

## MAGNÉSIO PARA CÉLULAS T: FORTE ATÉ O FIM!

Santosha Vardhana<sup>1,\*</sup> e Michael L.Dustin<sup>2,\*</sup>

Os desenhos animados 'Popeye, the Sailor' ensinaram às crianças que comer espinafre aumenta força e ajuda a defender contra agressores. [Lötscher e colegas](#) referem que a deficiência alimentar de íons de magnésio ( $Mg^{2+}$ ), contra os quais comer espinafre é um excelente antídoto, prejudica a atividade de uma molécula de adesão chave, LFA-1, e dificulta a capacidade das células T  $CD8^+$  de lidar com agressores variados, como tumores e bactérias.

A análise inicial dos requisitos para a morte mediada por células T  $CD8^+$  identificou dois mecanismos principais de adesão, um definido pela interação LFA-1 (integrina) das células T com as moléculas de adesão intercelular das células-alvo (ICAMs) e o outro definido pela interação das células T  $CD2$  com a célula-alvo  $CD58$  [1].

Esses mecanismos de adesão não foram redundantes em muitos aspectos, incluindo a necessidade de íons  $Mg^{2+}$  por LFA-1, mas não por  $CD2$ . Os primeiros trabalhos mostraram que  $100\ \mu M$ – $1\ mM$   $Mg^{2+}$ , na presença de íons  $Ca^{2+}$ , foi suficiente para suportar uma faixa normal de atividade do LFA-1, mas que o LFA-1 tornou-se inativo em concentrações mais baixas de  $Mg^{2+}$  [2].

De fato, o LFA-1 torna-se hiperativado quando o  $Mg^{2+}$  está presente a  $1$ – $5\ mM$  e  $Ca^{2+}$  está ausente ou na presença de  $100\ \mu M$  de  $Mn^{2+}$ . Embora tenha surgido uma excelente compreensão estrutural da necessidade de cátions divalentes [3], a relação fisiológica das concentrações extracelulares de  $Mg^{2+}$  para a regulação do LFA-1 durante as respostas imunes não foi investigada, talvez porque fosse dado como certo que  $\sim 1\ mM$   $Mg^{2+}$  estaria sempre disponível *in vivo*.

Um recente insight crucial de Lötscher *et al.* [4] é que as concentrações fisiológicas de  $Mg^{2+}$ , sistêmica ou localmente, pode atingir níveis baixos o suficiente *in vivo* para prejudicar seletivamente a atividade do LFA-1 a ponto de comprometer a função das células T  $CD8^+$  (Figura 1).

Trabalhos recentes mostraram que o  $Mg^{2+}$  pode se tornar limitante para as respostas imunes *in vivo*. Por exemplo, a imunodeficiência ligada ao cromossomo X de imunodência primária com defeito de magnésio, infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV) e neoplasia (XMEN) em humanos leva a um controle deficiente da infecção por EBV devido a mutações no gene transportador *MAGT1*  $Mg^{2+}$ , aumentando a conscientização sobre o  $Mg^{2+}$  como um quarto cátion divalente essencial para o sistema imunológico, ao lado de  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  e  $Zn^{2+}$ ; no entanto, o XMEN não pode ser corrigido pela suplementação dietética de  $Mg^{2+}$  [5].

Além dessa lesão genética, a hipomagnesemia por deficiência de  $Mg^{2+}$  (medida no plasma sanguíneo) surge em várias críticas (por exemplo, pacientes internados em unidades de terapia intensiva) e está associado a resultados ruins [6]. É importante notar que os métodos para avaliação clínica de  $Mg^{2+}$  não são bem padronizados e, em seu relatório [4], Lötscher *et al.* às vezes recorria dividindo as populações de pacientes em

coortes de 'alto versus baixo  $Mg^{2+}$ '; para uma metanálise, eles consideraram  $<70 \mu M$  de  $Mg^{2+}$  como definidor de hipomagnesemia, ficando bem fora da faixa plasmática normal de  $0,75-1,1 \text{ mM}$  e, portanto, relativamente poucos pacientes atingiram isso, uma baixa concentração sistêmica de  $Mg^{2+}$ . Portanto, a definição de  $Mg^{2+}$  extracelular sistêmico e, mais ainda, local *in vivo* continua sendo um desafio neste e em outros estudos.

