

# DESENVOLVIMENTO E ATIVAÇÃO DE LINFÓCITOS

PROF. UDERLEI

# DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS

A maturação dos linfócitos B e T envolve uma série de eventos nos órgãos linfoides geradores.

Estes eventos incluem os seguintes itens:

- 1º ) ***Comprometimento de células progenitoras*** com linhagem linfoide B ou T.
- 2º) ***Proliferação*** de progenitoras e células imaturas comprometidas nos estágios iniciais
- 3º) ***Recombinação e expressão dos genes dos receptores de antígenos***
- 4º) ***Eventos de seleção*** que preservam as células produtoras de proteínas receptoras de antígeno funcionais.
- 5º) ***Diferenciação das células B e T em subpopulações funcionalmente e fenotipicamente distintas.***

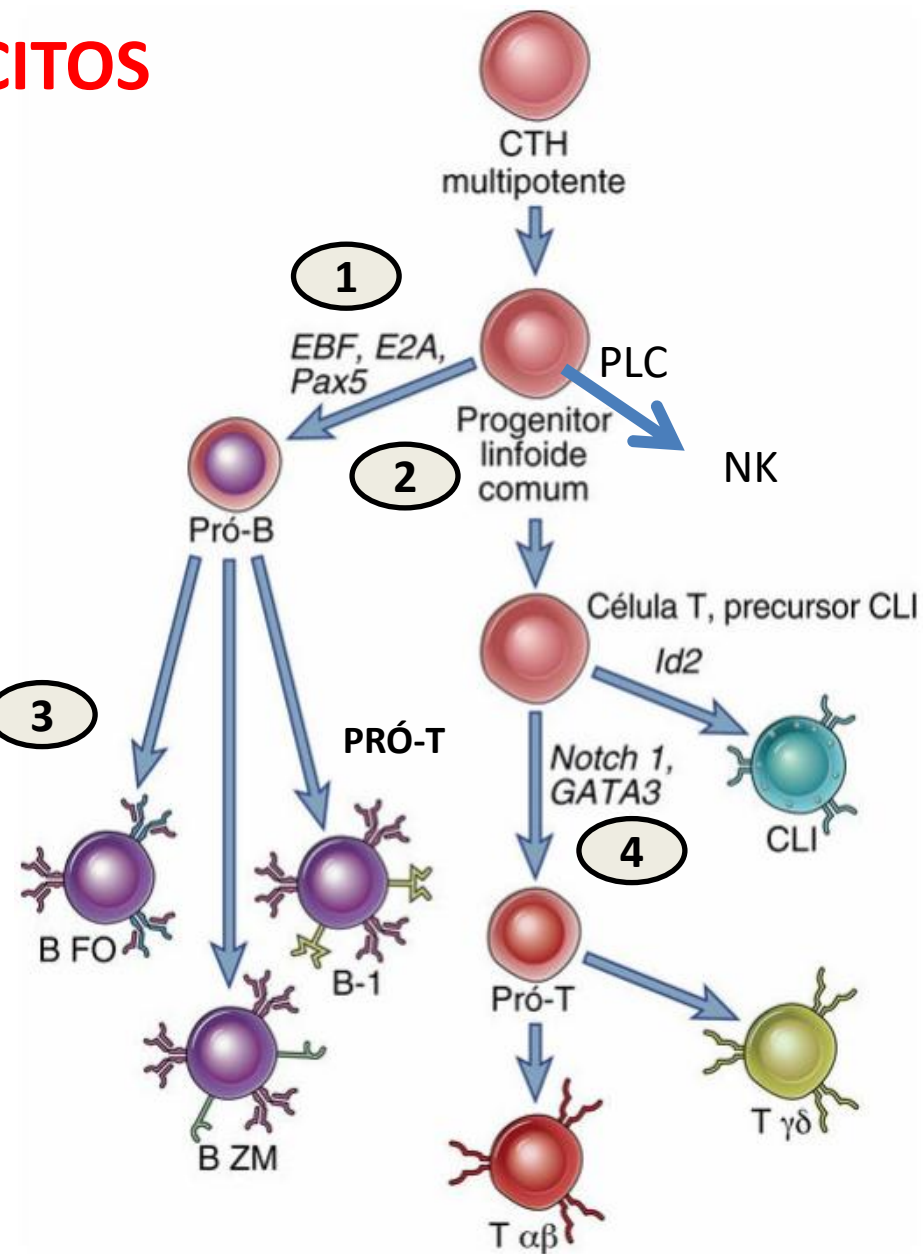
# DESENVOLVIMENTO LINFÓCITOS

1) Células-Tronco Hematopoéticas (CTH) originam Progenitores Linfóide Comum (PLC).

2) PLCs originam células B e T, além da NK.

3) Células pró-B diferenciam-se em LB Foliculares (FO), LB da Zona Marginal (ZM) e LB-1.

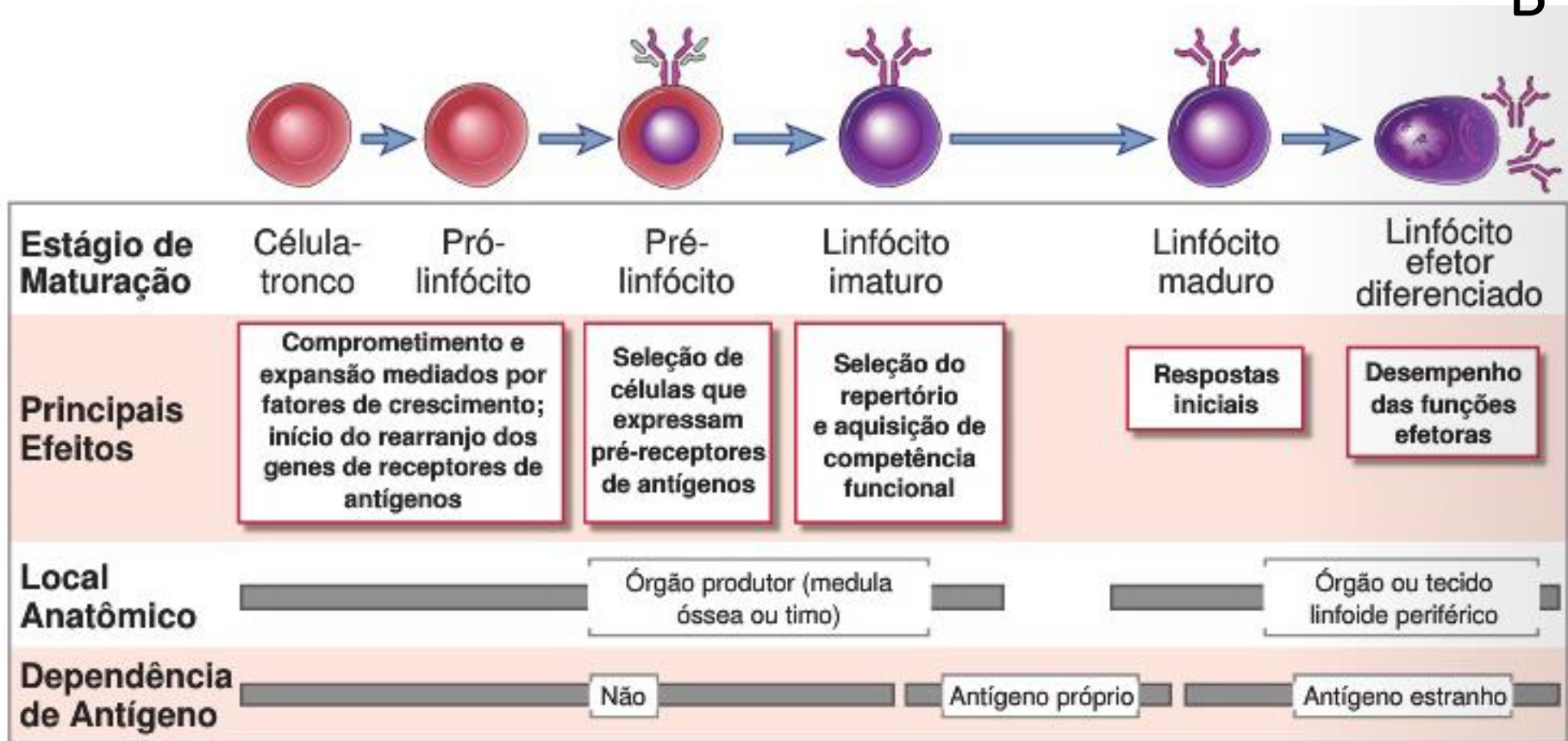
4) As células pró-T podem transformar em células T  $\alpha\beta$ ,  $\gamma\delta$  ou CLI (Células Linfóides Inatas).



