada, na superfície da célula, a um complexo de péptidos conhecidos por CD3, sendo este componente, provavelmente, necessário ao sinal de transdução após o reconhecimento do antígeno pelo TCR (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, 1 e 3).

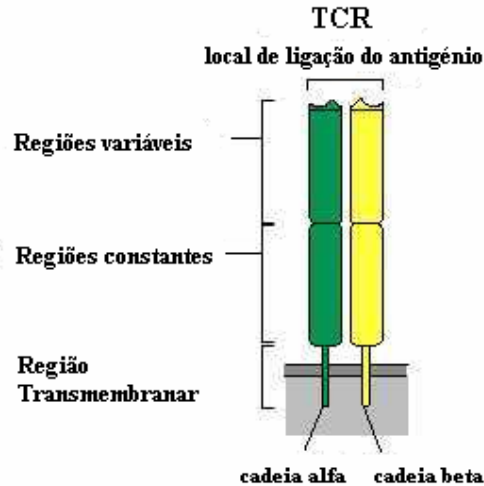


Figura 10: Esquema representativo da estrutura do TCR.

O TCR- $\alpha\beta$ reconhece fragmentos processados do antígeno, ligados às moléculas MHC-I ou II. Tanto o MHC como os resíduos péptídicos se associam ao TCR (Roitt *et al.*, 2001 e ¹).

Complexo Principal de Histocompatibilidade – MHC

Nos seres humanos existem genes que codificam várias proteínas da superfície da membrana celular. Estes aloantígenos são conhecidos como antígenos de leucócitos humanos (HLA – Human Leukocyte Antigens) e o seu elevado polimorfismo permite ao sistema imunitário reconhecer os antígenos *self* dos *non-self* (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, ² e ³).

O reconhecimento das células rejeitadas num enxerto pelos LT_c faz-se pelo reconhecimento dos MHC (*Major Histocompatibility Complex*), que se dividem em dois conjuntos de moléculas de superfície celular altamente polimórficas, o MHC-Classe I e o MHC-Classe II. Esta molécula é o antígeno de histocompatibilidade principal estando, o MHC-I, presente na membrana celular de quase todas as células do organismo, excepto nas hemácias e plaquetas. Esta classe de MHC reconhece os antígenos proteicos externos (incluindo tecidos transplantados) e são reconhecidos por linfócitos T com especificidade antigénica. Geralmente, as moléculas de classe I são reconhecidas por LT_c ou $CD8^+$. Possui duas cadeias, uma α e uma β , sendo que, a parte

lateral do MHC-I possui uma estrutura espacial que se encaixa com o CD8 presente nos LT_c . O MHC possui uma sequência de aminoácidos própria para cada indivíduo e apresenta-se semelhante para todas as células desse organismo. O MHC-I das células de um indivíduo só é igual a outro se os indivíduos forem gêmeos univitelinos (Roitt *et al.*, 2001 e ¹).

A sequência de aminoácidos presente nas cadeias do MHC, estando alterada na superfície da célula, é reconhecida pelo LT_c pela interação com o receptor TCR e CD8 (fig. 11). Os péptidos de proteínas endógenas virais produzidos por uma célula infectada unem-se à parte superior da cadeia de aminoácidos do MHC-I no citoplasma e são conduzidos até à superfície da célula para poderem ser reconhecidos (Roitt *et al.*, 2001 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e ³).

O MHC-I possui um nível de expressão leve e provém da tradução de RNA_m que foi transcrito por genes HLA-A, HLA-B e HLA-C (braço curto do cromossoma 6). A expressão destes genes é elevada quando estimulada pelo $IFN-\gamma$, libertado pelos LT_h 1 activados durante uma infecção (Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e ⁴).



Figura 11: Vista lateral da interação entre o receptor do linfócito T (TCR) e o complexo péptido-MHC (pMHC).

Os MHC-II (HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ) encontram-se apenas em células que apresentam antígenos (APC – *Antigen-Presenting Cells*) como os linfócitos B, os macrófagos e as células dendríticas. Pensa-se que os MHC de classe II são os que desempenham o papel predominante na resposta imunitária inicial a antígenos de

tecidos transplantados. Ao entrarem em contacto com um antígeno *non-self*, os HLA de classe II activam os LT_h (*helper* ou $CD4^+$) que, por sua vez, sofrem uma expansão clonal através da produção de citocinas reguladoras (Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Zugich *et al.*, 2004, Roitt *et al.*, 2001, ^{1, 2 e 4}).

Resposta Imunitária Celular Específica

Para o TCR ficar exposto na superfície da célula, é necessária a presença do CD3, que é formado por um conjunto de cinco polipéptidos. Quando o TCR unido ao CD3 se combina com o antígeno, o CD3 envia sinais de activação para o citoplasma, resultando esse sinal na fosforilação, pelo GTP (guanosina trifosfato). O complexo TCR: CD3 activado, faz com que o GTP transfira um radical fosfato para os aminoácidos tirosina dos polipéptidos do CD3 que, estando fosforilados vão activar o enzima fosfolipase C. Este enzima hidroliza o PIP2 (4,5-bifosfato de fosfaditil-inositol) em IP3 (trifosfato de inositol) e DAG (diacil glicerol). O IP3 estimula a libertação do cálcio das reservas intracitoplasmáticas para o citoplasma. O Ca^{2+} , agora livre no citoplasma, vai activar vários enzimas quinases, que retiram um fosfato ao ATP, colocando-o em proteínas, que se deslocam ao núcleo do linfócito e aí activam a transcrição do RNA mensageiro para a síntese de interleucinas, como a IL-2. O DAG activa a proteína fosfoquinase C que, em presença de cálcio livre, fica activada. A fosfoquinase C (PKC) faz fosforilação de proteínas como o IP3, proteínas essas que, ao se dirigirem ao núcleo, estimulam a transcrição de genes. Este enzima faz, também, a fosforilação de proteínas de libertação das vesículas que vão libertar as interleucinas para o meio externo, que, por sua vez, vão estimular a resposta imunitária celular ou humoral. Todo este mecanismo que causa a activação de genes vindo da interacção TCR-CD3-epitopo é designado de primeiro sinal (^{1, 3, 4 e 5}).

