

## VAMOS RELEMBRAR ANTES...?

### Interação PAMP:PRR

**Macrófagos:** Expressam diferentes PRRs que irão reconhecer os PAMPs, expressando moléculas como o MHC I e MHC II e produzindo citocinas.

**Células dendríticas:** são ativadas a partir do reconhecimento de PAMPs pelos PRRs, o que faz com que ela expresse menos PRRs em sua superfície, dando espaço ao MHC de classe I e o MHC de classe II, moléculas coestimulatórias, citocinas e moléculas de adesão, por exemplo.

### MHC I

Em humanos, é conhecido como HLA I. É formado por cadeias  $\alpha$  e uma cadeia  $\beta 2$ . O peptídeo citosólico passa pelo proteossoma e se liga à fenda do MHC I no Retículo Endoplasmático, tornando o MHC I estável. Uma vez que está estável, é expresso na superfície da célula.

- Presente em todas as células nucleadas
- Apresenta antígenos para Linfócitos T CD8+

### MHC II

Em humanos, é conhecido como HLA II. É formado por duas cadeias  $\alpha$  e duas  $\beta$ . Ele se estabiliza na presença de peptídeo CLIP e, após, se desloca do Retículo Endoplasmático ao Fagolisossoma, fundindo-se a este último. Nessa fusão, o MHC II encontrará o antígeno patogênico, que se ligará a ele no lugar do CLIP, viabilizando a expressão do MHC II na superfície celular.

- Presente em células apresentadoras de antígeno (APCs)
- Apresenta antígenos para Linfócitos T CD4+

### APCs

- Macrófagos
- Linfócitos B2
- Células Dendríticas

APC profissional

Apresenta maior superfície de contato, uma vez que possui longos processos citoplasmáticos. Isso viabiliza a comunicação com diversas células que estão ao redor dela.

Possui um baixo limiar de ativação, o que culmina em uma rápida ativação mesmo mediante pouco sinal. Essa característica faz com que as células dendríticas sejam as melhores APCs para ativar linfócitos T virgens.

Ela faz apresentação cruzada - apresentando, desse modo, antígenos citosólicos e endossomais - e expressa, ainda, muitas moléculas de adesão quando ativada.

# Ativação e diferenciação dos Linfócitos T CD4+ e T CD8+

## T CD4+ VIRGENS

T CD4+/ T HELPER/ TH / T AUXILIAR

Levando em consideração as células dendríticas como principais ativadoras de Linfócitos T, são necessários alguns sinais para que as células T CD4+ virgens sejam ativadas.

### 1º SINAL

Nesse sinal, ocorre a interação entre o peptídeo-MHC II com o TCR. Com isso, o TCR reconhece o antígeno e se conecta ao MHC II. Esse mecanismo serve para identificar se o TCR é específico para o antígeno que está sendo apresentado pelo MHC II.

Caso não ocorra o reconhecimento do antígeno ou a ligação entre TCR e MHC II, não há 1º sinal.

Ocorre quando o TCR não é específico para o antígeno apresentado;

Ocorre quando o TCR é específico para o antígeno apresentado, porém, o MHC II não é do indivíduo - como em transplantes de órgãos - e impede a ligação do TCR com o MHC II

Obs.: É importante compreender o TCR como um complexo, em que as moléculas CD3 farão a sinalização intracelular e o co-receptor CD4 irá se ligar ao  $\beta 2$  do MHC II.

### 2º SINAL

Nesse sinal, com APC ativada, ocorre a interação entre moléculas coestimuladoras:

- CD28: molécula constitutiva da célula T
- B7.1 /CD80 e B7.2/CD86: moléculas da APC

### 1º + 2º SINAL = ...?

Esses dois sinais culminam na expansão clonal mediada por IL-2. Essa citocina é secretada pela APC e é tanto secretada quanto captada pelas T CD4+ virgens. Desse modo, IL-2 desenvolve uma função autócrina.

IL-2 viabiliza a criação de diversos clones por mitose que serão separados em 2 subtipos:

- Células T CD4+ de memória efetora } **! Maioria!**
  - ↳ Combate diretamente o patógeno
- Células T CD4+ de memória central
  - ↳ Guarda a memória para uma infecção reincidente (2ª infecção)

**OBS.:** Nesse momento - até o 2º sinal - as células são apenas subdivisões celulares, ainda não estão diferenciadas. Todas as células ainda são T CD4+ ativadas, apenas.

