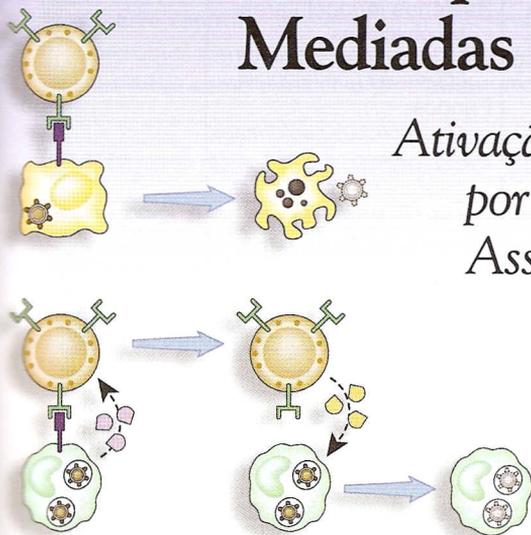


Respostas Imunes Mediadas por Células

Ativação de Linfócitos T por Microorganismos Associados a Células



A imunidade mediada por células é o braço da resposta imune adaptativa cujo papel é combater as infecções causadas por microorganismos intracelulares. Esse tipo de imunidade é mediada por linfócitos T. Dois tipos de infecção podem levar os micróbios a encontrar um refúgio no interior das células, de onde têm de ser eliminados por meio das respostas imunes mediadas por células (Fig. 5-1). No primeiro tipo, os micróbios são englobados por fagócitos como parte dos mecanismos de defesa iniciais da imunidade inata, mas alguns desses micróbios desenvolveram uma resistência às atividades microbicidas dos fagócitos. Muitas bactérias e protozoários intracelulares patogênicos são capazes de sobreviver, e até de duplicar-se, no interior das vesículas dos fagócitos. Alguns desses micróbios fagocitados podem penetrar no citoplasma das células infectadas e multiplicar-se nesse compartimento, utilizando os nutrientes das células infectadas. Os micróbios citoplasmáticos estão protegidos dos mecanismos microbicidas, pois esses mecanismos estão confinados aos compartimentos vesiculares (onde não podem lesar as células do hospedeiro). No segundo tipo, os vírus podem se

Etapas das Respostas das Células T

Reconhecimento de um Antígeno e Co-estimulação

- Reconhecimento dos Peptídios Associados ao MHC
- Papel das Moléculas de Adesão na Ativação das Células T
- Papel da Co-estimulação na Ativação das Células T

Respostas dos Linfócitos T aos Antígenos e à Co-estimulação

- Secreção de Citocinas e Expressão dos Receptores para Citocinas
- Expansão Clonal
- Diferenciação de Células T Virgens em Células Efetoras
- Desenvolvimento de Linfócitos T de Memória
- Declínio da Resposta Imune

Vias Bioquímicas da Ativação das Células T

Resumo

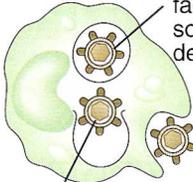
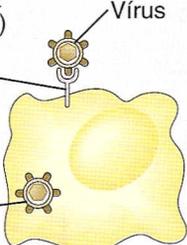
Microorganismos intracelulares	Exemplos
<p>A Fagócito</p>  <p>Microorganismos fagocitados que sobrevivem dentro de fagolisossomos</p> <p>Microorganismos que escapam dos fagolisossomos passando para o citoplasma</p>	<p>Bactérias intracelulares: <i>Micobactérias</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Legionella pneumophila</i></p> <p>Fungos: <i>Cryptococcus neoformans</i></p> <p>Protozoários: <i>Leishmania</i> <i>Trypanosoma cruzi</i></p>
<p>B Célula não-fagocitária (p. ex., célula epitelial)</p>  <p>Vírus</p> <p>Receptor celular para vírus</p> <p>Microorganismos que infectam células não-fagocitárias</p>	<p>Vírus: Todos</p> <p>Riquétsias: Todas</p> <p>Protozoários: <i>Plasmodium falciparum</i> <i>Cryptosporidium parvum</i></p>

Figura 5-1 Tipos de microorganismos intracelulares combatidos pela imunidade mediada pelas células T. A. Os microorganismos podem ser englobados por fagócitos e sobreviver dentro de vesículas (fagolisossomos) ou escapar para o citoplasma onde não são suscetíveis aos mecanismos microbicidas dos fagócitos. B. Os vírus podem se ligar a receptores presentes na superfície de muitos tipos de células, inclusive de células não-fagocitárias, e duplicar-se no citoplasma das células infectadas. Alguns vírus causam infecções latentes, nas quais proteínas virais são produzidas no interior das células infectadas (não exibidos).

ligar a receptores situados na superfície de uma grande variedade de células e são capazes de infectar o citoplasma dessas células e nele se duplicar. Essas células com frequência não possuem mecanismos intrínsecos para destruir os vírus. Alguns vírus causam infecções latentes, nas quais o DNA viral é integrado ao genoma do hospedeiro, e proteínas virais, mas não partículas virais infecciosas, são produzidas no interior das células infectadas. A eliminação dos micróbios capazes de viver em vesículas fagocitárias ou no citoplasma das células infectadas é a principal função dos linfócitos T na imunidade adaptativa. Os linfócitos T auxiliares CD4⁺ também auxiliam as células B a produzir anticorpos. Uma característica comum de todas essas reações é que, para realizar as suas funções, os linfócitos T precisam interagir com outras células, as quais podem ser fagócitos, células do hospedeiro infectadas ou linfócitos B. Lembre-se de que a especificidade das células T em relação aos peptídeos exibidos pelas moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) assegura que as células T sejam capazes apenas de identificar antígenos associados a outras células e de responder a eles (Caps. 3 e 4). Este capítulo discute de que maneira o reconhecimento dos antígenos associados a células e outros estímulos ativam os linfócitos T. As seguintes questões são abordadas:

- Que sinais são necessários para ativar os linfócitos T? Que receptores celulares são utilizados para captar esses sinais e responder a eles?
- Como um pequeno número de células T virgens específicas para qualquer micróbion é convertido em um grande número de células T efetoras dotadas da capacidade de eliminar o micróbion?

- Que moléculas são produzidas pelos linfócitos T que medeiam suas comunicações com outras células, como macrófagos e linfócitos B?

Este capítulo apresenta uma descrição de como as células T reconhecem os antígenos de micróbios associados a células e respondem a eles. E, no Capítulo 6, é apresentada uma discussão sobre como essas células T eliminam esses micróbios.

Etapas das Respostas das Células T

As respostas dos linfócitos T aos antígenos microbianos associados à célula consistem em uma série de etapas seqüenciais que resultam no aumento do número de células T específicas para antígeno e na conversão de células T virgens em células efetoras (Fig. 5-2). Como discutimos em capítulos anteriores, os linfócitos T virgens recirculam constantemente através dos órgãos linfóides periféricos em busca de antígenos protéicos estranhos. As células T virgens expressam receptores para antígenos e outras moléculas que constituem um mecanismo de reconhecimento de antígenos, porém os linfócitos virgens são incapazes de realizar as funções efetoras necessárias para a eliminação dos microorganismos. Para realizar essas funções, as

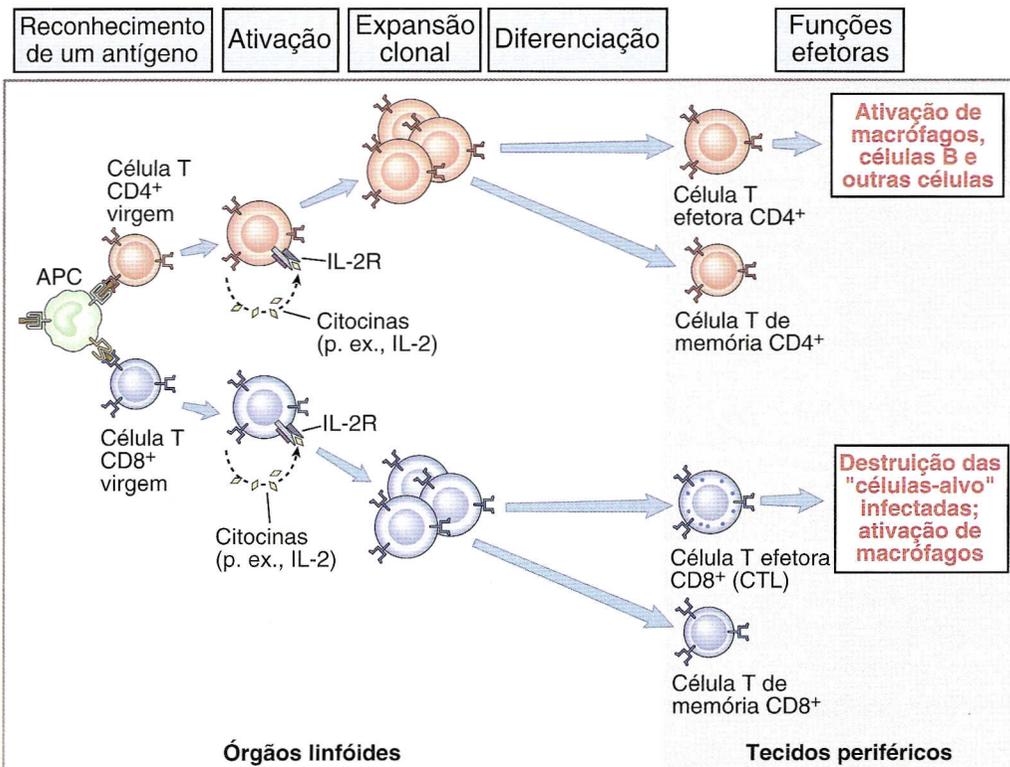


Figura 5-2 Etapas da ativação dos linfócitos T. As células T virgens reconhecem os antígenos peptídicos associados ao MHC exibidos na superfície das APCs e também outros sinais (não exibidos). As células T respondem com a produção de citocinas, como a IL-2, e a expressão de receptores para essas citocinas, criando, assim, uma via autócrina de proliferação celular. Como consequência, ocorre uma expansão clonal de células T. Parte da progênie diferencia-se em células efetoras, que servem a várias funções da imunidade mediada por células, e em células de memória, que sobrevivem por longos períodos de tempo. (As funções efetoras dos linfócitos T serão descritas no Cap. 6.)

células T virgens precisam ser estimuladas a se diferenciar em células efectoras, e esse processo é iniciado pelo reconhecimento de um antígeno. Os antígenos protéicos dos microorganismos são transportados dos portais de entrada dos microorganismos para os mesmos órgãos linfóides periféricos onde residem as células T. Nesses órgãos, os antígenos são processados e exibidos pelas moléculas do MHC situadas na superfície das células apresentadoras de antígenos (APCs) profissionais (Cap. 3). Assim, os linfócitos T virgens encontram pela primeira vez os antígenos protéicos nos órgãos linfóides periféricos. Ao mesmo tempo em que as células T estão identificando um antígeno, elas recebem sinais adicionais provenientes dos microorganismos ou de reações imunológicas inatas aos microorganismos.