A IL-1 é um co-estimulador, que estimula um segundo sinal mensageiro intracelular que é indispensável para a activação dos LT_h . Esse sinal, ainda não esclarecido quanto à sua natureza, resulta na activação da transcrição de genes para citocinas (como, por exemplo, a IL-2). Ou seja, o linfócito necessita de dois sinais para ser activado, o primeiro vindo da interacção TCR:CD3-antígeno e o segundo do co-estimulador IL-1 (Abbas & Lichtman, 2003, ^{2 e 4}).

A IL-2 formada é uma substância autócrina, que age sobre o próprio LT_h que a produziu a quando libertada também age nos LT_c . É chamada de factor de proliferação, uma vez que estimula a mitose. Quando o complexo TCR:CD3 é activado pelo antígeno estimula a transcrição do gene do receptor de interleucina 2 e a expressão desse receptor na superfície da célula. Quando a IL-2 se liga a esse receptor ocorre a activação de vários mensageiros intracelulares (desconhecidos) que levam a uma maior síntese de DNA (replicação do DNA), propiciando um aumento da mitose (fig. 12) (Roitt *et al.*, 2001, ³ e ⁴).

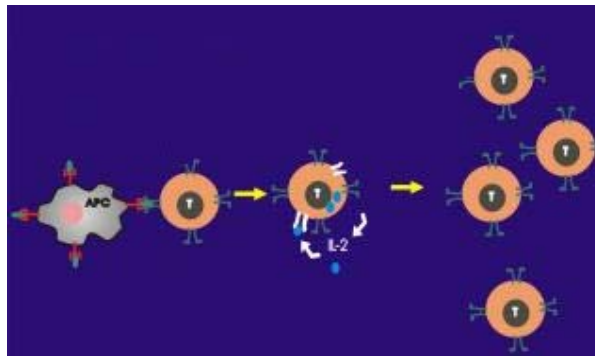


Figura 12: Representação esquemática da resposta funcional dos linfócitos T, aquando do contacto do MHC *non self* das APC's.

Deste modo, quando os linfócitos entram em contacto com a IL-2, ocorre a expansão clonal, ou seja, uma proliferação de linfócitos T específicos que provêm de um só LT_h que o produziu (clone), e uma expansão dos linfócitos T_c para a resposta imunitária celular (fig. 13) (Abbas & Lichtman, 2003, ¹ e ⁴).

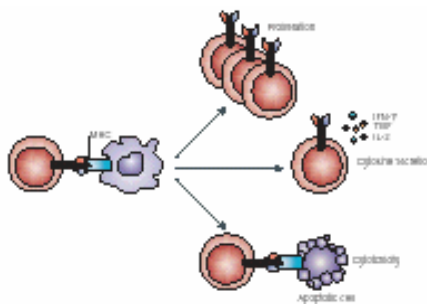


Figura 13: Diversidade funcional dos linfócitos T específicos para um determinado antígeno.

Como já foi referido, o gene para a IL-2 é activado para a transcrição sob o estímulo de proteínas fosforiladas no citoplasma, sendo que, a ciclosporina é um imunossupressor que inibe esta activação, inibindo a produção de IL-2 e, indirectamente, a proliferação dos LT_h e principalmente dos LT_c . Deste modo, inibe-se a resposta imunitária celular, uma vez que, os LT_c são os linfócitos capazes de lisar corpos estranhos ou células infectadas por vírus (fig. 14) (1 e 4).

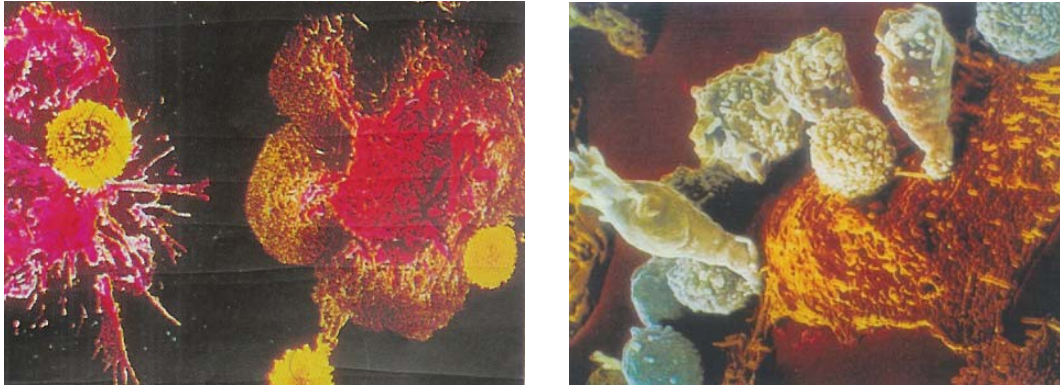


Figura 14: Linfócitos T_c em contacto com corpos estranhos.

Mecanismos de Desenvolvimento e de Lise Celular dos LT_c

Como já foi referido, os linfócitos que ainda não são capazes de realizar uma resposta imunitária formam-se no timo. Os LT_c que saem do timo apenas são capazes de reconhecer o antígeno ligado ao MHC-I ou ao MHC estranho exposto na célula-alvo (1).

A capacidade de lise celular dos LT_c é activada pelo contacto dos LT_c que saíram do timo e o MHC-I estranho e, por citocinas, que ao atingirem o complexo anterior, activam a diferenciação completa destas células em células capazes de provocar a lise na célula-alvo. O mecanismo de lise é antígeno-específica para o MHC-I estranho e baseia-se na libertação de enzimas, que formam poros na membrana plasmática das células-alvo, destruindo-as por osmose e pela indução da apoptose celular (Goldsby *et al.*, 2003, 2 e 4).