### IMPORTANTE:

- Através da expansão clonal, surgem clones que apresentam as mesmas especificidades da célula original - são específicas para o mesmo epítipo do patógeno.
  - Ou seja, as células-clones são iguais às células originais, diferenciando-se apenas por serem clones.

Caso haja o 1º sinal, mas não haja o 2º sinal, pode ocorrer 2 situações:

### Tolerância Periférica:

Ocorre quando um macrófago, por exemplo, apresenta um antígeno próprio para o TCR, que o reconheceu sem dever. Porém, como não há infecção, o macrófago está inativo e o CD28 não se ligará a nada, fazendo com que a célula entre em ANERGIA.

Quando há infecção em curso, existe a possibilidade da captação do PAMP ou do antígeno próprio pelo macrófago, que se torna ativado. Nesse caso, ele apresenta o antígeno próprio no MHC, que é reconhecido e, por estar ativado, desencadeia o 2º sinal.

↳ Pode desencadear uma doença autoimune de acordo com o 3º sinal.

### 3º SINAL

Nesse sinal, ocorre a secreção de citocinas, que dependem dos PAMPs e dos PRRs. Dessa forma, dependendo do PRR que for ativado pela interação com PAMPs, a célula dendrítica irá produzir e secretar determinadas citocinas.

↳ A sinapse imunológica pode levar 12h

Com isso, dependendo da citocina que for produzida, Th0 adotará um fenótipo. Se a citocina em questão for:

**IL-12:** O fenótipo diferenciado de Th0 será Th1, que produz e secreta IFN- $\gamma$  e IL-2. Th1 é responsável por patógenos intracelulares e também auxilia Th17.

**IL-4:** O fenótipo diferenciado de Th0 será Th2, que produz e secreta IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13. Th2 é responsável por parasitas extracelulares (helminthos) e respostas alérgicas.

**IL-1 + IL-6 + TGF- $\beta$  + IL-23:** O fenótipo diferenciado de Th0 será Th17, que produz e secreta IL-21, IL-17a, IL-17f, IL-22, TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Th17 é responsável pelo combate de fungos, bactérias extracelulares e se caracteriza como o fenótipo mais relacionado à imunidade.

**TGF- $\beta$  + IL-10:** O fenótipo diferenciado de Th0 será iTreg, que produz e secreta TGF- $\beta$  e IL-10. iTreg é responsável pela imunotolerância, homeostasia de mucosa e regulação da resposta imune celular crônica (Th17)

**IL-10:** O fenótipo diferenciado de Th0 será Tr-1, que produz e secreta IL-10. Tr-1 está relacionado à regulação da resposta imune celular de Th1.

**IL-21 + IL-6:** O fenótipo diferenciado de Th0 será Tfh, que produz e secreta IL-21. Tfh é responsável pela indução da troca de cadeia pesada dos linfócitos B-2 foliculares, consequentemente induzindo o Linfócito B a produzir determinada citocina.

**OBS.:** Existem, além dos anteriores, dois outros fenótipos: Th22 e Th9

Todas as citocinas secretadas circuladas em vermelho acima são chamadas de "citocinas de assinatura" do fenótipo que a secreta.

### IMPORTANTE:

- Após a devida ativação e diferenciação das células efetoras, elas irão deixar o linfonodo em direção ao sítio de infecção. Logo após, elas acessam os tecidos através do mecanismo de diapedese, saindo da corrente sanguínea.

# Ativação e diferenciação dos Linfócitos T CD4+ e T CD8+

## T CD8+ VIRGENS

Ainda levando em consideração as células dendríticas como principais ativadoras de Linfócitos T e uma APC proiissional, são necessários alguns sinais para que as células T CD8+ virgens sejam ativadas.

### 1º SINAL

Nesse sinal, ocorre a interação entre o peptídeo-MHC I com o TCR. Com isso, o TCR reconhece o antígeno e se conecta ao MHC I. Esse mecanismo serve para identificar se o TCR é específico para o antígeno que está sendo apresentado pelo MHC de classe I.

Obs.: Tal como descrito anteriormente, é importante compreender o TCR como um complexo, em que as moléculas CD3 farão a sinalização intracelular e o co-receptor CD8 irá se ligar ao α3 do MHC I.