Em resposta a essa combinação de estímulos, as células T específicas para antígeno começam a secretar proteínas denominadas **citocinas**, que desempenham várias funções na imunidade mediada por células. Essas funções serão descritas mais adiante neste capítulo. Algumas citocinas, atuando juntamente com o antígeno e os sinais secundários provenientes dos microorganismos, estimulam a proliferação de células T específicas para antígeno. O resultado dessa proliferação é um rápido aumento do número de linfócitos específicos para antígeno, um processo denominado **expansão clonal**. Uma parte desses linfócitos ativados sofre um processo de **diferenciação**, que resulta na conversão de células T virgens, cuja função é reconhecer os antígenos microbianos em uma população de células T efectoras, cuja função é eliminar os microorganismos. Algumas células T efectoras podem permanecer no linfonodo, eliminando as células infectadas presentes no órgão ou fornecendo sinais para as células B que promovem as respostas humorais contra os microorganismos. Algumas células T efectoras deixam os órgãos linfóides de onde surgiram por meio da diferenciação de células T virgens, penetram na circulação e migram para qualquer local de infecção, onde são capazes de erradicar a infecção (Cap. 6). Outra progênie das células T que proliferaram em resposta ao antígeno se desenvolve em **células T de memória**, as quais têm vida longa, são funcionalmente inativas e circulam durante meses ou anos prontas para responder com rapidez a repetidas exposições ao mesmo microorganismo. Quando as células T efectoras eliminam o agente infeccioso, os estímulos que desencadearam a expansão e a diferenciação das células T também são eliminados. Como conseqüência, o clone grandemente expandido de linfócitos específicos para antígeno morre, e, desse modo, o sistema retorna a seu estado basal de repouso. Essa seqüência de eventos ocorre tanto com os linfócitos T CD4⁺ quanto com os linfócitos T CD8⁺, embora, como será visto mais adiante, existam diferenças importantes entre as propriedades e as funções causadoras dessas duas populações de células T.

Com base no que foi exposto, procederemos a uma descrição de cada uma das etapas das respostas das células T. O processo de ativação dos linfócitos T também envolve sinais bioquímicos que são gerados pelo reconhecimento de um antígeno e são transformados em respostas biológicas dos linfócitos. Este capítulo termina com uma breve discussão sobre a bioquímica da ativação dos linfócitos T.

Reconhecimento de um Antígeno e Co-estimulação

Para que as respostas das células T se iniciem, é preciso que vários receptores localizados na superfície dessas células reconheçam os ligantes situados na superfície das APCs: o TCR reconhece os antígenos peptídicos associados ao MHC, o co-receptor CD4 ou o CD8 reconhece as moléculas do MHC, as moléculas de adesão reforçam a ligação das células T com as APCs, e os receptores para os co-estimuladores reconhecem os sinais secundários produzidos pelas APCs (Fig. 5-3). Além dos receptores para antígenos, há outras moléculas envolvidas nas respostas das células T aos antígenos, as quais são com freqüência chamadas de **moléculas**

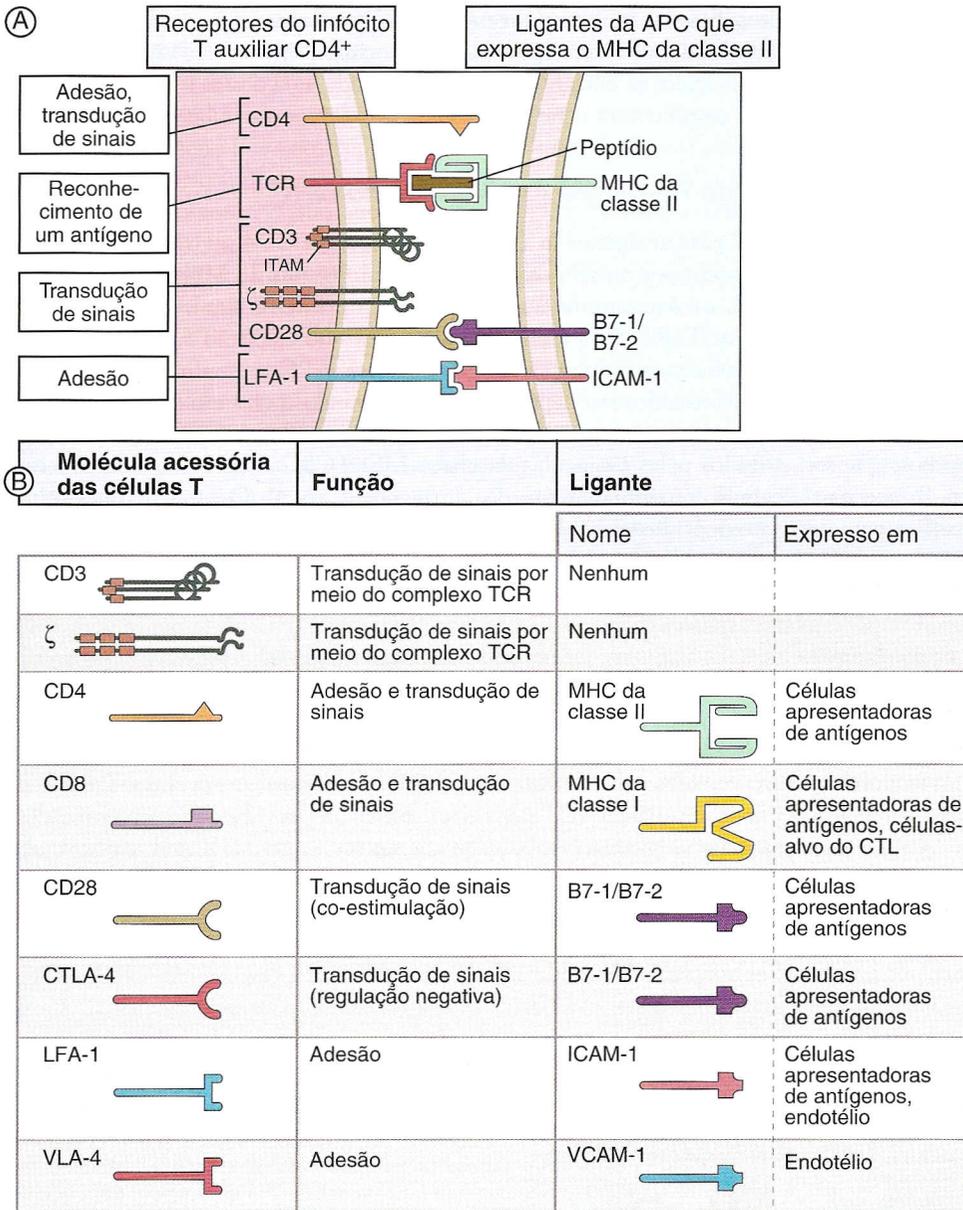


Figura 5-3 Pares ligante-receptor envolvidos na ativação das células T. A. A ilustração mostra as principais moléculas de superfície (os receptores) das células T CD4⁺ envolvidas na ativação dessas células e as moléculas (os ligantes) presentes na superfície das APCs que são reconhecidas por esses receptores. As células T CD8⁺ utilizam quase as mesmas moléculas. A diferença é que o TCR reconhece os complexos peptídeo-MHC da classe I e o co-receptor é a molécula CD8, que reconhece a classe I. Os motivos de ativação de imunorreceptores via tirosina (ITAMs) são as regiões das proteínas de sinalização cujos resíduos de tirosina são fosforilados, tornando-as locais de ancoragem para outras moléculas sinalizadoras (Fig. 5-14). A CD3 é composta de três cadeias polipeptídicas. B. Resumo das propriedades mais importantes das principais moléculas "acessórias" das células T, que são assim chamadas porque participam das respostas ao antígeno, mas não são receptores para antígenos. A CTLA-4 (CD152) é um receptor de células T para moléculas B7 que libera sinais inibitórios; seu papel na interrupção das respostas das células T será descrito no Capítulo 9. As moléculas VLA são integrinas envolvidas na ligação dos leucócitos ao endotélio (Fig. 6-2, Cap. 6).

acessórias dos linfócitos T. Essas moléculas acessórias não variam em função do tipo de célula T. Suas funções são divididas em três categorias: reconhecimento, sinalização e adesão. Moléculas acessórias diferentes unem-se a ligantes diferentes, e cada uma dessas interações desempenha um papel distinto e complementar no processo de ativação das células T.

Reconhecimento dos Peptídeos Associados ao MHC

O receptor das células T para antígenos (o TCR) e o co-receptor CD4 ou o CD8 reconhecem, juntos, o complexo formado por antígenos peptídicos e moléculas do MHC que se encontra na superfície das APCs, e esse reconhecimento produz o primeiro sinal, ou o sinal inicial, para a ativação das células T (Fig. 5-4). Conforme discutimos no Capítulo 3, quando antígenos protéicos presentes no meio extracelular são englobados por APCs e confinados em vesículas citoplasmáticas, são transformados em peptídeos que são exibidos pelas moléculas do MHC da classe II. Por sua vez, os antígenos protéicos presentes no citoplasma são transformados em peptídeos, que são exibidos pelas moléculas da classe I. O TCR consiste em uma cadeia α e outra β , que participam do reconhecimento dos antígenos (Cap. 4). O TCR de uma célula T específica para antígeno peptídico reconhece o peptídeo exibido e simultaneamente reconhece os resíduos da molécula do MHC localizados ao redor da fenda de ligação do peptídeo. Cada célula T restrita ao MHC que atingiu a fase madura expressa a molécula CD4 ou a CD8, que são denominadas co-receptores porque se ligam à molécula do MHC juntamente com o TCR. Ao mesmo tempo que o TCR está reconhecendo o complexo peptídeo-MHC, a CD4 reconhece a molécula do MHC da classe II ou a CD8 reconhece a molécula da classe I, em um local afastado da fenda de ligação do peptídeo. Assim, as células T CD4⁺, que agem como células auxiliares produtoras de citocinas, reconhecem os antígenos microbianos extracelulares que foram englobados e são exibidos pelas moléculas do MHC da classe II, e as células T CD8⁺, que atuam como linfócitos T citolíticos (CTLs), reconhecem os peptídeos provenientes de microorganismos citoplasmáticos que são exibidos pelas moléculas do MHC da classe I. A especificidade da CD4 e da CD8 pelas diferentes classes de moléculas do MHC e as distintas vias de processamento dos antígenos vesiculares e citosólicos asseguram que as células T “corretas” respondam a diferentes microorganismos (Fig. 3-15, Cap. 3). Dois ou mais TCRs e co-receptores precisam ser acoplados de modo simultâneo para que a resposta das células T tenha

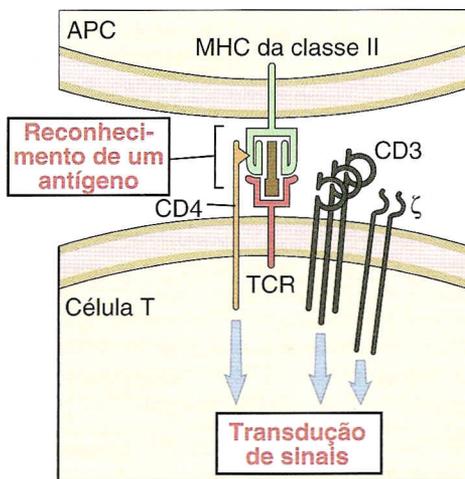


Figura 5-4 Reconhecimento do antígeno e transdução de sinais durante a ativação das células T. Diferentes moléculas da célula T reconhecem um antígeno e, como consequência desse reconhecimento, liberam sinais para o interior da célula. Note que é preciso que dois ou mais TCRs se acoplem para que os sinais tenham início, mas, para simplificar o esquema, apenas um único TCR está sendo mostrado. As proteínas CD3 e ζ ligam-se de modo não-covalente às cadeias α e β do TCR, e esta ligação ocorre por meio de interações entre aminoácidos carregados presentes nos domínios transmembranas dessas proteínas (não mostrados). A figura ilustra uma célula T CD4⁺; essas mesmas interações estão presentes na ativação das células T CD8⁺. A diferença é que o co-receptor é a CD8 e o TCR reconhece um complexo peptídeo-MHC da classe I.

início, pois somente quando vários TCRs e co-receptores são agrupados, as cascatas apropriadas de sinalização bioquímica podem ser ativadas (isso será discutido mais adiante neste capítulo). Portanto, uma célula T é capaz de responder apenas quando encontra um conjunto de complexos peptídeo-MHC na superfície de uma APC. Além disso, cada célula T precisa se acoplar a um antígeno (*i. e.*, aos peptídeos associados ao MHC) por um período de tempo longo, no mínimo por vários minutos, ou diversas vezes para gerar sinais bioquímicos suficientes para dar início a uma resposta. Assim que essas condições tenham sido satisfeitas, a célula T começa seu programa de ativação.