O processo referido pode dividir-se em diversas etapas:

1- Reconhecimento do antígeno: É a ligação do LT_c formado no timo com o MHC-I estranho e formação do complexo MHC (antígeno)-TCR-CD3;

2- Activação do LT_c : Após o reconhecimento e o contacto com as citocinas ($INF-\gamma$ e $IL-2$) ocorre a activação intrínseca dos linfócitos mediados por $CD3$. O $INF-\gamma$ é a única citocina importante produzida pelos LT_c activados numa infecção viral (fig. 15);

3- Golpe letal: Com a libertação de enzimas como a perforina, verifica-se a formação de poros na membrana da célula-alvo. Nesta fase, a toxina celular é também libertada;

4- Separação do LT_c : O LT_c desliga-se da célula-alvo e afasta-se;

5- Morte: A célula-alvo, contendo poros na membrana, vai sofrer tumefacção osmótica seguida de lise celular e morte. Podem ser libertadas também outras substâncias libertadas pelos grânulos, como a toxina celular que, ao entrar na célula-alvo activa enzimas da apoptose, como a endonuclease que, vai clivar o DNA da célula e provocar uma rápida condensação da cromatina nuclear (^{3 e 4}).

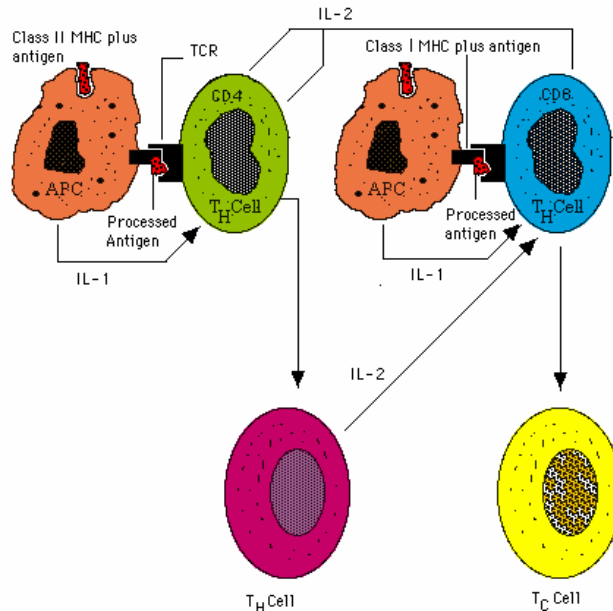


Figura 15: Representação esquemática da influência das citocinas na activação dos linfócitos T.

A Origem da Diversidade

A capacidade do sistema imunitário para reconhecer antígenos depende dos anticorpos formados pelos linfócitos B e dos receptores antigénicos expressos pelos linfócitos T. Apesar das diferenças nos mecanismos inerentes ao reconhecimento de antígenos pelos linfócitos T e B, ambos são capazes de reconhecer uma grande variedade deles (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e 5).

Apesar das diferenças entre anticorpos e receptores de linfócitos T, os processos celulares e moleculares que originam a sua diversidade são bastante semelhantes.

A diversidade observada na resposta imunitária mediada por linfócitos T advém da diversidade existente no arranjo dos genes de TCR (¹ e ³), arranjo esse bastante semelhante ao dos genes das cadeias pesadas das imunoglobinas. A diversificação dos genes do TCR ocorre por recombinação dos segmentos V(D)J com pequenas variações para cada *locus*. A cadeia α é bastante simples, excepto na zona central, entre os *locus* V e J, onde se encontram os *loci* da cadeia δ . Do mesmo modo, no *locus* κ , o rearranjo entre um segmento $V\alpha$ e $J\alpha$ origina uma porção variável completa, sendo a diversidade bastante aumentada pelo número elevado de segmentos J (fig. 16) (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ³ e ⁵).

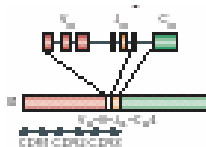


Figura 16: Diversidade estrutural da cadeia α do TCR.

O *locus* β inclui dois conjuntos de genes D, J e C. A maioria dos genes $V\beta$ encontra-se agrupada, apesar do $V\beta$ 14 estar situado na extremidade 3' do *locus*. A duplicação em *tandem* de $D\beta$, $J\beta$ e $C\beta$ deve ter ocorrido nas fases iniciais da evolução dos mamíferos, uma vez que, está presente em todos eles. O mecanismo de junção entre os segmentos da região variável é capaz de originar uma grande diversidade já que, para além do arranjo V (D) J podem ocorrer também os arranjos V-J, V-D e D-J. Também os segmentos D aumentam, ainda mais, a diversidade da cadeia β , já que são utilizados em

todas as grelhas de leitura (fig. 17) (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ^{3 e 5}).

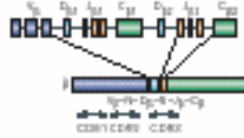


Figura 17: Diversidade estrutural da cadeia β do TCR.

O *locus* da cadeia pesada γ é constituído por oito genes $V\gamma$ seguidos, na direcção 5', por três genes $J\gamma$ e o primeiro $C\gamma$, existindo, por isso, dois genes $J\phi$ adicionais antes de $C\gamma 2$. Uma união imprecisa de V-J, juntamente com inserções nos pontos de junção constitui um processo importante na formação de uma maior diversidade (Roitt *et al.*, 2001, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ^{3 e 5}).

O *locus* δ foi descoberto durante estudos para o *locus* α , por se encontrar, como já foi referido, na sua região média. É constituído por apenas cinco genes $V\delta$, dois $D\delta$ e seis $J\delta$, calculando-se que possam ser geradas cerca de 10^{14} cadeias δ diferentes. Esta diversidade pode ser produzida por imprecisão dos processos de junção, pela inserção de resíduos adicionais e pelo uso de genes D nas três grelhas de leitura (Roitt *et al.*, 2001 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Os mecanismos pelos quais ocorre a recombinação são semelhantes aos que ocorrem nos linfócitos B, uma vez que, os genes apresentam padrões semelhantes de heptâmeros (12-23 bases) – nonâmeros e rearranjos enzimáticos idênticos ocorrem nos linfócitos B e T. Contudo, a mutação somática, que é um importante mecanismo de produção de diversidade nas imunoglobulinas, não ocorre nos genes de TCR. Tal facto, está relacionado com a necessidade de manter a autotolerância e o reconhecimento dos MHC pelos linfócitos T (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e ³).