Para entender melhor os aspectos imunossupressores da deficiência de  $Mg^{2+}$ , Löttscher e colegas realizaram um conjunto de experimentos *in vitro*, consolidando e preenchendo informações importantes que faltam para entender a relação entre as concentrações de  $Mg^{2+}$ , a atividade do LFA-1 e a função das células T. Usando modelos de camundongo LFA-1<sup>-/-</sup>, confirmaram que a atividade do LFA-1 e as funções das células T CD8<sup>+</sup> dependentes de LFA-1 (por exemplo, citotoxicidade) foram prejudicadas quando as concentrações de  $Mg^{2+}$  caíram abaixo de  $100 \mu M$ , enquanto as células T toleraram bem a hipomagnesemia [4].

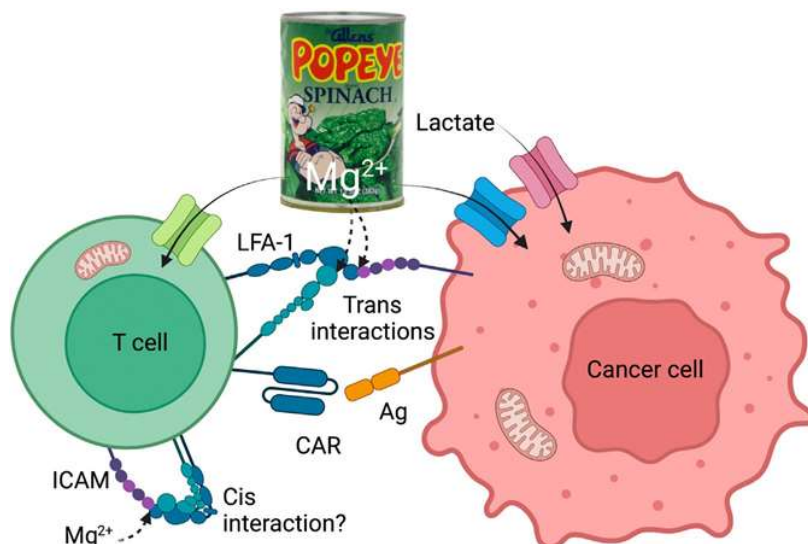
Alguns dos efeitos funcionais do  $Mg^{2+}$  nas células T dependiam de interações cis, uma vez que os substratos revestidos com anti-CD3 geravam sinais dependentes de  $Mg^{2+}$ , LFA-1 e ICAM-3 nas células T na ausência de integrinas ou de seu ligante no substrato estimulatório. Interações cis de LFA-1 com ICAMs nas mesmas células competiam com as interações necessárias para a adesão célula-célula, mas pareciam permitir  $Mg^{2+}$ -coestimulação dependente e autônoma de células por LFA-1 [4].

A análise de células T CD8<sup>+</sup> de pacientes com XMEN pode oferecer oportunidades para examinar o impacto do  $Mg^{2+}$  intracelular na função co-estimulatória. Por exemplo, as células natural killer (NK) em pacientes com XMEN exibem expressão reduzida do receptor ativador NKG2D, sugerindo que a expressão reduzida de NKG2D dependente de  $Mg^{2+}$  limita a atividade das células T NK e CD8<sup>+</sup> durante a hipomagnesemia. Da mesma forma, o impacto da perda de MAGT1 na ativação e sinalização do LFA-1 ainda precisa ser explorado.

De relevância, no Löttscher *et al.* estudo [4], injeção intratumoral de  $Mg^{2+}$ , seja como uma solução simples de  $3 \text{ mM}$  ou em formulações lipossomais, reforçou o controle dependente de células T OT-I de tumores MC38-OVA em camundongos com concentrações sistêmicas normais de  $Mg^{2+}$ , sugerindo que a disponibilidade extracelular de  $Mg^{2+}$  limita a função das células T dentro do microambiente tumoral. A depleção intratumoral de  $Mg^{2+}$  pode ser impulsionada pela desregulação de importadores, como TRPM6 e 7, bem como por MRS2, cuja superexpressão foi relatada em vários tipos de câncer, incluindo câncer de mama e colorretal, mas cuja importância requer mais exploração [7].

Além disso, um fator intrigante de sequestro de  $Mg^{2+}$  por células tumorais é o lactato, que foi demonstrado em hepatócitos e linhagens celulares de carcinoma hepatocelular para ativar o desvio dependente de Mrs2 de  $Mg^{2+}$  para mitocôndria, ativando alostericamente enzimas envolvidas no catabolismo oxidativo de substratos de carbono, incluindo piruvato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e oxoglutarato desidrogenase [8].