Os sinais bioquímicos que levam à ativação das células T são desencadeados por um conjunto de proteínas que se liga ao TCR para formar o complexo TCR e também pelo co-receptor CD4 ou CD8 (Fig. 5-4). Células T diferentes precisam apresentar receptores bastante variados para antígenos para poder reconhecer diversos antígenos e outras moléculas não necessariamente variadas que atuam na sinalização conservada. Nos linfócitos, esses dois tipos de função, o reconhecimento de um antígeno e a sinalização, são desempenhados por diferentes grupos de moléculas. O TCR reconhece os antígenos, mas não é capaz de transmitir sinais bioquímicos para o interior da célula. O TCR está associado de modo não-covalente a um complexo de três proteínas que forma a CD3 e a um homodímero de outra proteína sinalizadora denominado cadeia ζ . O TCR, a CD3 e a cadeia ζ constituem o complexo TCR. No complexo TCR, o reconhecimento de um antígeno é feito pelas cadeias variáveis α e β do TCR, enquanto a sinalização conservada é realizada pelas proteínas CD3 e ζ fixas. Os mecanismos da transdução de sinais pelas proteínas do complexo TCR serão discutidos mais adiante neste capítulo.

Uma pequena subpopulação de células T expressa TCRs formados pelas cadeias γ e δ , que são estruturalmente similares às cadeias α e β dos TCRs presentes na maioria das células T. As células T $\gamma\delta$ são encontradas com freqüência nas superfícies epiteliais, e acredita-se que defendam o hospedeiro contra patógenos em geral presentes nos epitélios. A maioria das células T $\gamma\delta$ não reconhece os peptídeos associados ao MHC; em vez disso, elas reconhecem lipídios e outras moléculas que podem ser comuns a muitos microorganismos.

As células T também podem ser ativadas por moléculas que se ligam aos TCRs de muitos ou de todos os clones de células T, independentemente da especificidade do TCR ao complexo peptídeo-MHC. Esses ativadores policlonais de células T incluem anticorpos específicos para o TCR ou para as proteínas CD3 associadas, proteínas poliméricas que se ligam a carboidratos, como a fitoemaglutinina, e certas proteínas microbianas denominadas superantígenos. Os ativadores policlonais são freqüentemente utilizados como ferramentas experimentais no estudo das respostas decorrentes da ativação das células T e, no contexto clínico, são empregados no exame da função das células T e no preparo de esfregaços de células em metáfase para análise cromossômica. Os superantígenos microbianos podem causar doenças graves por meio da ativação e da liberação excessiva de citocinas de muitas células T.

Papel das Moléculas de Adesão na Ativação das Células T

As moléculas de adesão localizadas na superfície das células T reconhecem seus ligantes na superfície das APCs e estabilizam a ligação das células T com as APCs. A maioria dos TCRs liga-se com baixa afinidade aos complexos peptídeo-MHC para os quais são específicos. Uma possível razão para esse fraco reconhecimento consiste no fato de que, durante sua maturação, as células T são selecionadas de modo positivo pelo fraco reconhecimento de auto-antígenos, e sua capacidade para reconhecer peptídeos microbianos estranhos é casual e não predeterminada (Cap. 4). (Lembre-se de que esse tipo de seleção é inevitável, uma vez que o timo, onde as células T amadurecem, provavelmente não consegue conter todo o universo de peptídeos

microbianos, e que os antígenos encontrados pelas células T em amadurecimento no interior desse órgão são auto-antígenos.) Portanto, não é surpreendente que as células T reconheçam de maneira fraca os antígenos estranhos. Para induzir uma resposta eficaz, a ligação das células T com as APCs precisa permanecer estável durante um período de tempo suficientemente longo para que o limiar de sinalização necessário seja alcançado. Essa estabilização é realizada pelas moléculas de adesão situadas na superfície das células T cujos ligantes estão expressos na superfície das APCs. A molécula de adesão mais importante pertence à família das proteínas heterodiméricas (duas cadeias) denominadas **integrinas**. A principal integrina das células T envolvida na ligação dessas células com as APCs é o antígeno-1 associado à função dos leucócitos (LFA-1), cujo ligante na superfície das APCs é chamado de molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1).

As integrinas desempenham um papel importante na intensificação das respostas das células T a antígenos microbianos de duas maneiras (Fig. 5-5). Nas células T virgens em repouso, que ainda não reconheceram um antígeno nem foram ativadas por ele, a integrina LFA-1 encontra-se em um estado de baixa afinidade. Quando uma célula T é exposta às quimiocinas produzidas como parte da resposta imune inata a uma infecção, as moléculas da LFA-1 dessa célula T passam para um estado de alta afinidade e agrupam-se em minutos. Como consequência, as células T ligam-se fortemente às APCs nos locais de infecção. O reconhecimento de um antígeno por uma célula T também aumenta a afinidade da LFA-1 dessa célula. Portanto, assim que uma célula T detecta um antígeno, há um aumento na força da sua ligação com a APC que está apresentando o antígeno, o que produz uma alça de *feedback* positivo. Assim, a adesão mediada pelas integrinas é crucial para a capacidade das células T de se ligar às APCs que estão exibindo antígenos microbianos.

As integrinas também desempenham um papel importante no controle da migração das células T efetoras da circulação para os locais onde há infecção. Esse processo será discutido no Capítulo 6.

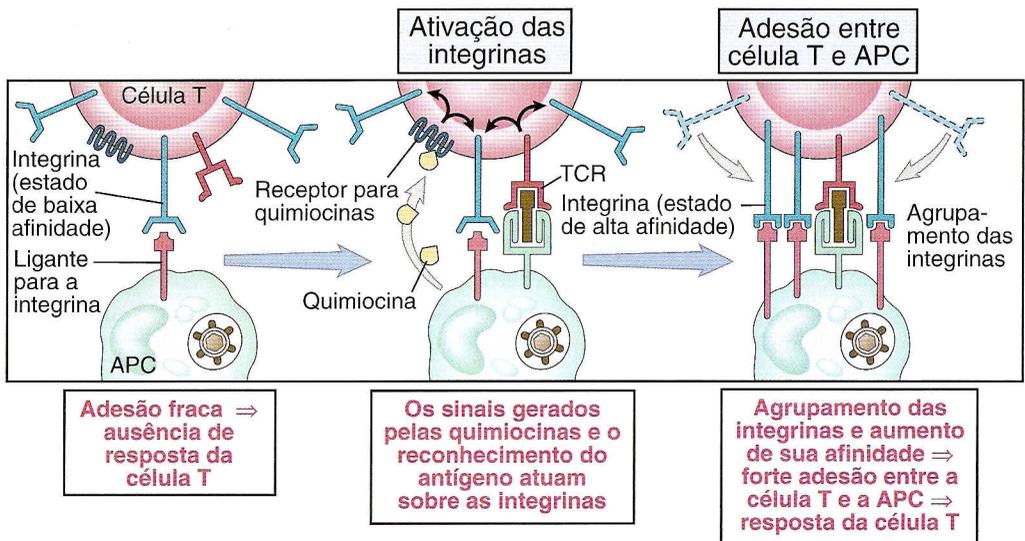


Figura 5-5 Regulação da afinidade das integrinas. Nas células T em repouso, as integrinas encontram-se em um estado de baixa afinidade. As quimiocinas produzidas pelas APCs e os sinais induzidos pelo TCR quando este reconhece um antígeno atuam sobre as integrinas, provocando o seu agrupamento e mudanças conformacionais que aumentam a afinidade das integrinas por seus ligantes. Como consequência, as integrinas ligam-se com muita afinidade a seus ligantes presentes na superfície das APCs e promovem, dessa forma, a ativação das células T.

Papel da Co-estimulação na Ativação das Células T

A ativação total das células T depende do reconhecimento de co-estimuladores presentes na superfície das APCs (Fig. 5-6). Referimo-nos previamente aos co-estimuladores como “sinais secundários” para a ativação das células T (Caps. 2 e 3). O nome “co-estimulador” deriva do fato de que essas moléculas produzem estímulos para as células T, os quais agem em conjunto com a estimulação proveniente do antígeno. Os co-estimuladores de células T mais bem definidos são duas proteínas relacionadas, denominadas B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), que são expressas na superfície das APCs profissionais e cuja expressão se torna muito aumentada quando as APCs encontram microorganismos. Essas proteínas B7 são reconhecidas por um receptor chamado de CD28, que é expresso em praticamente todas as células T. Os sinais resultantes da ligação do CD28 presente na superfície das células T com a B7 localizada na superfície das APCs atuam em conjunto com os sinais gerados pela ligação do TCR e do co-receptor aos complexos peptídeo-MHC encontrados na superfície das mesmas APCs. A sinalização mediada pelo CD28 é essencial para o início das respostas das células T virgens; e, na ausência das interações CD28-B7, o acoplamento isolado do TCR é incapaz de ativar as células T e pode até levar a uma falta de resposta das células T de vida longa. (A importância desse tipo de falta de resposta

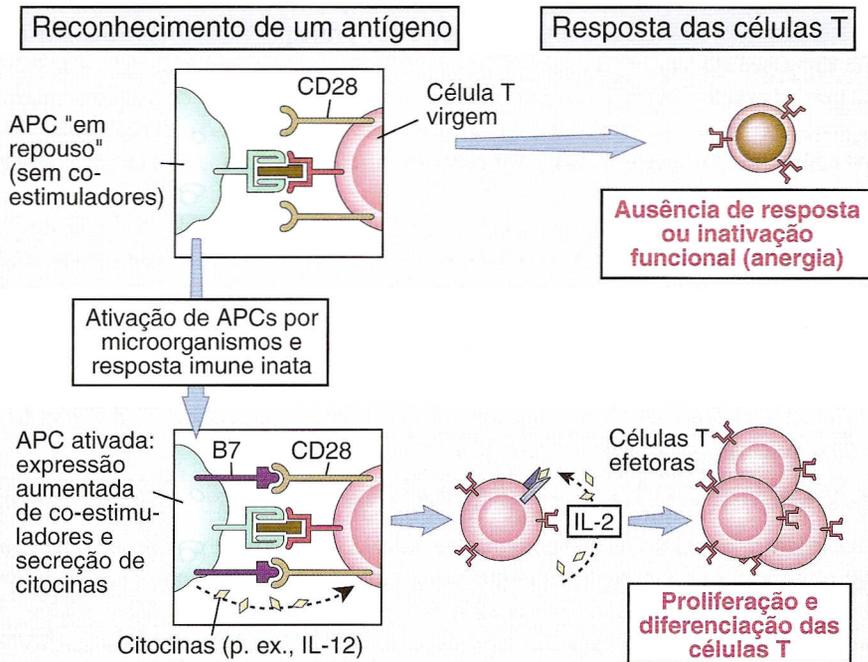


Figura 5-6 O papel da co-estimulação na ativação das células T. As APCs em repouso, que não foram expostas a microorganismos ou adjuvantes, podem apresentar antígenos peptídicos, mas não expressam co-estimuladores e são incapazes de ativar as células T virgens. As células T virgens que reconheceram um antígeno sem sofrer co-estimulação podem se tornar não-responsivas a uma subsequente exposição a um antígeno, mesmo se os co-estimuladores estiverem presentes, e esse estado de não-responsividade é denominado *anergia*. Os microorganismos e as citocinas produzidas durante as respostas imunes inatas a microorganismos induzem a expressão de co-estimuladores, como as moléculas B7, na superfície das APCs. Os co-estimuladores B7 são reconhecidos pelos receptores CD28 presentes na superfície das células T virgens, o que gera o “2º sinal”. O reconhecimento dos co-estimuladores, juntamente com o reconhecimento do antígeno (“1º sinal”), dá início às respostas das células T.