O comprometimento com diferentes linhagens é conduzido por vários fatores de transcrição, indicados em itálico.

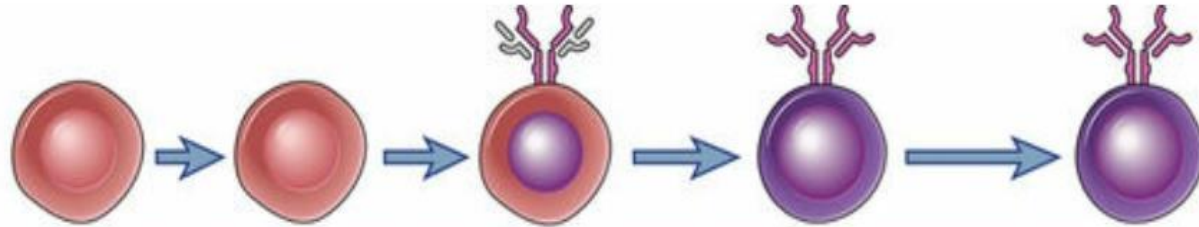
# Estágios da maturação de linfócitos

B



Estágios de maturação de Linfócitos B e T. A ilustração mostra a maturação das células B, mas os estágios básicos da maturação das células T são semelhantes.

# DESENVOLVIMENTO LINFÓCITOS



Estágio de Maturação	Célula-tronco	Pró-linfócito	Pré-linfócito	Linfócito imaturo	Linfócito maduro
Eventos Principais	Comprometimento e proliferação mediados pelo fator de crescimento; início do rearranjo do gene do receptor de antígeno		Seleção das células que expressam receptores pré-antígenos	Seleção do repertório e aquisição de competência funcional	
Local Anatômico	Órgão gerador (medula óssea ou timo)			Órgão ou tecido linfóide periférico	
Dependência de Antígeno	Não			Antígeno próprio	