### 2º SINAL

Nesse sinal, com APC ativada, ocorre a interação entre moléculas coestimuladoras:

- CD28: molécula constitutiva da célula T
- B7.1 /CD80 e B7.2/CD86: moléculas da APC

### 1º + 2º SINAL = ...?

Esses dois sinais culminam na expansão clonal mediada por IL-2. Essa citocina é secretada pela APC e é tanto secretada quanto captada pelas T CD8+ virgens. Desse modo, IL-2 desenvolve uma função autócrina.

IL-2 viabiliza a criação de diversos clones – iguais à célula original – por mitose que serão separados em 2 subtipos:

- Células T CD8+ de memória efetora
  - Células T CD8+ de memória central
- Como já é uma célula diferenciada, só é necessário o 1º sinal para que se inicie o combate à célula infectada.
- Maioria!

**LEMBRE-SE QUE:** Nesse momento as células ainda não estão diferenciadas.

### CABE RESSALTAR QUE:

- A quantidade de IL-2 que é produzida por T CD8+ nesse momento é baixa, então a IL-2 produzida por T CD4+ auxilia na expansão clonal de T CD8+
  - Isso ocorre porque a célula dendrítica apresenta maior superfície de contato e consegue estabelecer uma "comunicação" entre várias células ao mesmo tempo

### 3º SINAL

Ocorre a secreção de citocinas, que – como explicado anteriormente – dependem dos PAMPs e dos PRRs. Com isso, dependendo da citocina que for produzida, T CD8+ virgem adotará um fenótipo. Se a citocina em questão for:

- **IL-2:** O fenótipo diferenciado de T CD8+ será [CTL/Tc1], que produz e secreta TNF-α e IFN-γ. Ela é responsável pela imunidade intracelular;
  - **IL-4:** O fenótipo diferenciado de T CD8+ será Tc2, que produz e secreta IL-5 e IL-13. Ela irá auxiliar Th2;
  - **TGF-β + IL-6:** O fenótipo diferenciado de T CD8+ será Tc17, que produz e secreta IL-17 e IL-21. Ela irá auxiliar Th17;
  - **TGF-β + IL-4:** O fenótipo diferenciado de T CD8+ será Tc9, que produz e secreta IL-9. Ela irá auxiliar Th9;
  - **TGF-β:** O fenótipo diferenciado de T CD8+ será Treg, que irá regular os fenótipos de T CD8+.
- Possuem alta toxicidade e, desse modo, elas objetivam o combate direto ao patógeno, não a síntese e secreção de citocinas
- Possuem baixa toxicidade e, desse modo, elas atuam na síntese e secreção de citocinas

- Após a devida ativação e diferenciação das células efetoras, elas irão deixar o linfonodo em direção ao sítio de infecção. Logo após, elas acessam os tecidos através do mecanismo de diapedese, saindo da corrente sanguínea.

### CTL

A célula T citotóxica (CTL) possui células de adesão e se liga a cada célula a fim de verificar e identificar uma possível infecção. A célula em questão liga seu TCR ao MHC e, caso esse último esteja apresentando o antígeno específico, a CTL irá combatê-la.

Como já é uma célula diferenciada, só é necessário o 1º sinal para que se inicie o combate à célula infectada.

A CTL produz e secreta TNF-α e IFN-γ, além de possuir grânulos que possuem a enzima perfurina – capaz de perfurar a membrana da célula, criando poros que irão desequilibrar a homeostasia celular. Além disso, por esses poros entram as granzimas liberadas pela CTL, que desencadearão reações que induzirão a célula e – consequentemente – o patógeno à apoptose. Após isso, ela permanece se ligando a outras células a fim de identificar outras infecções celulares.

## RESPOSTA TH1

Th1 corresponde à Resposta Imune Celular Clássica, tendo como citocina para diferenciação a IL-12, secretando IFN-γ e IL-2.

- Th1 apresenta uma resposta ligada a macrófagos por ser capaz de ativá-los mediante liberação de IFN-γ ou pela sinapse imunológica que é realizada pelas moléculas CD40 – do macrófago – e CD40L do Th1.
- Ela também é capaz de aumentar o potencial microbicida dos macrófagos – que produzem citocinas inflamatórias (Ex.: tríade inflamatória, IL-12, IL-8, IFN tipo 1)
- É capaz de ativar indiretamente as células NK devido às citocinas secretadas pelos macrófagos ativados por Th1 (IL-15, IL-12 e IFN tipo 1).
  - Células NK possuem perfurinas e granzimas, produzindo IFN-γ (que ativará mais macrófagos)

**OBS.:** Quando o fenótipo diferenciado é Th1, a Tfh ativa células B com troca de classe da cadeia pesada da IgM para IgG1 e IgG3. Para isso, ela liga sua molécula CD40L com a CD40 da célula B, o que acarretará na secreção de IL-21, importante para a troca de classe.