no bloqueio das reações imunes aos auto-antígenos será discutida no Cap. 9.) A necessidade de co-estimulação assegura que os linfócitos T virgens sejam totalmente ativados pelos antígenos microbianos, pois, conforme exposto, os microorganismos estimulam a expressão dos co-estimuladores B7 na superfície das APCs. As APCs expressam várias outras moléculas com estruturas semelhantes à B7-1 e à B7-2 e que também podem atuar como co-estimuladores ou como reguladores negativos das respostas das células T. Essas moléculas semelhantes às B7 podem ser particularmente importantes na ativação ou regulação das células T efetoras.

Um outro grupo de moléculas que participa do aumento dos sinais co-estimulatórios dirigidos para as células T consiste no ligante para a CD40 (CD154), presente na superfície das células T, e na CD40, localizada na superfície das APCs. Essas moléculas não intensificam de modo direto a ativação das células T. Em vez disso, o CD40L expresso na superfície de uma célula T estimulada por um antígeno liga-se à CD40 localizada na superfície das APCs ativando-as, e as APCs ativadas expressam mais co-estimuladores B7 e secretam citocinas, como a IL-12, que intensificam a diferenciação das células T. Assim, a interação CD40L-CD40 promove a ativação das células T ao incrementar a ação das APCs.

O papel da co-estimulação na ativação das células T explica uma antiga observação que mencionamos em capítulos anteriores. Os antígenos protéicos, como aqueles utilizados na forma de vacinas, não conseguem provocar respostas imunes dependentes de células T, a menos que sejam administrados juntamente com substâncias que ativam macrófagos e outras APCs. Essas substâncias são chamadas de **adjuvantes**, e sua principal função consiste em induzir a expressão de co-estimuladores na superfície das APCs e em estimular as APCs a secretarem citocinas que ativam as células T. A maioria dos adjuvantes é composta de produtos microbianos (p. ex., micobactérias que foram mortas) ou de substâncias que imitam os microorganismos. Dessa forma, os adjuvantes convertem antígenos protéicos inertes em imitadores de microorganismos patogênicos.

No momento não temos uma compreensão total da natureza e da biologia dos co-estimuladores, e ainda há muito por descobrir sobre a estrutura e as funções dessa família de proteínas. Esses temas possuem importância prática, pois a intensificação da expressão dos co-estimuladores pode ser útil na estimulação das respostas das células T (p. ex., contra tumores), e o bloqueio dos co-estimuladores pode ser um estratagema para inibir as respostas indesejadas. Atualmente, há ensaios clínicos em andamento que estudam agentes que bloqueiam as interações B7-CD28 e CD40-CD40L em indivíduos receptores de transplantes com o objetivo de reduzir ou impedir a rejeição dos enxertos (Cap. 10).

A ativação das células T CD8⁺ é estimulada pelo reconhecimento dos peptídeos associados ao MHC da classe I e requer co-estimulação e/ou células T auxiliares (Fig. 5-7). As células T CD8⁺ reconhecem os peptídeos que podem ser produzidos a partir de proteínas citoplasmáticas, como as proteínas virais, em qualquer célula nucleada. O desenvolvimento de CTLs CD8⁺ em algumas infecções virais requer a ativação concomitante de células T auxiliares CD4⁺. Acredita-se que, nessas infecções, as células infectadas são englobadas pelas APCs do hospedeiro, sobretudo pelas células dendríticas, e os antígenos virais são "apresentados de maneira cruzada" pelas APCs (Fig. 3-5, Cap. 3). A mesma APC pode apresentar os antígenos virais do citosol em complexos formados por moléculas do MHC da classe I e aqueles do interior de vesículas em complexos formados por moléculas do MHC da classe II. Assim, tanto as células T CD8⁺ quanto as células T CD4⁺ específicas para os antígenos virais são ativadas umas próximas às outras. As células T CD4⁺ podem produzir citocinas ou moléculas de membrana que auxiliam na ativação das células T CD8⁺; dessa forma, a expansão clonal das CD8⁺ e sua diferenciação em CTLs efetores e CTLs de memória podem depender da ajuda fornecida pelas células T CD4⁺. Esta é uma possível explicação para as respostas incompletas dos CTLs a muitos vírus

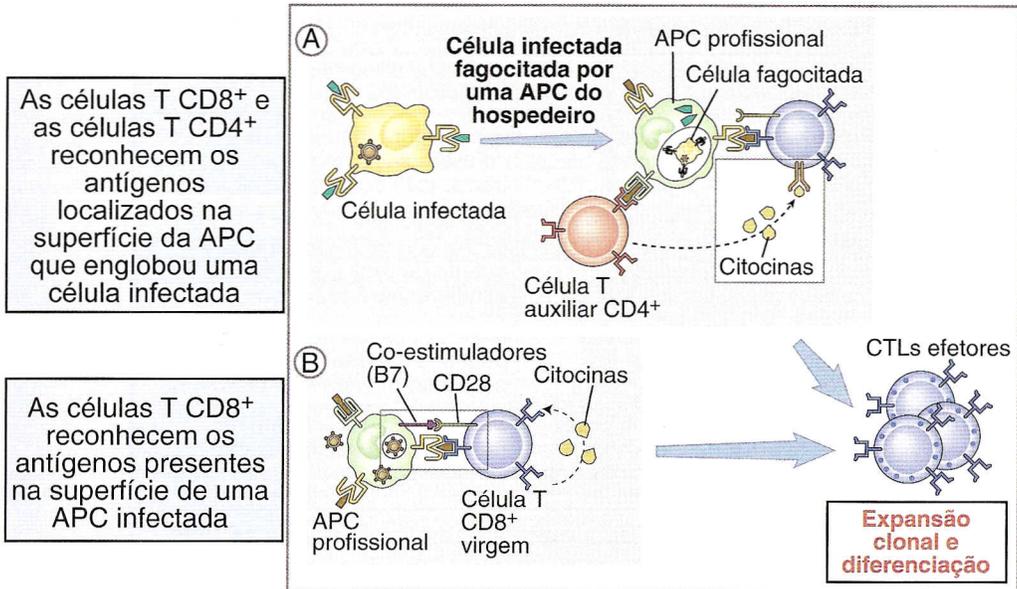


Figura 5-7 Ativação das células T CD8⁺. A. Em algumas infecções, as APCs podem englobar células infectadas e apresentar os antígenos microbianos para as células T CD8⁺ e células T auxiliares CD4⁺. Em seguida, as células T auxiliares produzem citocinas que estimulam a expansão e a diferenciação das células T CD8⁺. Acredita-se também que essas células auxiliares possam ativar as APCs tornando-as capazes de estimular as células T CD8⁺ (não exibidos). B. A célula T CD8⁺ reconhece os peptídeos associados ao MHC da classe I e recebe sinais co-estimulatórios quando a APC profissional abriga um microorganismo citoplasmático.

observadas em pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o qual mata as células T CD4⁺, mas não as células T CD8⁺. Por motivos desconhecidos, parece que os CTLs não precisam do auxílio das células T CD4⁺ para responder a alguns vírus.

Agora que os estímulos necessários para a ativação dos linfócitos T virgens foram descritos, o próximo tema a ser focado será a maneira pela qual as células T respondem a esses estímulos.

Respostas dos Linfócitos T aos Antígenos e à Co-estimulação

O reconhecimento de um antígeno e dos co-estimuladores pelas células T dá início a um conjunto orquestrado de respostas que culmina na expansão de clones de linfócitos específicos para antígeno e na diferenciação das células T virgens em células efetoras e células de memória (Fig. 5-2). Muitas das respostas das células T são mediadas por citocinas que são secretadas pelas células T e atuam sobre elas mesmas e sobre outras células envolvidas nas defesas imunológicas. No próximo tópico, discutiremos cada um dos componentes das respostas biológicas das células T.

Secreção de Citocinas e Expressão dos Receptores para Citocinas

Em resposta a um antígeno e aos co-estimuladores, os linfócitos T, sobretudo as células T CD4⁺, secretam rapidamente várias citocinas diferentes que têm diversas atividades (Fig. 5-8). As citocinas constituem um grande grupo de proteínas que atuam como mediadores da imuni-

A Propriedades gerais das citocinas		
Propriedade	Mecanismo	
Produzidas transitoriamente em resposta a um antígeno	O sinal gerado pelo TCR e a co-estimulação induzem a transcrição do gene da citocina	
Geralmente agem na mesma célula que as produziram (ação autócrina) ou nas células vizinhas (ação parácrina)	A ativação das células T induz a expressão tanto de citocinas quanto de receptores de alta afinidade para citocinas	
Pleiotropismo: cada citocina apresenta várias ações biológicas	Muitos tipos diferentes de células podem expressar receptores para uma determinada citocina	
Redundância: várias citocinas podem apresentar atividades biológicas iguais ou semelhantes	Muitas citocinas utilizam as mesmas vias de sinalização conservadas	

B Ações biológicas de algumas das citocinas das células		
Citocina	Ação principal	Fonte(s) celular(es)
Interleucina-2 (IL-2)	Estimulação do crescimento das células T	Células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺
IL-4	Ação sobre as células B levando à mudança do isotipo para IgE	Células T CD4 ⁺ , mastócitos
IL-5	Ativação de eosinófilos	Células T CD4 ⁺ , mastócitos
Interferon- γ (IFN- γ)	Ativação de macrófagos	Células T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ , células <i>natural killer</i>
TGF- β	Inibição da ativação das células T	Células TCD4 ⁺ , muitos outros tipos de células

Figura 5-8 Propriedades das principais citocinas produzidas pelos linfócitos T auxiliares CD4⁺. A. Resumo das propriedades gerais de todas as citocinas e dos mecanismos responsáveis por estas propriedades. B. Resumo das ações biológicas de algumas citocinas envolvidas na imunidade mediada pelas células T. O TGF- β age principalmente como um inibidor das respostas imunes; seu papel será discutido no Capítulo 9. A Figura 2-11 mostra as citocinas da imunidade inata.

dade e da inflamação. Nas respostas imunes inatas, as citocinas são produzidas principalmente pelos macrófagos (Cap. 2); e, na imunidade adaptativa, as citocinas são secretadas pelas células T. Essas proteínas compartilham algumas propriedades importantes, embora citocinas diferentes tenham atividades distintas e desempenhem papéis diferentes nas respostas imunes.