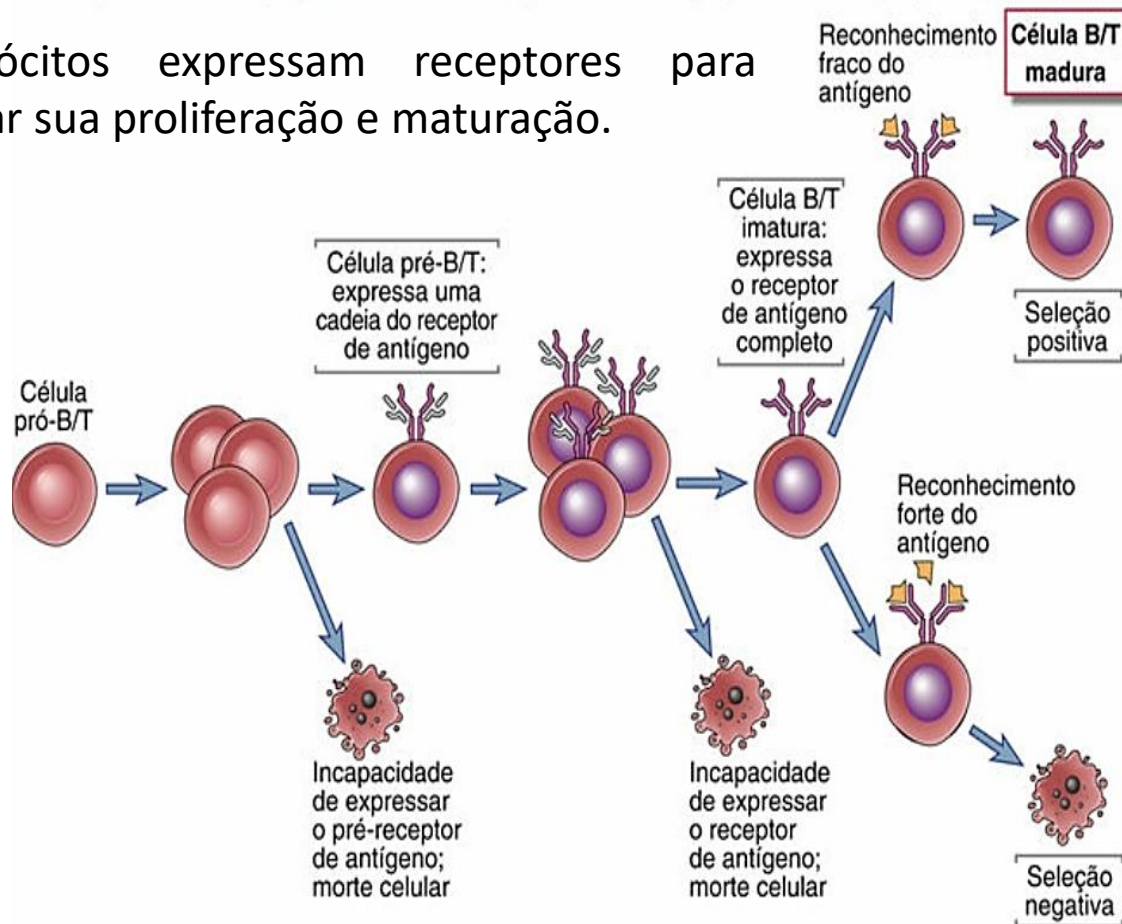
Desenvolvimento ou maturação de linfócitos: processo onde os progenitores dos linfócitos no timo e na medula óssea se diferenciam em linfócitos maduros localizados em tecidos linfóides periféricos.

# Pontos de controle na maturação dos linfócitos



1

Os linfócitos expressam receptores para continuar sua proliferação e maturação.



3

A seleção positiva/negativa preserva células com especificidades úteis.

2

Células que não expressam receptores funcionais ou que ligam-se fortemente ao antígeno morrem por apoptose.

# Questão

A seleção positiva e negativa dos linfócitos são processos que ocorrem no timo e que determinam quais células amadurecerão e serão liberadas para o sistema imunológico. Descreva como são selecionados esses LT?

Direcionamento:

- Expressão de pré e de receptores.
- Ligação receptor com antígeno.