## RESPOSTA TH2

Th2 corresponde à Resposta Imune Humoral Clássica, tendo como citocina para diferenciação a IL-4, secretando IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13.

- Th2 apresenta uma resposta ligada a eosinófilos e mastócitos por ser capaz de ativá-los mediante liberação de citocinas.
  - IL-5 ativa eosinófilos
  - IL-6 e IgE ativam mastócitos

**OBS.:** Quando o fenótipo diferenciado é Th2, a Tfh ativa células B com troca de classe da cadeia pesada da IgM para IgE. Para isso, ela liga sua molécula CD40L com a CD40 da célula B, o que acarretará na secreção de IL-21, importante para a troca de classe.

## RESPOSTA TH17

Inicialmente, T CD4+ capta IL-6, IL-1 e TGF-β e produz IL-21, que agirá na célula, fazendo com que ela se diferencie em Th17. No entanto, é necessário que se entenda que o fenótipo Th17 é instável. Para se estabilizar como Th17, ele necessita de IL-23, que é produzida e secretada pela célula dendrítica. Antes desse momento – em que IL-21 está exercendo função autócrina para se diferenciar em Th17 – o fenótipo ainda pode regredir, devido a sua instabilidade.

- Th17 produz diversas citocinas, auxiliando a ampliação de CD8+ e recebe auxílio de Tc-17
- Th17 combate bactérias extracelulares e fungos, estando relacionadas à autoimunidade
- Th17 apresenta uma resposta ligada a neutrófilos por ser capaz de induzir as células da imunidade inata – junto às células parenquimais – a produzir e secretar IL-8,
  - Tal ação leva ao recrutamento de neutrófilos por quimiotaxia para a área de contato com o patógeno.

**OBS.:** Quando o fenótipo diferenciado é Th17, a Tfh ativa células B com troca de classe da cadeia pesada da IgM para IgG1, IgG2 e IgA. Para isso, ela liga sua molécula CD40L com a CD40 da célula B, o que acarretará na secreção de IL-21, importante para a troca de classe.

- Ressalta-se que IgA está relacionada à proteção de mucosas

## FUNÇÕES REGULADORAS

Além dos fenótipos reguladores, existe uma função reguladora nas efetoras também, pois algumas citocinas inibem determinados fenótipos.

- Th1, por exemplo, é capaz de inibir Th2 e Th17
- Th2, por sua vez, é capaz de inibir Th1 e Th17
- Treg e iTreg são capazes de bloquear Th1, Th2 e Th17
- Tr-1 é capaz de bloquear Th1

Isso serve para que não ocorra uma resposta extremamente intensa e que seja prejudicial ao organismo.

## MEMÓRIA IMUNOLÓGICA DOS LINFÓCITOS T

### MEMÓRIA EFETORA

- Os linfócitos T de memória efetora apresentam atividade efetora e, em seguida, entram em apoptose
- Sua durabilidade é pequena, alcançando de semanas a poucos meses após a eliminação patogênica
- Quando são ativadas por antígenos, são capazes de secretar citocinas do fenótipo o qual a célula foi diferenciada de modo rápido
- Elas se multiplicam pouco e apresentam maior susceptibilidade à apoptose, pois sintetizam e apresentam menor resposta à IL-2.
  - AICD – morte celular induzida por ativação

### MEMÓRIA CENTRAL

- Os linfócitos T de memória central se mantêm armazenados no linfonodo até que uma segunda resposta seja necessária.
- Sua durabilidade é alta, podendo permanecer no organismo anos após a eliminação do patógeno
- Quando são ativadas por antígenos, são capazes de secretar citocinas do fenótipo o qual a célula foi diferenciada de modo rápido
- Elas se multiplicam bastante e apresentam maior resistência à apoptose, pois sintetizam e apresentam maior resposta à IL-2 quando reestimuladas.
- Apresentam proliferação basal e manutenção de sobrevivência com o suporte de IL-7 e IL-15
- Ela utilizará outras vias de coestimulação, invés de CD28