A diversidade depende de vários factores, entre eles, as combinações simples de V, D e J mais a diversificação da região N, a variação no sítio de junção e inúmeras regiões D (Roitt *et al.*, 2001).

A maioria dos timócitos, cerca de 99%, diferencia-se em células TCR- $\alpha\beta$ e apenas 1% dos linfócitos tímicos maduros expressam o TCR- $\gamma\delta$ (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004 e ⁵).

Os linfócitos T têm de reconhecer uma extensa variedade de antigénios. Para tal, as cadeias polipéptidicas $\alpha\beta$ e $\gamma\delta$ do TCR sofrem recombinação somática durante o desenvolvimento tímico, dando origem a genes funcionais para os receptores das células T. As cadeias β e δ são codificadas pelos segmentos génicos V(D)J, enquanto que a α e γ são codificadas, apenas, pelos segmentos V e J. Os primeiros genes do TCR- α a sofrerem rearranjo durante o desenvolvimento dos linfócitos T codificam as cadeias γ , sendo este processo seguido do rearranjo das cadeias β e α . Através da ligação aleatória dos diferentes segmentos génicos possibilita-se um elevado número de rearranjos produtivos que, por sua vez, possibilitam a expressão de diversas sequências peptídicas para ambas as cadeias do TCR. Relativamente, aos rearranjos não produtivos, são eliminados (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ³ e ⁵).

A expressão inicial do TCR, na superfície, é pouco significativa, estando maioritariamente confinada ao córtex externo e região subcapsular do timo, onde se verifica uma intensa proliferação celular.

Ainda no timo, os linfócitos T em desenvolvimento são submetidos a dois processos, a selecção positiva e a selecção negativa. O primeiro permite o desenvolvimento dos TCR que possuem uma afinidade moderada aos antigénios próprios do MHC, uma vez que, os linfócitos T reconhecem os péptidos antigénicos quando apresentados pelas moléculas “próprias” do MHC nas APC's (epitélio cortical do timo). Ou seja, os linfócitos T são capazes de reconhecer tanto os péptidos antigénicos como a região polimórfica das moléculas MHC. Este mecanismo é mediado por células epiteliais do timo que agem como APC's (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ¹, ³ e ⁵).

Os linfócitos T que apresentam receptores com afinidades muito elevadas ou muito baixas para os antigénios MHC próprios, sofrem apoptose (pela activação de nucleases endógenas que causam a fragmentação do DNA) e morrem no timo.

Os linfócitos T com receptores de afinidade intermédia não sofrem apoptose, prosseguindo a sua maturação (Roitt *et al.*, 2001 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Por sua vez, a selecção negativa actua no seguimento do processo de maturação dos linfócitos. Alguns dos linfócitos T positivamente seleccionados podem ter receptores capazes de reconhecer alguns auto-componentes que não o MHC próprio. Na selecção negativa, os timócitos interagem com o antigénio, com células interdigitantes e com macrófagos e, apenas os que não conseguem reconhecer os auto-antigénios

continuam o seu processo de desenvolvimento e maturação, sendo que, os que reconhecem os referidos antígenos sofrem apoptose. Neste estágio de amadurecimento ($CD4^+$, $CD8^+$ e TCR^0), os linfócitos T evoluem de forma a expressarem TCR's em elevada densidade e perdem ou o CD4 ou o CD8, tornando-se linfócitos T maduros com "positividade única"(medula tímica). Estas subpopulações separadas de células de $CD4^+$ ou de $CD8^+$ têm receptores especializados de alojamento e migram para as áreas de linfócitos T dos tecidos linfóides periféricos, onde funcionam como LT_h e LT_c , respectivamente (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Zugich *et al.*, 2004,^{1, 3 e 5}).

Como já foi referido, ambos os processos, de selecção positiva e negativa, envolvem o reconhecimento de péptidos *self* associados a moléculas MHC antólogas, evidenciando, contudo, diferenças entre si, relacionadas com a avidéz estrutural e funcional da ligação dos péptidos ao TCR. A avidéz estrutural é determinada pelas afinidades directas das ligações de TCR múltiplos a pMHC's (péptidos do MHC). Por sua vez, a avidéz funcional relaciona a avidéz de ligação do linfócito T específico do antígeno com uma função biológica mensurável em diferentes doses do antígeno (fig. 18). Assim, uma ligação mais forte favorecerá a selecção negativa e, a existência de sinais qualitativamente para cada processo de selecção deve-se provavelmente ao facto da função do co-receptor CD8 ser essencial à selecção positiva e não para a negativa, a menos que a afinidade para o péptido seja baixa (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Zugich *et al.*, 2004 e ⁵).

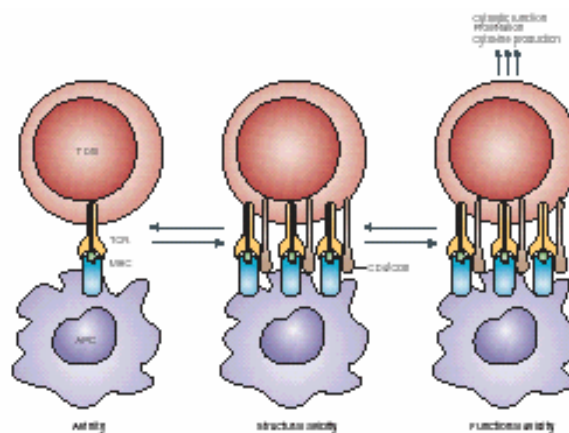


Figura 18: Representação esquemática do processo de reconhecimento do complexo pMHC da APC pelo TCR, com o posterior reconhecimento das moléculas CD4/CD8 e consequente produção de citocinas e LT_c 's.