A primeira citocina a ser produzida pelas células T CD4⁺, dentro de 1 a 2 horas após a ativação, é a interleucina-2 (IL-2). (O termo *interleucina* refere-se ao fato de que muitas dessas proteínas são produzidas por leucócitos e atuam sobre eles.) A ativação também aumenta rapidamente a capacidade das células T de se ligar e de responder à IL-2, por meio da regulação da expressão do receptor para a IL-2 (Fig. 5-9). O receptor de alta afinidade pela IL-2 consiste em uma molécula com três cadeias. As células T virgens expressam duas cadeias sinalizadoras desse

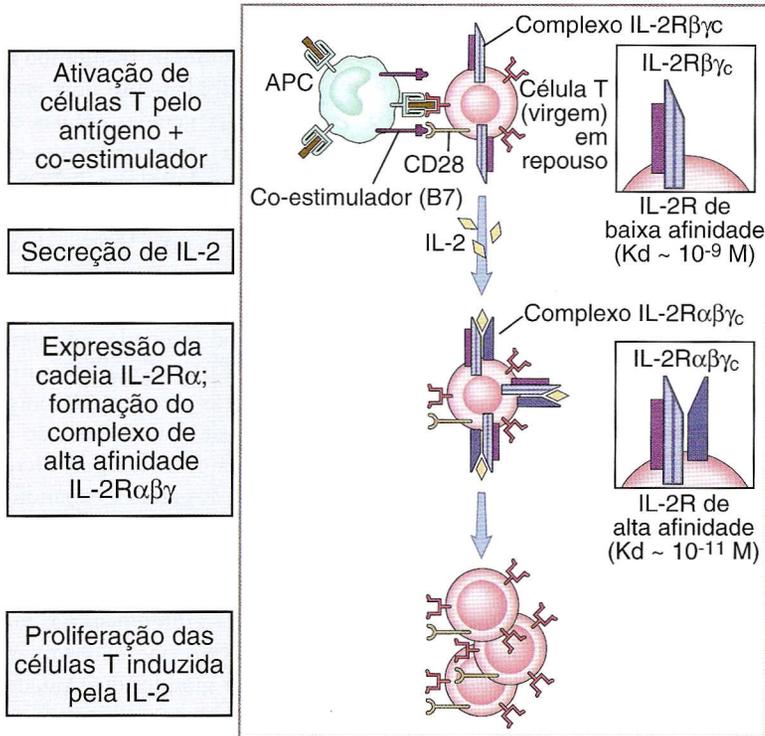


Figura 5-9 O papel da IL-2 e dos receptores para IL-2 na proliferação das células T. As células T virgens expressam o complexo do receptor de baixa afinidade para IL-2 (IL-2R), formado pelas cadeias β e γ_c (" γ_c " significa " γ comum", pois essa cadeia é um dos componentes dos receptores para várias outras citocinas). Ao serem ativadas pelo reconhecimento de um antígeno e pela co-estimulação, as células produzem IL-2 e expressam a cadeia α do IL-2R, a qual se associa às cadeias β e γ_c para formar o receptor de alta afinidade para IL-2. A ligação da IL-2 ao seu receptor dá início à proliferação das células T que reconheceram o antígeno.

receptor, mas não a cadeia que capacita o receptor a se ligar à IL-2 com alta afinidade. Poucas horas após sua ativação pelos antígenos e co-estimuladores, as células T produzem a terceira cadeia do receptor que, completo, é capaz de se ligar fortemente à IL-2. Assim, a IL-2 produzida por uma célula T que foi estimulada por um antígeno se liga preferencialmente à mesma célula T que a produziu e atua sobre ela. A principal ação da IL-2 é estimular a proliferação de células T; por essa razão, ela também é chamada de fator de crescimento das células T. A IL-2 estimula as células T a entrar no ciclo celular e começar a se dividir, o que leva a um aumento do número de células T específicas para antígeno. As células T CD4⁺ efetoras diferenciadas produzem muitas outras citocinas, e as funções de algumas das principais citocinas serão descritas mais adiante.

Parece que os linfócitos T CD8⁺ que reconhecem antígenos e co-estimuladores não secretam grandes quantidades de IL-2, mas, conforme veremos a seguir, esses linfócitos proliferam de maneira prodigiosa durante as respostas imunes. É possível que o reconhecimento de um antígeno seja capaz de determinar a proliferação das células T CD8⁺ sem a necessidade de muita IL-2. Por sua vez, como mencionamos, em alguns casos a ativação das células T CD8⁺ pode requerer o auxílio de células T CD4⁺ ativadas próximas para o fornecimento de IL-2.

Expansão Clonal

Um ou 2 dias após sua ativação, os linfócitos T começam a proliferar, resultando na expansão de clones específicos para antígeno. Essa expansão fornece rapidamente uma grande população de linfócitos específicos para antígeno da qual podem ser geradas células efetoras para combater a infecção. A magnitude da expansão clonal é notável, principalmente em relação às células T CD8⁺. Por exemplo, antes de uma infecção, o número de células T CD8⁺ específicas para qualquer um dos antígenos protéicos microbianos é de cerca de 1 para 10⁵ ou 10⁶ linfócitos no corpo. No clímax de algumas infecções virais, o que pode ocorrer dentro de uma semana após a infecção, até 10% a 20% de todos os linfócitos dos órgãos linfóides podem se tornar específicos para os vírus causadores dessas infecções. Isso significa que os clones específicos para antígeno aumentaram mais de 10.000 vezes e que o tempo estimado para uma população dobrar é de cerca de 6 horas. Várias características dessa expansão clonal são surpreendentes. Em primeiro lugar, essa enorme expansão de células T específicas para um microorganismo não é acompanhada por um aumento detectável de células “espectadoras” que não reconhecem esse microorganismo. Em segundo lugar, mesmo nas infecções causadas por microorganismos complexos que contêm muitos antígenos protéicos, a maioria dos clones expandidos é específica para apenas alguns peptídeos imunodominantes desses microorganismos e, com frequência, para menos de cinco deles. A expansão das células T CD4⁺ parece ser muito menor, provavelmente da ordem de 100 a 1.000 vezes. Essa disparidade na magnitude da expansão clonal das células T CD8⁺ em relação à das células T CD4⁺ pode refletir as diferenças nas funções dessas duas populações de células. Os CTLs CD8⁺ são células efetoras que exterminam as células infectadas, e muitos CTLs podem ser necessários para destruir grandes quantidades de células infectadas. Por sua vez, as células efetoras CD4⁺ secretam citocinas que ativam outras células efetoras, conforme descrito, e talvez só haja a necessidade de um pequeno número de produtores de citocinas.

Diferenciação de Células T Virgens em Células Efetoras

A progênie das células T que proliferaram após terem sido estimuladas por um antígeno começa a se diferenciar em células efetoras cuja função é erradicar as infecções. Esse processo de diferenciação resulta de alterações na expressão de genes (p. ex., ativação de genes que codificam citocinas [nas células T CD4⁺ e CD8⁺] ou de genes que codificam proteínas citolíticas [nos CTLs CD8⁺]). A diferenciação começa junto com a expansão clonal, e as células efetoras diferenciadas surgem dentro de 3 ou 4 dias após a exposição aos microorganismos. Essas células deixam os órgãos linfóides periféricos e migram para o local da infecção. Lá, as células efetoras encontram-se novamente com os antígenos microbianos que estimularam o seu desenvolvimento. Ao reconhecer o antígeno, as células efetoras respondem erradicando a infecção. As células efetoras das populações CD4⁺ e CD8⁺ realizam funções diferentes, e seus padrões de diferenciação são similarmente distintos.

As células T auxiliares CD4⁺ diferenciam-se em células efetoras que respondem ao antígeno por meio da produção de moléculas de superfície e citocinas cuja principal função é ativar macrófagos e linfócitos B (Fig. 5-10). A proteína de superfície celular mais importante envolvida na função causadora das células T CD4⁺ é o ligante para a CD40 (CD40L). Nas células T CD4⁺, a transcrição do gene do CD40L torna-se ativa em resposta ao reconhecimento do antígeno e à co-estimulação, e o resultado é a expressão do CD40L na superfície das células T auxiliares após a ativação. O CD40L liga-se ao seu receptor, a CD40, que é expressa principalmente na superfície de macrófagos, linfócitos B e células dendríticas. O acoplamento da CD40 ativa essas células e, por essa razão, o CD40L é um componente importante da ativação de

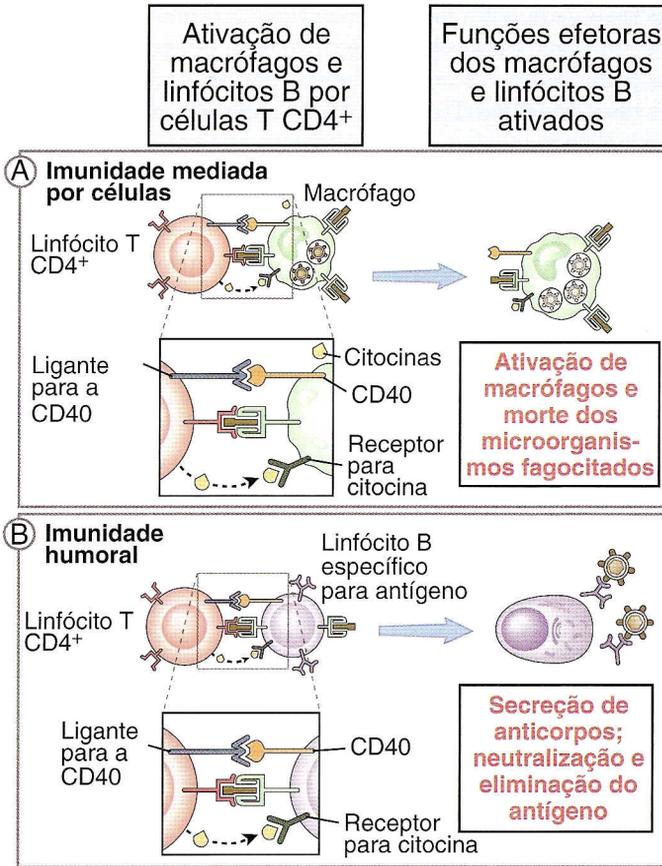


Figura 5-10 As moléculas envolvidas nas funções causadoras das células T auxiliares CD4⁺. As células T CD4⁺ que se diferenciaram em células efetoras expressam o CD40L e secretam citocinas. O CD40L liga-se à CD40 presente na superfície de macrófagos ou de linfócitos B, e as citocinas ligam-se a seus receptores situados na superfície dessas mesmas células. A combinação dos sinais liberados pela CD40 com aqueles liberados pelos receptores para citocinas ativa os macrófagos na imunidade mediada por células (A) e ativa as células B, que passam a produzir anticorpos nas respostas imunes humorais (B).

macrófagos e linfócitos B pelas células T auxiliares (Caps. 6 e 7). Como discutido, a interação do CD40L da superfície das células T com a CD40 da superfície das células dendríticas estimula a expressão de co-estimuladores na superfície dessas APCs e a produção de citocinas ativadoras de células T, fornecendo, dessa maneira, um mecanismo de *feedback* positivo (amplificação) para a ativação de células T induzida pelas APCs.