Portanto, sob condições em que a importação de lactato é favorecida, o  $Mg^{2+}$  pode permitir a oxidação do piruvato derivado do lactato para manter a homeostase bioenzimática. Notavelmente, a potencialização da importação mitocondrial pelo lactato requer a expressão de MCT1 (SLC16A1), que facilita a captação de lactato e é superexpressa na maioria dos cânceres com superexpressão de Myc [9]. Além disso, quando combinado com estudos que mostram que a função mitocondrial suporta a sobrevivência das células T reguladoras (Treg) em ambientes com limitação de nutrientes, enquanto a disfunção mitocondrial impulsiona o CD8<sup>+</sup> terminal



**Figura 1.** Função do magnésio no microambiente do tumor murino. A captação de  $Mg^{2+}$  pelas células T  $CD8^{+}$  é necessária para a expressão normal de moléculas efetoras, como NKG2D. No entanto, o metabolismo tumoral pode levar ao sequestro de  $Mg^{2+}$  e concentrações reduzidas de  $Mg^{2+}$  extracelular, que é necessário para interações *trans* e *cis* de LFA-1 com moléculas de adesão intercelular (ICAMs), um processo essencial para a ativação de células T citotóxicas e morte de células tumorais alvo [4]. Abreviaturas: Ag, antígeno; CAR, receptor de antígeno quimérico. Criado com BioRender ([Biorender.com](https://biorender.com)).

Exaustão de células T, esses achados sugerem que a importação mitocondrial dependente de lactato de  $Mg^{2+}$  pode suportar a homeostase bioenergética do tumor e do Treg, enquanto as células T  $CD8^{+}$ , que não importam lactato, desenvolvem progressivamente disfunção mitocondrial e exaustão terminal de células T no cenário de deficiência relativa de  $Mg^{2+}$  [10].

A molécula (VCAM) é, portanto, essa via, e pode contribuir para a distribuição normal de linfócitos observada em camundongos hipomagnesêmicos, embora isso permaneça conjectural. Enquanto Lötscher e colegas de trabalho demonstraram fenótipos semelhantes de perda de função em LFA-1-eficiente e hipomagnesêmico camundongos, eles não demonstraram a capacidade de camundongos hipomagnesêmicos para montar respostas imunes independentes de LFA-1.

É importante notar que o priming das respostas das células T foi relatado como independente do LFA-1 com base em pesquisas usando camundongos ICAM-1 / ICAM-2 duplo-KO [11]. Seria interessante determinar se o priming de células T é normal em camundongos hipomagnesêmicos ou se esses estágios iniciais de respostas imunes também podem ser aumentados pelo suporte local de  $Mg^{2+}$  ou suplementação com lipossomas de  $Mg^{2+}$ , por exemplo, em vacinas. Também é possível que a causa da baixa função do LFA-1 no priming das células T esteja ligada ao baixo  $Mg^{2+}$

intersticial em zonas secundárias de células T de órgãos linfóides (por exemplo, linfonodos).

No entanto, as concentrações de  $Mg^{2+}$  são suficientes para a função LFA-1 nas proximidades. Esses efeitos podem agravar os efeitos diretos do  $Mg^{2+}$  extracelular no LFA-1, uma possibilidade que justifica testes futuros.

Para identificar LFA-1 dependente e componentes independentes da resposta celular a baixo  $Mg^{2+}$  *in vivo*, Lötscher *et al.* células T CD8<sup>+</sup> deficientes em LFA-1 (camundongos LFA-1<sup>-/-</sup>); os efeitos da hipomagnesemia foram semelhantes à perda de LFA-1 e não foram aditivas, sugerindo que o impacto da depleção de  $Mg^{2+}$  foi amplamente dependente de LFA-1 [4].

É importante notar que a distribuição de linfócitos foi normal em camundongos hipomagnesêmicos, bem como em camundongos nocaute para LFA-1 (KO), e este último foi surpreendente, uma vez que o LFA-1 tem um papel importante no extravasamento de leucócitos para linfonodos e locais de inflamação. Tal linfonodos tem a distribuição de CYTE em camundongos hipomagnesêmicos, isso, pode ser parcialmente atribuível a uma sobreposição funcional entre LFA-1 e integrina  $\alpha 4\beta 1$ ; de fato,  $\alpha 4\beta 1$  pode usar não apenas  $Mg^{2+}$ , mas também  $Ca^{2+}$  para ligar a adesão de células vasculares centros germinativos *in vivo*.