Menos de 5% dos timócitos deixa o timo, uma vez que, os restantes morrem, em consequência dos processos de selecção e da incapacidade de expressar receptores para os antigénios (Roitt *et al.*, 2001 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Apesar do que já foi referido, nem todos os linfócitos T são eliminados no desenvolvimento intratímico, devido aos factos de, nem todos os auto-antigénios serem capazes de se deslocar por entre os tecidos tímicos, os TCR's dos linfócitos T possuírem uma afinidade muita baixa para o complexo MHC apresentado nas células do estroma tímico e/ou porque a concentração do complexo pMHC poder ser, na sua superfície, bastante baixa, e o epitélio tímico poder, também ele, servir de barreira a alguns antigénios circulantes. Neste caso, ocorre a inactivação periférica dos linfócitos T auto-reactivos (tolerância periférica) através da regulação negativa do TCR e CD8 (LT_c's), de forma a incapacitar as células de interagir com os auto-antigénios alvo, e, a provocar anergia, motivada pela falta de sinais secundários fundamentais de activação, fornecidos pelas células alvo (Roitt *et al.*, 2001, Abbas & Lichtman, 2003, Nikolich-Žugich *et al.*, 2004, ³ e ⁵).

Os linfócitos T, na fase de maturação, são “educados” para reconhecer antigénios no contexto do MHC, originalmente, encontrado no timo (Roitt *et al.*, 2001 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A Regulação da Resposta Imunitária

A resposta imunitária está sujeita a vários mecanismos de controlo cuja finalidade é restaurar o estado de repouso do organismo quando a resposta a um determinado antigénio deixa de ser necessária. Uma resposta imunitária eficiente é o resultado final de diversas interacções entre o antigénio e diversas células competentes do ponto de vista imunológico. Esta resposta é determinada, aos níveis qualitativo e quantitativo, por diversos factores, quer intrínsecos (estado de saúde do indivíduo, entre outros), quer extrínsecos (por exemplo, o próprio organismo estranho). Também a natureza, a dose e a via de administração do antigénio são profundamente importantes e determinantes para o resultado da resposta imunitária (Abbas & Lichtman, 2003).

Os linfócitos B e T são activados pelo antígeno após ocorrer uma ligação eficiente entre os seus receptores específicos e o antígeno. Contudo, no caso dos linfócitos T, este contacto não se dá directamente com o antígeno mas sim com péptidos antigénicos processados e ligados às moléculas MHC-I ou II (Roitt *et al.*, 2001, ³ e ⁴).

Uma resposta imunitária eficiente remove o antígeno do sistema e, como a exposição repetida ao antígeno é necessária para manter os linfócitos T e B em fase activa de proliferação, os linfócitos retornam ao estado quiescente (Roitt *et al.*, 2001).

Doses muito elevadas de antígeno resultam, frequentemente, numa tolerância específica dos linfócitos T ou, por vezes, dos linfócitos B.

A ocorrência de uma resposta imunitária ou uma tolerância a um determinado antígeno depende inicialmente da natureza das APC's, que apresentam esse mesmo antígeno. Uma activação eficiente dos linfócitos T exige a expressão de moléculas co-estimuladoras na superfície dessas APC's. Deste modo, a apresentação do antígeno por células dendríticas ou por macrófagos activados, com elevados níveis das moléculas co-estimuladoras e de MHC-II, resulta numa activação eficaz dos linfócitos T. Pelo contrário, se o antígeno é apresentado aos linfócitos T por uma APC "não profissional", este é incapaz de produzir co-estimuladores, não ocorrendo resposta (Roitt *et al.*, 2001 e Abbas & Lichtman, 2003).

Como já se referiu, os linfócitos T, claramente, moldam a resposta imunitária num sentido positivo, ao proporcionarem o auxílio do linfócito T. Também, o tipo de ajuda que é gerado (T_{h1} x T_{h2}) afecta a natureza da resposta imunitária, favorecendo a imunidade humoral ou celular (Roitt *et al.*, 2001).

A supressão total ou parcial da resposta imunitária pode ocorrer pela acção dos LT_h , em que se verifica uma produção de citocinas, como a $TGF\beta$, a IL-4 e a IL-10. Estudos evidenciam que os linfócitos T $CD4^+$ gerados após a administração de doses elevadas de auto-antígeno impedem um desenvolvimento posterior de auto-imunidade. Por exemplo, linfócitos T $CD4^+$ apresentados impedem o desenvolvimento de auto-anticorpos para a tiroglobulina. E, a administração do anticorpo $CD4^+$ com uma dose imunogénica de tiroglobulina, impede, não só, o desenvolvimento de auto-imunidade, como também, permite o aparecimento de uma população de linfócitos T $CD4^+$ capazes de transferir a tolerância específica a receptores ingénuos (Roitt *et al.*, 2001).

A produção de diferentes citocinas por diferentes populações de LT_h permite inferir acerca da regulação de síntese da IgE, tendo já sido demonstrada uma regulação cruzada por subpopulações LT_h , em que citocinas como o $IFN\gamma$ secretado por LT_h 1 podem inibir a resposta dos LT_h 2. A IL-10 produzida pelos LT_h 2 tem um controlo negativo sobre o B7 (²) e a expressão de IL-12 pelas APC, inibindo, por consequência, a activação dos LT_h 1. Ou seja, a selecção do tipo de resposta imunitária é resultado da activação preferencial de LT_h 1 ou LT_h 2 (Roitt *et al.*, 2001 e Abbas & Lichtman, 2003).

Também, os linfócitos T $CD8^+$ interferem nas respostas imunitárias, podendo promovê-las ou impedi-las (²).

A tolerância aos auto-antígenos é estabelecida durante a ontogenia, em que, os receptores individuais antígeno-específicos em linfócitos T e B estão presentes na fase neonatal, já em níveis suficientes para gerar tolerância. Tolerância, esta, desenvolvida apenas nas porções Fc, uma vez que, apenas estas estão presentes em número suficiente. Tal não acontece para os determinantes únicos nas cadeias leves e pesadas que determinam a especificidade do antígeno, uma vez que, estes se encontram em número reduzido. Deste modo, os receptores individuais dos linfócitos T e as imunoglobulinas são, portanto, imunogénicos, em virtude destas sequências únicas, designadas por idiotipos, que tanto podem ser codificados pelos genes da linhagem germinativa da região V como gerados nos processos de recombinação e mutação envolvidos na produção de elementos funcionais desta região (Roitt *et al.*, 2001 e ²).