A análise da produção de citocinas pelas células T auxiliares esclareceu uma dúvida antiga da imunologia. Sabe-se, há muitos anos, que o sistema imune responde de modo diferente a diferentes microorganismos. Por exemplo, microorganismos intracelulares, como as micobactérias, são englobados por fagócitos, porém resistem ao extermínio intracelular. A resposta imune adaptativa a tais microorganismos resulta na ativação dos fagócitos, e estes, após serem ativados, destroem os microorganismos englobados. Em contraste, os parasitas helmínticos são grandes demais para ser fagocitados, e a resposta imune aos helmintos é dominada pela produção de anticorpos IgE e ativação de eosinófilos. O anticorpo IgE cobre (opsoniza) os helmintos, e os eosinófilos utilizam seus receptores Fc específicos para IgEs para se ligar aos helmintos e des-

truí-los. Ambos os tipos de resposta imune dependem das células T auxiliares CD4⁺, mas, por muitos anos, a maneira como essas células T estimulavam esses diferentes mecanismos imunológicos causadores permaneceu obscura. Tal enigma foi desvendado quando se descobriu que existem diferentes tipos de células T efectoras CD4⁺ que realizam funções distintas, como será descrito a seguir.

As células T auxiliares CD4⁺ podem se diferenciar em subpopulações de células efectoras que produzem grupos distintos de citocinas, os quais realizam funções diferentes. As subpopulações mais bem descritas são denominadas células T_{H1} e células T_{H2} (relativas a células T auxiliares de tipo 1 e células T auxiliares de tipo 2) (Fig. 5-11). A citocina mais importante produzida pelas células T_{H1} é o **interferon-γ (IFN-γ)**, assim chamado porque, quando descoberto, foi identificado como uma citocina que inibia infecções virais (ou interferia nelas). O IFN-γ é um potente ativador de macrófagos. Também estimula a produção de isotipos de anticorpos

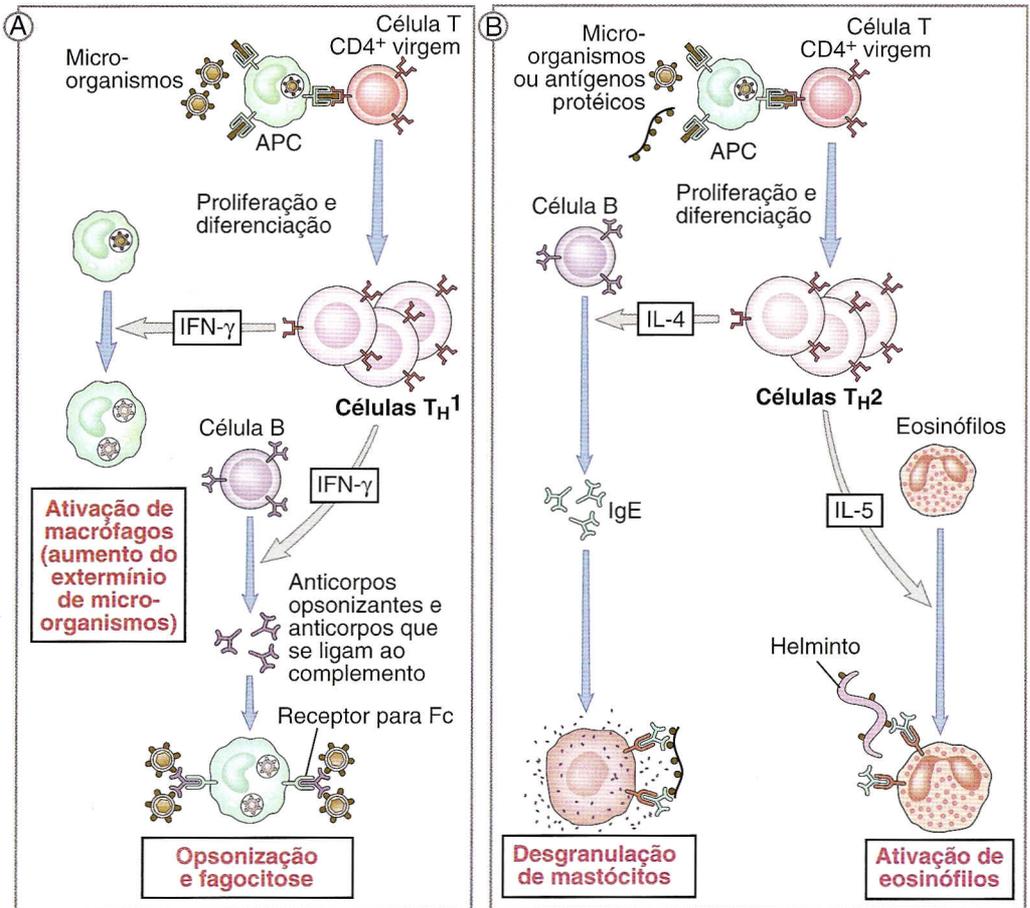


Figura 5-11 As funções das subpopulações T_{H1} e T_{H2} dos linfócitos T auxiliares CD4⁺. A. As células T_{H1} produzem a citocina IFN-γ, que ativa os fagócitos, e estes, quando ativados, matam os microorganismos englobados. O IFN-γ também estimula a produção de anticorpos que promovem o englobamento de microorganismos pelos fagócitos. B. As células T_{H2} específicas para antígenos proteicos microbianos e não-microbianos produzem a citocina IL-4, que estimula a produção do anticorpo IgE, e a IL-5, que ativa os eosinófilos. A IgE participa da ativação dos mastócitos pelos antígenos proteicos e cobre os helmintos para que estes sejam destruídos pelos eosinófilos.

Continua

que promovem a fagocitose dos microorganismos, pois tais anticorpos ligam-se diretamente aos receptores para Fc da superfície dos fagócitos e ativam o complemento, gerando produtos que se ligam aos receptores para complemento dos fagócitos. (Essas funções dos anticorpos serão descritas no Cap. 8.) Portanto, as células T_H1 estimulam o englobamento mediado por fagócitos e o extermínio de microorganismos, o componente-chave da imunidade mediada por células. O IFN- γ também estimula a expressão de moléculas do MHC da classe II e de co-estimuladores B7 na superfície das APCs, sobretudo dos macrófagos, e essa ação do IFN- γ pode servir para amplificar as respostas das células T. As células T_H2 , por sua vez, produzem IL-4, que estimula a produção de anticorpos IgE, e IL-5, que ativa eosinófilos. Portanto, as células T_H2 estimulam a imunidade independente de fagócitos mediada por eosinófilos, a qual é eficaz sobretudo contra parasitas helmínticos. Algumas das citocinas produzidas pelas células T_H2 , como as IL-4, IL-10 e IL-13, inibem a ativação de macrófagos e suprimem a imunidade mediada pelas células T_H1 . Por essa razão, a eficácia das respostas imunes mediadas por células contra um microorganismo pode ser determinada pelo equilíbrio entre a ativação das células T_H1 e T_H2 em resposta a esse microorganismo. No Capítulo 6, retornaremos a essa idéia e à sua importância nas doenças infecciosas. É provável que muitas células T $CD4^+$ diferenciadas produzam diversas combinações de citocinas, estimulem vários mecanismos efetores e não possam ser facilmente classificadas em subpopulações T_H1 e T_H2 .

© Propriedade	Subpopulação T_H1	Subpopulação T_H2
Citocinas produzidas		
IFN- γ , IL-2, TNF	+++	-
IL-4, IL-5, IL-13	-	+++
IL-10	+/-	++
IL-3, GM-CSF	++	++
Expressão de receptores para citocinas		
Cadeia β do IL-12R	++	-
IL-18R	++	-
Expressão de receptores para quimiocinas		
CCR3, CCR4	+/-	++
CXCR3, CCR5	++	+/-
Ligantes para as selectinas E e P	++	+/-
Isotipos de anticorpos estimulados	IgG2a (camundongo)	IgE; IgG1 (camundongo)/ IgG4 (humanos)
Ativação de macrófagos	+++	-

Figura 5-11 Cont. C. Resumo das principais diferenças entre as subpopulações T_H1 e T_H2 das células T auxiliares. Note que muitas células T auxiliares não se encaixam facilmente nessas subpopulações distintas e polarizadas. Os receptores para quimiocinas são denominados CCR ou CXCR porque se ligam a quimiocinas classificadas como CC ou CXC com base na posição de dois resíduos de cisteína da molécula, os quais podem estar adjacentes ou separados por um aminoácido. Diferentes receptores para quimiocinas controlam a migração de diferentes tipos de células. Esses receptores, em combinação com as selectinas, determinam qual subpopulação – células T_H1 ou células T_H2 – dominará nas diferentes reações inflamatórias dos diversos tecidos.

O desenvolvimento das células T_H1 e T_H2 não é um processo aleatório, e sim um processo regulado pelos estímulos que as células T $CD4^+$ virgens recebem quando encontram antígenos microbianos (Fig. 5-12). Os macrófagos e as células dendríticas respondem a muitas bactérias e vírus com a produção de uma citocina denominada IL-12. Quando as células T virgens reconhecem os antígenos microbianos que estão sendo apresentados por essas APCs, acabam sendo expostas à IL-12. Esta promove a diferenciação das células T na subpopulação T_H1 , que, em seguida, produz $IFN-\gamma$ para ativar os macrófagos. E estes, quando ativados, destroem os microorganismos. Essa seqüência ilustra um princípio importante que foi mencionado em capítulos anteriores: a resposta imune inata — neste caso, a produção de IL-12 pelas APCs — influencia a natureza da resposta imune adaptativa subsequente, guiando-a na direção das células T_H1 . Se o microorganismo infeccioso não estimular as APCs a produzir IL-12, como talvez façam os helmintos, as próprias células T produzirão IL-4, que induz a diferenciação dessas células na subpopulação T_H2 . O equilíbrio entre a diferenciação em T_H1 e T_H2 pode ser influenciado pelos tipos de células dendríticas que respondem inicialmente a certas infecções. Já foram identificadas várias subpopulações de células dendríticas que diferem entre si quanto às

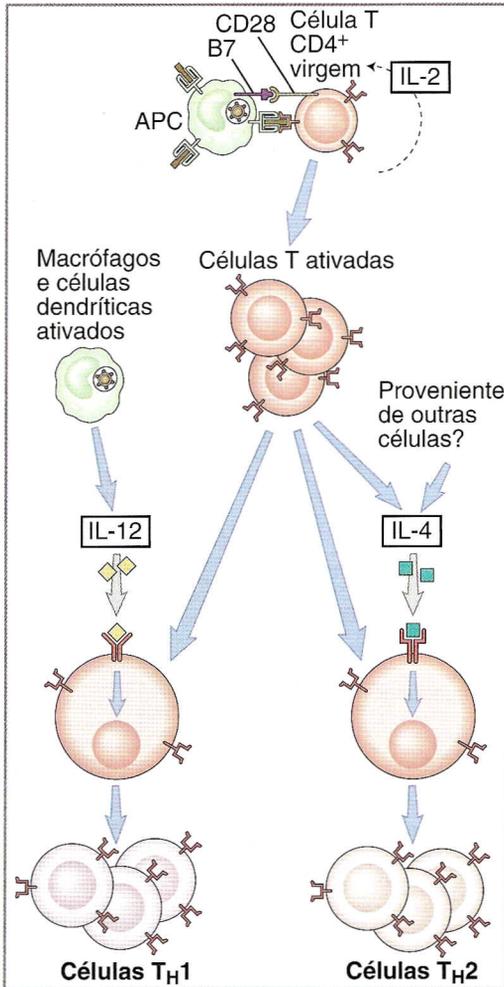


Figura 5-12 Diferenciação das células T auxiliares $CD4^+$ virgens em células efetoras T_H1 e T_H2 . Após sua ativação pelo antígeno e pelos co-estimuladores, as células T auxiliares virgens podem se diferenciar em células T_H1 e T_H2 sob a influência de citocinas. A IL-12 produzida pelos macrófagos e células dendríticas ativados pelos microorganismos estimula a diferenciação das células T $CD4^+$ em efetoras T_H1 . Na ausência da IL-12, as próprias células T (e talvez outras células) produzem IL-4, que estimula sua diferenciação em efetoras T_H2 .

classes de microorganismos às quais respondem e quanto às citocinas que secretam quando são ativadas por microorganismos e, portanto, diferem em relação aos tipos de células T efetoras (T_H1 ou T_H2) que induzem.