Esses resultados do laboratório de Christoph Hess [4] sugerem que o  $Mg^{2+}$  intersticial tem um papel mais amplo na regulação do sistema imunológico respostas do que se pensava originalmente. Considerando que o plasma é um fluido relativamente acessível para fazer medições, a avaliação das concentrações intersticiais de  $Mg^{2+}$  pode ser complicada devido a amostras de pequeno volume e o potencial de diluição e contaminação durante a coleta (particularmente porque as células são conhecidas por conter quantidades relativamente grandes de  $Mg^{2+}$  em complexos com ácidos nucleicos e proteínas).

No entanto, os volumes intersticiais relativamente pequenos em muitos tecidos podem fornecer oportunidades para regular o  $Mg^{2+}$  local e atividade LFA-1. É importante notar que os sensores fluorescentes de  $Mg^{2+}$  existentes, como o Mag-Fura-2, também têm afinidade com o  $Ca^{2+}$  e, portanto, não funcionam bem em espaços intersticiais onde  $Ca^{2+}$  também está presente em quantidades de mM.

Para fazer um melhor intersticial Medições de  $Mg^{2+}$ , será importante gerar sensores seletivos de  $Mg^{2+}$  geneticamente codificados, talvez com base em motivos de integrinas seletivas de  $Mg^{2+}$ , como LFA-1. Esses repórteres podem fornecer uma

maneira mais direta de monitorar o efeito 'Popeye'  $Mg^{2+}$  nos tecidos, talvez usando métodos como micrastoscopia.

#### **Confirmações**

*M.L.D. é apoiado pelo Kennedy Trust for Rheumatology Research.*

#### **Declaração de interesses**

*Nenhum declarado pelos autores.*

<sup>1</sup>Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Nova York, NY, EUA <sup>2</sup>Instituto Kennedy de Reumatologia, Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido

#### **\*Correspondência:**

[vardhans@mskcc.org](mailto:vardhans@mskcc.org) (S. Vardhana) e [michael.dustin@kennedy.ox.ac.uk](mailto:michael.dustin@kennedy.ox.ac.uk) (M.L. Dustin).  
<https://doi.org/10.1016/j.it.2022.02.004>

## REFERÊNCIAS

1. SPRINGER, T.A. (1990) **Receptores de adesão do sistema imunológico.** Natureza 346, 425–434
2. ROTHLEIN, R. e SPRINGER, T.A. (1986) **A exigência de antígeno 1 associado à função linfocitária na adesão leucocitária homotípica estimulada por éster de forbol.** J. Exp. Med. 163, 1132–1149
3. TAKAGI, J. et al. (2002) **Reorganização conformacional globalmente em domínios extracelulares de integrina na sinalização de fora para dentro e de dentro para fora.** Célula 110, 599–511
4. LÖTSCHER, J. et al. (2022) **A detecção de magnésio via LFA-1 regula a função efetora das células T CD8+.** Célula 185, 585–602
5. CHAUVIN, S.D. et al. (2022) **Um estudo duplo-cego, controlado por placebo, estudo cruzado da suplementação de magnésio em pacientes com doença XMEN.** J. Clin. Immunol. 42, 108–118
6. AL ALAWI, AM et al. (2018) **Magnésio e saúde humana: perspectivas e direções de pesquisa.** Int. J. Endocrinol. 2018, 9041694
7. TRAPANI, V. e WOLF, F.I. (2019) **A desregulação da homeostase de Mg<sup>2+</sup> contribui para a aquisição de características do câncer.** Cálcio Celular 83, 102078
8. DAW, C.C. et al. (2020) **O lactato provoca Mg<sup>2+</sup> mitocondrial ER + dinâmica para integrar o metabolismo celular.** Célula 183.474 –489
9. DOHERTY, J.R. et al. (2014) **Bloquear a exportação de lactato inibindo o alvo Myc MCT1 desativa a glicólise e a glu-síntese de tationa.** Câncer Res. 74, 908–920
10. VARDHANA, S.A. et al. (2020) **Oxidativo mitocondrial prejudicado a fosforilação limita a auto-renovação das células T expostas ao antígeno persistente.** Nat. Immunol. 21, 1022–1033
11. FEIGELSON, S.W. et al. (2018) **Os ICAM não são obrigatórios para sinapses imunes funcionais entre células T CD4 virgens e DCs de linfonodos.** Rep. de células 22, 849–859