A resposta imunitária e a activação de linfócitos T também podem ser influenciadas pelo MHC-I e II, uma vez que estas moléculas apresentam um elevado polimorfismo que, por sua vez, tem um impacto profundo na ligação do péptido.

Os mecanismos de tolerância imunológica são, portanto, necessários como forma de impedir a reactividade contra os constituintes do próprio organismo, dado que, o sistema imunitário gera ao acaso elevada variabilidade de receptores antígeno-específicos, dos quais alguns se podem tornar auto-reactivos. A auto-reactividade é inibida por mecanismos não programados geneticamente e que ocorrem durante o desenvolvimento. No seu decorrer, faz-se a discriminação próprio/não próprio, ou seja, *self/non self* e, o *self* deve compreender todos os determinantes antigénicos (epitopos) codificados pelo DNA do indivíduo de forma a todos os outros epitopos serem reconhecidos como *non self*. Deste modo, não é a estrutura da molécula em si, que determina se ela é reconhecida como *self* ou *non self*, mas sim outras características, para além das estruturais do epitopo. Entre elas, a época

em que os linfócitos contactam pela primeira vez com os epitopos, o local onde isso ocorre, a natureza das células apresentadoras de epitopos e a produção de moléculas co-estimuladoras pelas últimas (Roitt *et al.*, 2001).

Resposta Imunitária Mediada por Células em:

- Transplantes

Quando um tecido estranho chega ao nosso organismo, partes dele, ou seja, algumas células do tecido, desprendem-se e são levadas aos tecidos linfóides secundários, como os nódulos linfáticos e/ou baço, onde as células apresentadoras de antígenos apresentam o antígeno ao LT_h , que, quando activados, produzem IL-2. Esta, por sua vez, estimula a expansão clonal e a activação dos LT_c para o ataque. Ocorre também uma apresentação directa do antígeno ao LT_c através do reconhecimento do MHC-I estranho na superfície das células estranhas do enxerto, através da interacção MHC-I e TCR. Estes LT_c possuem receptores CD8 e TCR. O TCR e o CD8 próprio do LT_c são capazes de reconhecer o MHC-I que possui uma sequência de aminoácidos estranha, que está presente nas células. Nos casos de enxertos de tecidos, a expressão dos MHC-I aumenta, uma vez que, a produção de IFN- γ , também ela, aumenta. Após o reconhecimento, ocorre a lise do tecido estranho pelas células citotóxicas. O MHC-II é expressado no endotélio estranho que compõe o tecido enxertado e é reconhecido pelos LT_h activados que chegam ao local e que induzem ainda mais a resposta contra o tecido. Os LT_h activados nos tecidos linfóides e directamente no local podem activar a resposta imunitária humoral, que forma anticorpos anti-enxertos (⁴).

Este mecanismo de rejeição ocorre da mesma forma para as células neoplásicas, uma vez que, estas também possuem alterações nos seus MHC-I (receptores neoformados).

- Ataque a Vírus

Na resposta imunitária celular que se desenvolve contra vírus e outros, ocorre a migração destes até aos nódulos linfáticos satélite (fig. 19). Da mesma forma, há a apresentação do antígeno pelos macrófagos aos LT_h 1 que, fazem uma expansão clonal

formando uma imensa população. Nesta expansão formam-se também linfócitos T de memória que vão “guardar” no seu interior as informações sobre o antigénio. Essas informações servem para a resposta imunitária secundária, na qual o antigénio entra em contacto com o sistema pela segunda vez e é rapidamente reconhecido (por células de memória) e atacado (⁴).

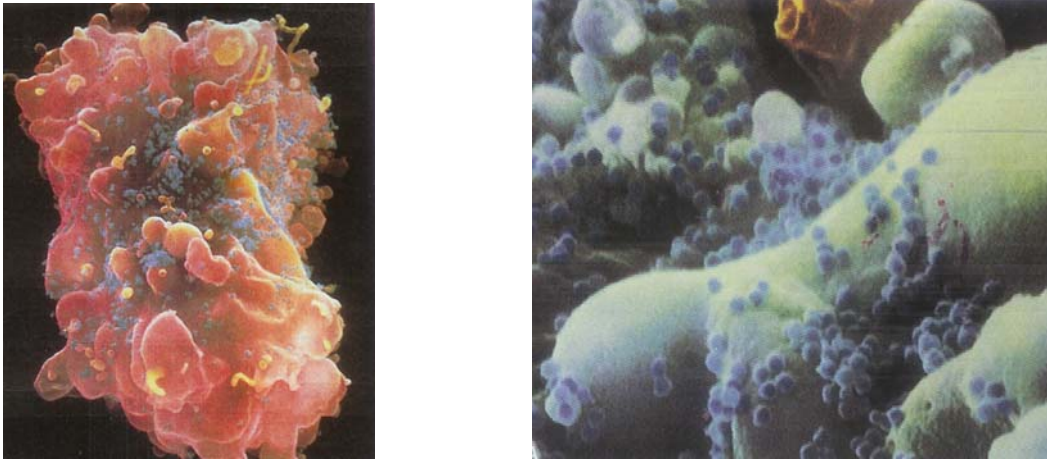


Figura 19: Fotografia, ao microscópio, de um linfócito T_h a ser atacado por um vírus (HIV).

Estes LT_h 1 da população clonal formam IL-2 e IFN- γ que activam os LT_c que vão aumentar o seu nível da expansão clonal e elevar o seu metabolismo interno.

Mas o que ocorre numa infecção viral, para além da apresentação do antigénio aos LT_h , é a apresentação directa aos LT_c que chegam até às células infectadas. Essas células que possuem o vírus multiplicam-se no seu interior, e vão manifestar péptidos virais em cima da sequência de aminoácidos do MHC-I. Esse processo ocorre na altura de sintetizar o MHC-I. Quando a vesícula exocítica contendo as cadeias do MHC-I recém traduzidas no retículo endoplasmático rugoso estão a caminho da superfície, ocorre uma fusão com uma vesícula contendo péptidos virais intrínsecos da célula. Neste ponto, o MHC-I atinge a superfície da célula contendo os antigénios virais unidos à sua cadeia de aminoácidos. O receptor CD8 dos LT_c encaixa-se no MHC-I lateralmente e o TCR dos LT_c reconhece a cadeia estranha e activa o ataque à célula (⁴).