A diferenciação das células T auxiliares $CD4^+$ nas subpopulações T_H1 e T_H2 é um excelente exemplo da especialização da imunidade adaptativa, que ilustra como as respostas imunes a diferentes tipos de microorganismos foram projetadas para ser mais eficazes contra esses microorganismos. Além disso, uma vez que as células T_H1 e T_H2 se desenvolvem a partir de células T auxiliares estimuladas por antígenos, cada subpopulação produz citocinas que intensificam a diferenciação de células T em células de sua própria subpopulação e inibe o desenvolvimento da outra subpopulação. Essa “regulação cruzada” pode levar à polarização crescente da resposta em uma direção ou em outra.

Os linfócitos T $CD8^+$ ativados por um antígeno e por co-estimuladores diferenciam-se em CTLs que são capazes de destruir as células infectadas que expressam o antígeno. Os CTLs efetores destroem as células infectadas por meio da secreção de proteínas que criam poros nas membranas das células infectadas e provocam a fragmentação do DNA e a morte apoptótica dessas células. A diferenciação das células T $CD8^+$ virgens em CTLs efetores é acompanhada pela síntese de moléculas que destroem as células infectadas. Os mecanismos que levam à morte celular mediada pelos CTLs serão discutidos com mais detalhes no Capítulo 6.

Desenvolvimento de Linfócitos T de Memória

Uma parte dos linfócitos T ativados por antígenos diferencia-se em células T de memória de vida longa. As células de memória sobrevivem mesmo após a infecção ter sido erradicada e o antígeno, assim como a reação imune inata ao patógeno infeccioso, não estar mais presente. Essas células T de memória podem ser encontradas nos tecidos linfóides, nas barreiras mucosas e na circulação. Não sabemos o que mantém essas células vivas, nem que fatores determinam se as células-filhas dos linfócitos estimulados por antígenos se diferenciarão em células efetoras ou em células de memória. As células T de memória não continuam a produzir citocinas nem a destruir as células infectadas, mas podem fazê-lo rapidamente ao encontrar um antígeno que reconhecem. Portanto, as células de memória constituem uma população de linfócitos que espera a infecção retornar. Uma subpopulação de células T de memória, chamada de células de memória central, povoa os tecidos linfóides e é responsável pela rápida expansão clonal após a reexposição ao antígeno. Outro subgrupo chamado de células de memória efetoras se localiza na mucosa e medeia as funções efetoras rápidas após a reintrodução do antígeno a estes locais.

Declínio da Resposta Imune

Todo o processo de expansão clonal e diferenciação das células T ocorre nos órgãos linfóides periféricos. As células efetoras e de memória deixam esses tecidos e penetram na circulação, aptas a localizar uma infecção em qualquer parte do corpo (Cap. 6). Quando a infecção é debelada e os estímulos que ativaram os linfócitos desaparecem, muitas das células que tinham proliferado em resposta ao antígeno perdem os seus fatores de sobrevivência e, como consequência, morrem pelo processo de apoptose (morte celular programada). A resposta diminui dentro de 1 ou 2 semanas após a infecção ter sido erradicada, e o único sinal de que uma resposta imune mediada por células T ocorreu é a presença da população de linfócitos de memória sobrevivente.

Para que ocorra a produção de uma resposta mediada por células T eficaz, vários problemas precisam ser superados, por isso, as células T desenvolveram numerosos mecanismos. Em primeiro lugar, as células T virgens precisam encontrar o antígeno. O problema da localização do

antígeno é resolvido pelas APCs que capturam o antígeno e concentram-no nos órgãos linfóides especializados por meio dos quais as células T virgens recirculam. Em segundo lugar, o tipo correto de linfócito T (*i. e.*, células T auxiliares CD4⁺ ou CTLs CD8⁺) precisa responder aos antígenos presentes nos compartimentos extracelular e intracelular. Essa seletividade é determinada pela especificidade dos co-receptores CD4 e CD8 pelas moléculas do MHC das classes II e I, respectivamente, e pela separação dos antígenos protéicos em extracelulares (vesiculares) e intracelulares (citoplasmáticos) para a exibição dos primeiros por moléculas do MHC da classe II e dos últimos por moléculas da classe I. Em terceiro lugar, as células T precisam interagir com as APCs que carregam os antígenos por um período de tempo longo o suficiente para serem ativadas. As moléculas de adesão que estabilizam a ligação das células T com as APCs garantem um contato com a célula T-APC suficientemente longo. Em quarto lugar, as células T devem responder aos antígenos microbianos, mas não às proteínas inofensivas. Essa preferência por microorganismos é mantida porque a ativação das células T requer a presença de co-estimuladores cuja expressão na superfície das APCs é induzida por microorganismos. Por fim, o reconhecimento de um antígeno por um pequeno número de células T precisa ser convertido em uma resposta grande o suficiente para ser eficaz. Essa conversão é maximizada por vários mecanismos de amplificação que são induzidos pelos microorganismos e pelas próprias células T ativadas e leva a uma intensificação da ativação das células T.

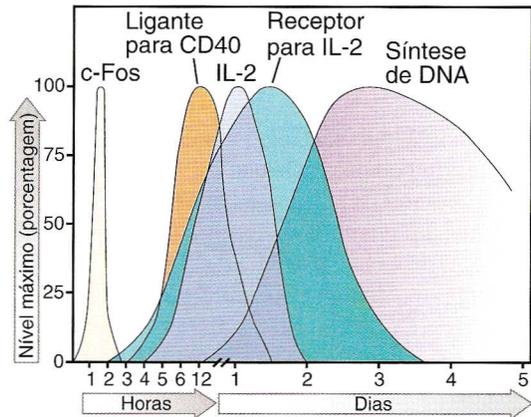
Como vimos neste capítulo, a biologia da ativação das células T é muito bem compreendida. Na parte final deste capítulo, os pontos de vista atuais sobre a transdução de sinais pelo complexo TCR foram resumidos, sem deixar de levar em consideração o fato de que este assunto ainda precisa ser mais investigado e que há muitas perguntas sem resposta.

Vias Bioquímicas da Ativação das Células T

Ao reconhecer os antígenos e os co-estimuladores, as células T expressam proteínas que estão envolvidas na proliferação, na diferenciação e nas funções efetoras das células (Fig. 5-13). As células T virgens que não tiveram contato com um antígeno (as chamadas células em repouso) têm um baixo nível de síntese protéica. Alguns minutos após o reconhecimento de um antígeno, as células T ativadas apresentam nova transcrição de genes e síntese protéica. As funções de muitas dessas proteínas recém-expressas foram mencionadas anteriormente.

As vias bioquímicas que ligam o reconhecimento de um antígeno às respostas das células T consistem na ativação de enzimas, no recrutamento de proteínas adaptadoras e na produção de fatores de transcrição ativos (Fig. 5-14). Essas vias bioquímicas são iniciadas pela ligação cruzada do TCR e ocorrem no complexo TCR ou próximo a ele. Vários TCRs e co-receptores são aproximados uns dos outros quando se ligam aos complexos MHC-peptídeos da superfície das APCs. Além disso, ocorre uma redistribuição ordenada de outras proteínas da membrana celular da APC e da célula T no ponto de contato entre essas células; tais proteínas estão envolvidas na adesão e na sinalização e são importantes para uma ótima indução dos sinais de ativação da célula T. Essa região de contato entre a APC e a célula T, que engloba as proteínas de membrana redistribuídas, é chamada de sinapse imunológica. O agrupamento dos co-receptores CD4 ou CD8 ativa uma proteína tirosina cinase denominada Lck que se encontra fixada às caudas citoplasmáticas desses co-receptores. Conforme discutimos no Capítulo 4 e anteriormente neste capítulo, várias proteínas transmembranas de sinalização estão associadas ao TCR, inclusive as cadeias CD3 e ζ . A CD3 e o ζ contêm motivos ricos em tirosina, denominados motivos de ativação de imunorreceptores via tirosina (ITAMs), que são decisivos para a sinalização. Uma vez ativada, a Lck fosforila os resíduos de tirosina contidos dentro dos ITAMs das proteínas ζ e CD3. Os ITAMs fosforilados da cadeia ζ tornam-se locais de ancoragem para uma

Figura 5-13 Proteínas produzidas pelas células T estimuladas por um antígeno. O reconhecimento de um antígeno pelas células T resulta em síntese e expressão de várias proteínas, algumas das quais são exibidas nesta figura. Os valores relativos à cinética da produção dessas proteínas são aproximados e podem variar entre as diferentes células T e também com tipos distintos de estímulo. Os possíveis efeitos da co-estimulação nos padrões ou na cinética da expressão dos genes não são exibidos.



Produto dos genes	Tempo de expressão
Fatores de transcrição c-Fos c-Myc	Minutos Horas
Moléculas efetoras da membrana Ligante para CD40 Ligante para Fas	Horas Horas
Citocinas IL-2 IFN- γ IL-4	Horas Horas a dias Horas a dias
Receptores para citocinas IL-2	Horas

tirosina cinase denominada ZAP-70 (proteína de 70 kD associada à cadeia ζ), que também é fosforilada pela Lck, passando a ser, assim, enzimaticamente ativa. Em seguida, a ZAP-70 ativa fosforila diversas proteínas adaptadoras e enzimas, que se agrupam próximo ao complexo TCR e medeiam fenômenos de sinalização adicionais. As duas principais vias de sinalização associadas à fosforilação da cadeia ζ e à ZAP-70 são a via cálcio-NFAT e a via Ras/Rac-MAP cinase.