Há duas formas dos LT_c atacarem os vírus:

- Por destruição das células hospedeiras infectadas que são fontes das partículas virais replicadas;

- Por uma elevada libertação de interferão gama que, embora seja uma molécula reguladora, é também um importante antiviral, na medida em que, induz a célula hospedeira a produzir uma proteína antiviral protectora que impede a formação de proteínas virais (⁴).

- Ataque a Fungos ou Bactérias

Uma infecção por fungos ou micobactérias não ocorre directamente pelo reconhecimento dos LT_c , mas sim pela intensa participação dos $LT_h 1$ que, como já foi referido anteriormente, fazem o reconhecimento nas células apresentadoras de antígenos e libertam citocinas estimuladoras de LT_c (⁴).

Também, com a activação dos $LT_h 1$ ocorre a estimulação para a formação de um clone de células de memória (LT_m) específicas para o antígeno que vai permanecer sempre no organismo e manifestar-se numa resposta imunitária secundária (⁴).

Resumo do Artigo de Revisão

O artigo de revisão, em análise, aborda os avanços mais recentes da diversidade do repertório de linfócitos T (nomeadamente, ao nível dos receptores destas células - TCR), necessária para gerar uma resposta imunológica eficiente (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A diversidade inicial do sistema imunitário é produzida nos órgãos linfóides primários e, a diversificação posterior, ou periférica, ocorre, quer por hipermutação somática nos receptores dos linfócitos B, quer pela diversificação funcional dos linfócitos T efectores (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A resposta imunitária baseia-se na presença de uma população de linfócitos T, num equilíbrio que permita responder a péptidos de patógenos ligados a MHC's, através da produção e manutenção de um repertório diverso de receptores de linfócitos T (TCR). Essa diversidade de TCR's está confinada às regiões que determinam a complementaridade (CDR's) aos péptidos ligados aos MHC's (complexo pMHC) (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A diversificação dos TCR deve, provavelmente, ter co-evoluído em conjunto com os patógenos, de modo a produzir receptores diversificados que estejam à altura de produzir uma resposta eficaz para o universo de antígenos. Também a diversidade estrutural e funcional dos linfócitos T contribui, de forma inequívoca, para a geração da diversidade do seu repertório. No entanto, faltam evidências experimentais relativamente à relação entre quantidade e qualidade entre a diversidade de linfócitos potencial, e realmente existente, e o resultado da defesa imunitária contra os patógenos e, também, até que ponto a variabilidade do repertório de células ingênuas afecta a magnitude e a complexidade das respostas imunitárias (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Alguns aspectos como a estrutura natural da reactividade cruzada, o nível de especificidade/promiscuidade dos TCR's e a natureza da discriminação da resposta entre péptidos proximamente relacionados não estão ainda completamente compreendidos (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Diversos factores influenciam a diversidade do repertório dos linfócitos T, entre eles, a sua diversidade recombinatória e os efeitos da interacção TCR-pMHC, interacções estas que vão aperfeiçoar o alcance e a reactividade do repertório. Também, a avidéz estrutural e a avidéz funcional dos linfócitos T são factores de enorme relevância por serem, também eles, responsáveis pelo ganho ou a perda de determinados TCR's (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Outros factores de extrema importância são as moléculas de MHC e o seu acentuado polimorfismo, na medida em que, cada uma delas selecciona preferencialmente algumas e “apaga” outras especificidades dos TCR's, criando falhas únicas no seu repertório. Também, as mudanças no complexo de pMHC podem conduzir a diferenças no repertório funcional expresso de TCR- $\alpha\beta$ mapeados por selecção positiva e negativa. Relativamente a estes processos de selecção, a purificação de TCR's nos linfócitos T auto-activos por selecção negativa, reduz a diversidade dos mesmos, podendo produzir incapacidade de resposta a determinados antígenos ou, alternativamente, a selecção de TCR's de reduzida avidéz estrutural (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A delecção preferencial das células T mais promíscuas pode explicar a razão de muitos indivíduos possuírem linfócitos T auto-activos, e, relativamente, poucos sofrerem de doenças auto-imunes (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A imunodominância dos TCR's, ou seja, o recrutamento preferencial de uma população de células T que expressa elementos TCR restritos, em resposta a um

determinado epítipo é maioritariamente determinada pelas características estruturais e avides da população de linfócitos T efectores (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

O repertório TCR é influenciado, principalmente, por duas forças, o contacto do TCR com o complexo pMHC e a sub-regulação das moléculas de superfície dos linfócitos (TCR, CD4 e CD8) ou uma anergia funcional, que resultam na modificação funcional da reactividade dos linfócitos T, estando preparados para a defesa contra patógenos, à saída do timo. Nesta fase, estabelece-se a diversidade funcional, ao ser estabelecido o contacto com o antígeno. Contudo, continua por esclarecer até que ponto a estrutura do TCR e a avides podem determinar a diversificação funcional intra e extratímica e, qual a extensão dos aspectos funcionais que estão programados pelos eventos independentes ao TCR (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A avides do TCR afecta também as respostas dos linfócitos T_h 1 e 2, nos quais, uma maior avides e um contacto mais longo com o complexo TCR-pMHC têm sido atribuídos a funções dos LT_h 1 (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

Um importante factor na interface da diversidade estrutural e funcional é a reactividade cruzada dos TCR's que, surge como resposta à forma de usar o repertório de TCR finito, distribuído num número finito de linfócitos T e distribuído por um número bastante vasto de epítipos (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A especificidade do reconhecimento deve ser suficientemente elevada para o repertório responder a um péptido estranho mas não a um péptido *self* (próprio). Assim, a reactividade cruzada, ou seja, a capacidade de reconhecer diversos péptidos diferentes ligados a moléculas de MHC surge, de modo a providenciar a existência de um equilíbrio entre a vantagem de uma frequência elevada de linfócitos T que respondem ao mesmo epítipo e a desvantagem de um elevado nível de deleção clonal intratímica. A reactividade cruzada contribui, então, para a diversidade de reconhecimento do antígeno quase na mesma extensão que a diversidade estrutural do TCR- $\alpha\beta$. Este fenómeno é de extrema importância, na medida em que, se a reactividade cruzada for funcionalmente relevante para a defesa de patógenos, pode ser capaz de cobrir muitas situações nas quais há restrições na diversidade estrutural (Abbas & Lichtman, 2003 e Nikolich-Žugich *et al.*, 2004).

A diversidade gerada é bastante relevante no que respeita à resistência a um determinado patógeno, uma vez que, através da geração de um *pool* diverso de recrutamento de linfócitos T com elevada avides, se obtém uma eficácia mais elevada

na eliminação de células infectadas (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004). Diversos estudos estão a ser desenvolvidos nesta área da imunologia moderna de modo a quantificar a diversidade de TCR's em diferentes órgãos linfóides e ao longo de vários processos biológicos. Tais investigações, proporcionarão uma excelente plataforma a partir da qual se esclareça, inequivocamente, o papel da diversidade de TCR's na defesa imunitária (Nikolich-Žugich *et al.*, 2004)

Considerações Finais

Ao longo de todo o trabalho pode observar-se que o Homem possui diversas barreiras a agentes estranhos. Para além das barreiras naturais evidentemente presentes em todos os organismos, possuímos também outras, nomeadamente as conferidas pelo sistema imunitário.

As respostas imunitárias resultantes da acção deste sistema podem ser dadas por diferentes tipos de células consoante se trate de uma resposta inespecífica ou específica. No primeiro caso, a resposta é dada por macrófagos e interferões, entre outros. Quanto às respostas imunitárias específicas, estas são mediadas por linfócitos B e/ou T.

Relativamente ao desenvolvimento e maturação destes últimos, ocorre principalmente na medula óssea e no timo, para os linfócitos B e T, respectivamente.

Diversas células têm um papel preponderante nas respostas do sistema imunitário, entre elas, os linfócitos. Existem diversos tipos de linfócitos T, os LT_h , os LT_c e os LT_s . Todos os linfócitos apresentam um receptor na sua membrana, o TCR, que permite o reconhecimento de fragmentos processados do antigénio, ligados às moléculas MHC-I ou II.

A capacidade do sistema imunitário para reconhecer antigénios depende dos anticorpos formados pelos linfócitos B e dos receptores antigénicos expressos pelos linfócitos T. Diversos mecanismos que ocorrem durante a fase de maturação dos linfócitos T no timo, e mesmo no decorrer da maturação periférica, estão envolvidos na geração da elevada diversidade no repertório de linfócitos T.

A diversidade observada na resposta imunitária mediada por linfócitos T advém, principalmente, da diversidade existente no arranjo dos genes de TCR que, ocorre por

recombinação dos segmentos V(D)J com pequenas variações para cada *locus* nas cadeias α , β , γ e δ .

Contudo, de todo o reportório de linfócitos T que é gerado no timo, apenas cerca de 5% sobrevive às selecções positiva e negativa, sofrendo, os restantes, apoptose. Em ambos, ocorre um reconhecimento de péptidos *self* associados a moléculas MHC antólogas, evidenciando, contudo, diferenças entre si, que residem na avidéz estrutural e funcional da ligação dos péptidos ao TCR.

A tolerância aos auto-antigénios é estabelecida durante a ontogenia, em que, os receptores individuais antigénio-específicos em linfócitos T e B estão presentes, na fase neonatal, já em níveis suficientes para gerar tolerância. Os mecanismos de tolerância imunológica são, deste modo, necessários como forma de impedir a reactividade contra os constituintes do próprio organismo, uma vez que, o sistema imunitário gera ao acaso uma elevada variabilidade de receptores antigénio-específicos, dos quais alguns se podem tornar auto-reactivos.

Actualmente, ainda não estão completamente clarificados quais os mecanismos mais relevantes, e a forma como estes actuam, na formação de uma grande diversidade no reportório de linfócitos T. Assim, como uma baixa diversidade de linfócitos T pode conduzir a um funcionamento deficiente do sistema imunitário, a total clarificação destes mecanismos poderá constituir a base do desenvolvimento de novas terapias para o tratamento de imunodeficiências.

Referências

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., 2003. *Cellular and Molecular Immunology*, 5th ed.. Saunders Comp., U.S.A.
- Dicionario de Biología, 1998. Editorial Oxford-Complutense; Madrid, España.
- Glick, B. R., Pasternak, J. J., 2003. *Molecular Biotechnology – Principles and Applications of Recombinant DNA* (3rd ed.). ASM Press, Washington, D. C..
- Goldsby, R. A., Kindt, T. J., Osborne, B. A., Kuby, J., 2003. *Immunology* (5th ed.). W. H. Freeman and Company, New York, USA..
- Manuila, L., A. Manuila, P. Lewalle, e M. Nicoulin, 1999. Dictionnaire Médical. Masson Éditeur; Paris, França.
- Nikolich-Žugich, J., Slifka, M. K., Messaoudi, I., 2004. The many important facets of T-cell repertoire diversity. *Nature Reviews Immunology*, 4: 123-132.
- Purves, W. K., Orians, G. H., Heller, H. C., Sadava, D., 1998. *Life – The Science of Biology*, 5^a ed., Sinauer Associates, Inc & W. H. Freeman and Company, USA.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., 2001. *Immunology* (6th ed.). Mosby, London, UK.
- ¹ <http://www.eurekah.com>
- ² <http://www.ohsu.edu>
- ³ <http://www.sciencedirect.com>
- ⁴ <http://www.ubi.pt>
- ⁵ <http://ntri.tamuk.edu/immunology/cmediated.html>
- ⁶ <http://www.technion.ac.il>