O fator nuclear das células T ativadas (NFAT) é um fator de transcrição cuja ativação depende de íons Ca^{2+} . A via cálcio-NFAT é iniciada pela fosforilação mediada pela ZAP-70 e pela ativação de uma enzima denominada fosfolipase C (PLC), que catalisa a hidrólise dos fosfolípidios da membrana plasmática que contém inositol. Um subproduto da quebra dos fosfolípidios mediada pela PLC, chamado de 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3), estimula a liberação de íons Ca^{2+} dos depósitos intracelulares. Ao mesmo tempo, sinais provenientes do complexo TCR provocam um influxo de Ca^{2+} extracelular para dentro da célula. O Ca^{2+} citoplasmático liga-se a uma proteína denominada calmodulina, e o complexo Ca^{2+} -calmodulina ativa uma fosfatase chamada de calcineurina. Essa enzima remove os fosfatos de um fator de transcrição citosólico inativo denominado fator nuclear das células T ativadas. Uma vez desfosforilado, o NFAT é capaz de migrar para o núcleo, onde se liga a promotores de vários genes, ativando-os. Dentre esses genes estão os que codificam o fator de crescimento de células T, a interleucina-2, e componentes do receptor para a IL-2. Uma droga chamada de **ciclosporina** liga-se à calcineurina

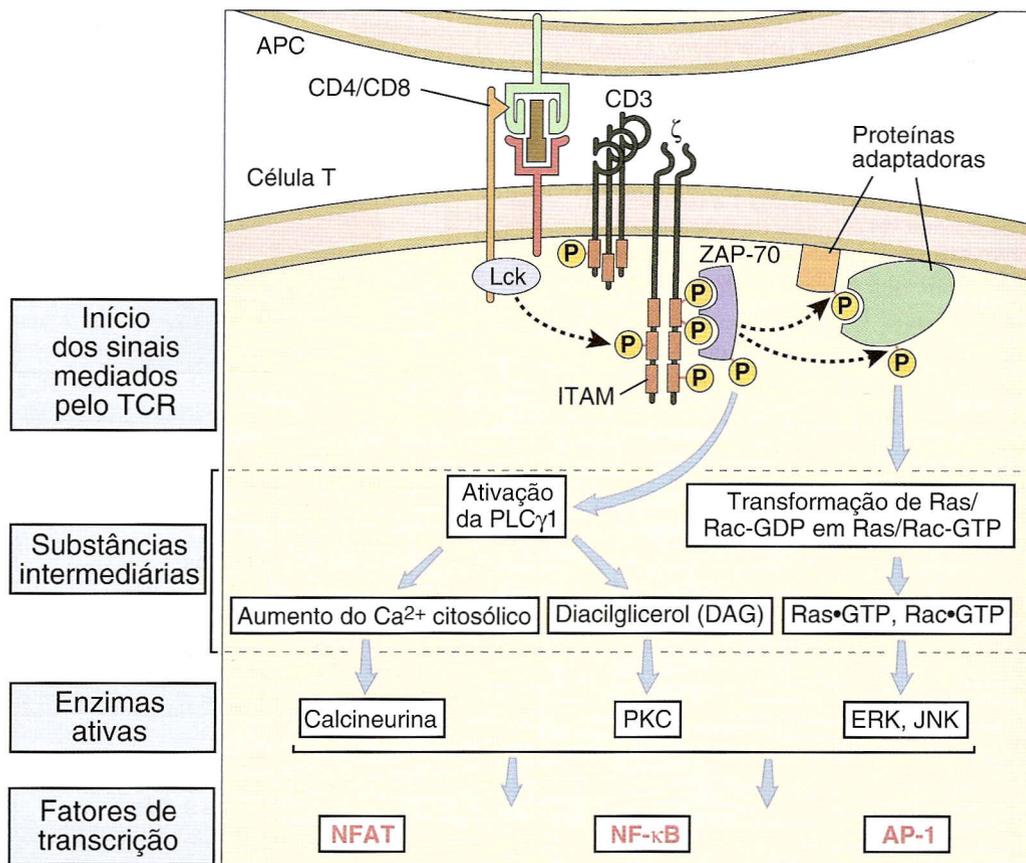


Figura 5-14 Vias da transdução de sinais dos linfócitos T. O reconhecimento de um antígeno pelas células T desencadeia fenômenos de sinalização iniciais, que incluem a fosforilação da tirosina das moléculas do complexo TCR e o recrutamento de proteínas adaptadoras para o local onde ocorreu o reconhecimento. Esses fenômenos iniciais levam à ativação de várias substâncias intermediárias, as quais, por sua vez, ativam fatores de transcrição que estimulam a transcrição de genes cujos produtos medeiam as respostas das células T. Os possíveis efeitos da co-estimulação nessas vias de sinalização não são mostrados. A sigla PLCγ1 refere-se à isoforma γ1 da fosfolipase C específica para o fosfatidilinositol.

e inibe sua atividade, impedindo, assim, a produção de citocinas pelas células T. Esse agente é amplamente utilizado como uma droga imunossupressora para impedir a rejeição de enxertos; seu advento foi um dos principais fatores do sucesso dos transplantes de órgãos ocorridos na década passada (Cap. 10).

As vias Ras/Rac-MAP cinase incluem o trifosfato de guanósina (GTP) que se liga às proteínas Ras e Rac, as quais se tornam biologicamente ativas quando se unem ao GTP, várias proteínas adaptadoras e uma cascata de enzimas que, no final, ativa uma proteína cinase de uma família de proteínas cinases que são ativadas por mitógenos (MAP). Essas vias são iniciadas pela fosforilação dependente da ZAP-70 e pelo acúmulo de proteínas adaptadoras na membrana plasmática, que leva ao recrutamento da Ras ou da Rac e à ativação destas últimas pela transformação do GTP em difosfato de guanósina (GDP). Tanto a Ras-GTP quanto a Rac-GTP iniciam diferentes cascatas de enzimas, que resultam na ativação de MAP cinases distintas. As MAP cinases terminais dessas vias, denominadas cinase regulada por sinais extracelulares (ERK)

e cinase c-Jun amino(N)-terminal (JNK), promovem a expressão de uma proteína chamada de c-Fos e a fosforilação de outra proteína denominada c-Jun. A c-Fos e a c-Jun fosforilada combinam-se para formar o fator de transcrição ativo AP-1 (proteína ativadora-1), que aumenta a transcrição de vários genes das células T.

Outros fenômenos bioquímicos envolvidos na sinalização gerada pelo TCR incluem a ativação da serina-treonina cinase denominada proteína cinase C (PKC) e a ativação do fator nuclear do fator de transcrição- κ B (NF- κ B). A PKC é ativada pelo diacilglicerol, que, como o IP₃, é formado pela hidrólise — mediada pela fosfolipase C — dos lipídios da membrana que contém inositol. Uma isoforma da PKC específica para células T, a PKC- θ , está associada à ativação do NF- κ B. O NF- κ B está presente, em uma forma inativa, no citoplasma de células T em repouso, ligado a um inibidor denominado I κ B. Os sinais gerados pelo TCR em decorrência do reconhecimento de um antígeno levam à fosforilação e à dissociação do inibidor do NF- κ B. Como consequência, o NF- κ B é liberado, tornando-se capaz de migrar para o núcleo, onde ativa a transcrição de vários genes.

Os vários fatores de transcrição que mencionamos, incluindo NFAT, AP-1 e NF- κ B, estimulam a transcrição e a subsequente produção de citocinas, receptores para citocinas, indutores do ciclo celular e moléculas efetoras, como o CD40L (Fig. 5-13). Todos esses sinais são iniciados pelo reconhecimento de um antígeno, pois a ligação do TCR e dos co-receptores ao antígeno (os complexos peptídeo-MHC) é necessária para agrupar as moléculas sinalizadoras e dar início à sua atividade enzimática.

Afirmamos anteriormente que o reconhecimento dos co-estimuladores, como as moléculas B7, por seus receptores (*i. e.*, pelos CD28) é essencial para que as respostas das células T sejam totais. Os sinais gerados pela ligação dos CD28 com os co-estimuladores B7 são menos compreendidos que os sinais desencadeados pelo TCR. É possível que o acoplamento do CD28 amplifique os sinais gerados pelo TCR ou que o CD28 inicie um conjunto distinto de sinais que complementam os sinais do TCR. Essas possibilidades, como seria de se esperar, não são mutuamente exclusivas.

RESUMO

- ▶ Os linfócitos T são as células da imunidade mediada por células, o braço do sistema imunológico adaptativo que combate os microorganismos intracelulares, os quais podem ser englobados por fagócitos e viver dentro dessas células ou podem infectar células não-fagocitárias.
- ▶ As respostas dos linfócitos T são constituídas de etapas seqüenciais: reconhecimento de microorganismos associados a células pelas células T virgens, expansão dos clones específicos para antígeno por meio da proliferação e diferenciação de algumas das progênies em células efetoras e células de memória.
- ▶ As células T utilizam seus receptores para antígenos para reconhecer os antígenos peptídicos exibidos pelas moléculas do MHC presentes na superfície das células apresentadoras de antígenos (que são responsáveis pela especificidade da resposta resultante) e os resíduos polimórficos das moléculas do MHC (que são responsáveis pela restrição das respostas das células T ao MHC).
- ▶ O reconhecimento de um antígeno pelo TCR desencadeia sinais que são liberados para o interior das células por moléculas associadas ao TCR (as cadeias CD3 e ζ) e pelos co-receptores, CD4 ou CD8, que reconhecem as moléculas do MHC das classes II e I, respectivamente.
- ▶ A ligação das células T às células apresentadoras de antígenos é intensificada pelas moléculas de adesão, notadamente pelas integrinas, cuja afinidade por seus ligantes é aumentada

pelas quimiocinas produzidas em resposta aos microorganismos e pelo reconhecimento do antígeno pelo TCR.

- ▶ As APCs expostas a microorganismos ou às citocinas produzidas como parte das reações imunológicas inatas aos microorganismos expressam co-estimuladores que são reconhecidos por receptores presentes na superfície das células T e liberam “sinais secundários” necessários para a ativação dessas células T.
- ▶ Em resposta ao reconhecimento de um antígeno e à co-estimulação, as células T secretam citocinas, algumas das quais induzem a proliferação das células T estimuladas pelo antígeno e outras medeiam as funções causadoras das células T.
- ▶ As células T auxiliares $CD4^+$ podem se diferenciar em subpopulações de células efetoras que produzem grupos limitados de citocinas e realizam funções diferentes. As células T_H1 , que produzem $IFN-\gamma$, ativam fagócitos para que estes eliminem os microorganismos englobados e estimulam a produção de anticorpos opsonizantes e anticorpos ligados ao complemento. As células T_H2 , que produzem IL-4 e IL-5, estimulam a produção de IgE e ativam eosinófilos, os quais atuam principalmente na defesa contra helmintos.
- ▶ As células T $CD8^+$ reconhecem peptídios de antígenos protéicos intracelulares (citoplasmáticos) e podem precisar da ajuda das células T $CD4^+$ para se diferenciar em CTLs efetoras. A função dos CTLs é destruir as células que produzem antígenos microbianos citoplasmáticos.
- ▶ Os sinais bioquímicos desencadeados nas células T pelo reconhecimento de um antígeno resultam na ativação de vários fatores de transcrição que estimulam a expressão de genes que codificam citocinas, de receptores para citocinas e de outras moléculas envolvidas nas respostas das células T.

Questões de Revisão

- 1 Quais são os componentes do complexo TCR? Quais desses componentes são responsáveis pelo reconhecimento de um antígeno, e quais são responsáveis pela transdução de sinais?
- 2 Cite algumas das moléculas acessórias utilizadas pelas células T para iniciar suas respostas aos antígenos. Quais são as funções dessas moléculas?
- 3 O que é co-estimulação? Qual é o significado fisiológico da co-estimulação? Cite alguns dos pares ligante-receptor envolvidos na co-estimulação.
- 4 Qual é o principal fator de crescimento para as células T? Por que as células T específicas para antígeno se expandem mais que outras células T (as “espectadoras”) quando expostas a um antígeno?
- 5 Quais são as principais subpopulações de células T auxiliares $CD4^+$ e como elas se diferem?
- 6 Que sinais são necessários para induzir as respostas das células T $CD8^+$?
- 7 Resuma as ligações existentes entre o reconhecimento de um antígeno, as principais vias bioquímicas da sinalização das células T e a produção de fatores de transcrição.