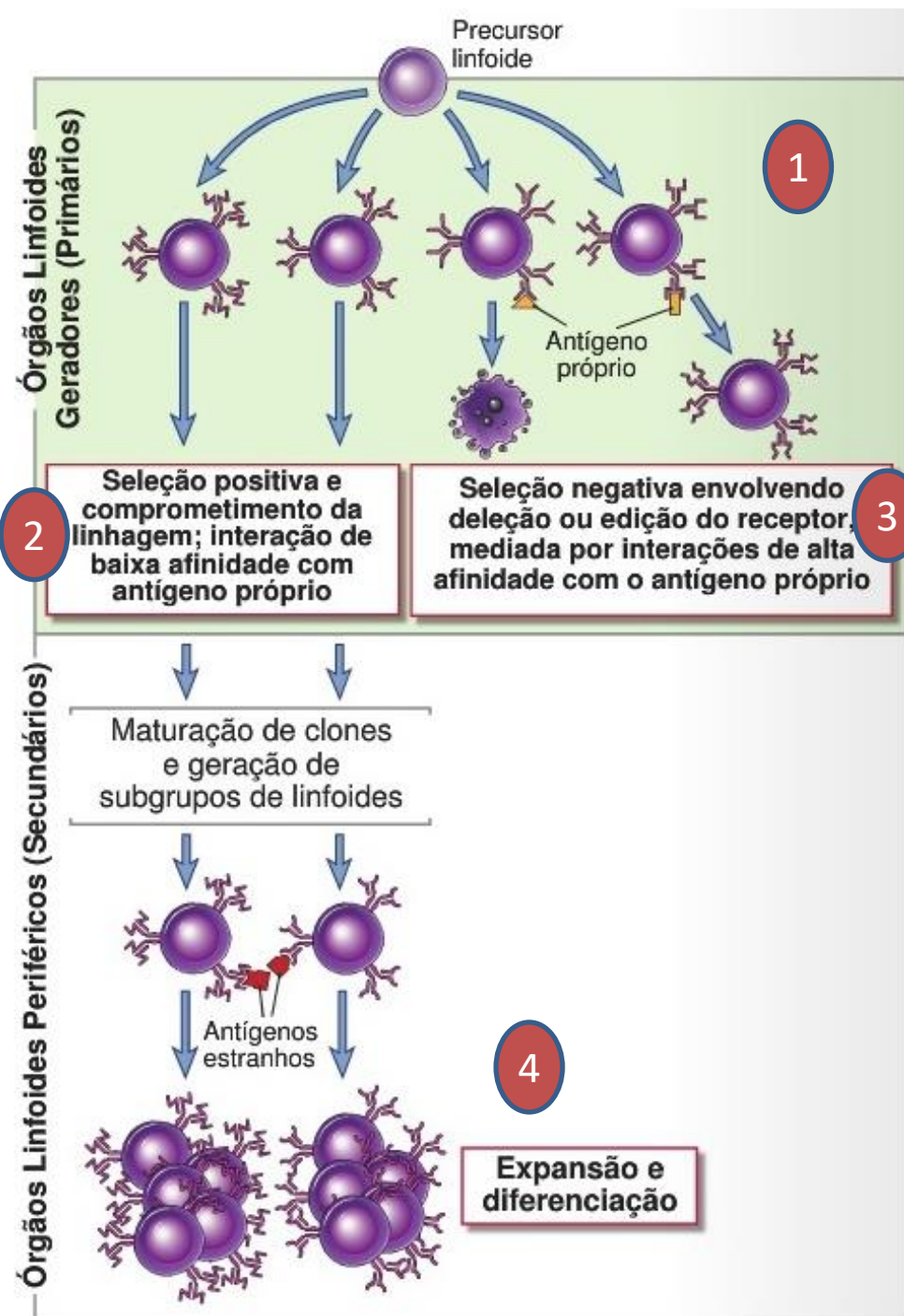
# Seleção positiva/negativa durante a maturação dos linfócitos

1) As células que expressam receptores de antígenos, sofrem seleção positiva ou negativa nos órgãos linfóides geradores.

2) **Seleção positiva:** precursores se ligam a ligante próprio com baixa afinidade (sobrevivem e continuam maturação).

3) **Seleção negativa:** Se ligam com alta afinidade aos antígenos (morte celular)

4) Linfócitos selecionados entram em tecidos linfóides respondendo a antígenos estranhos



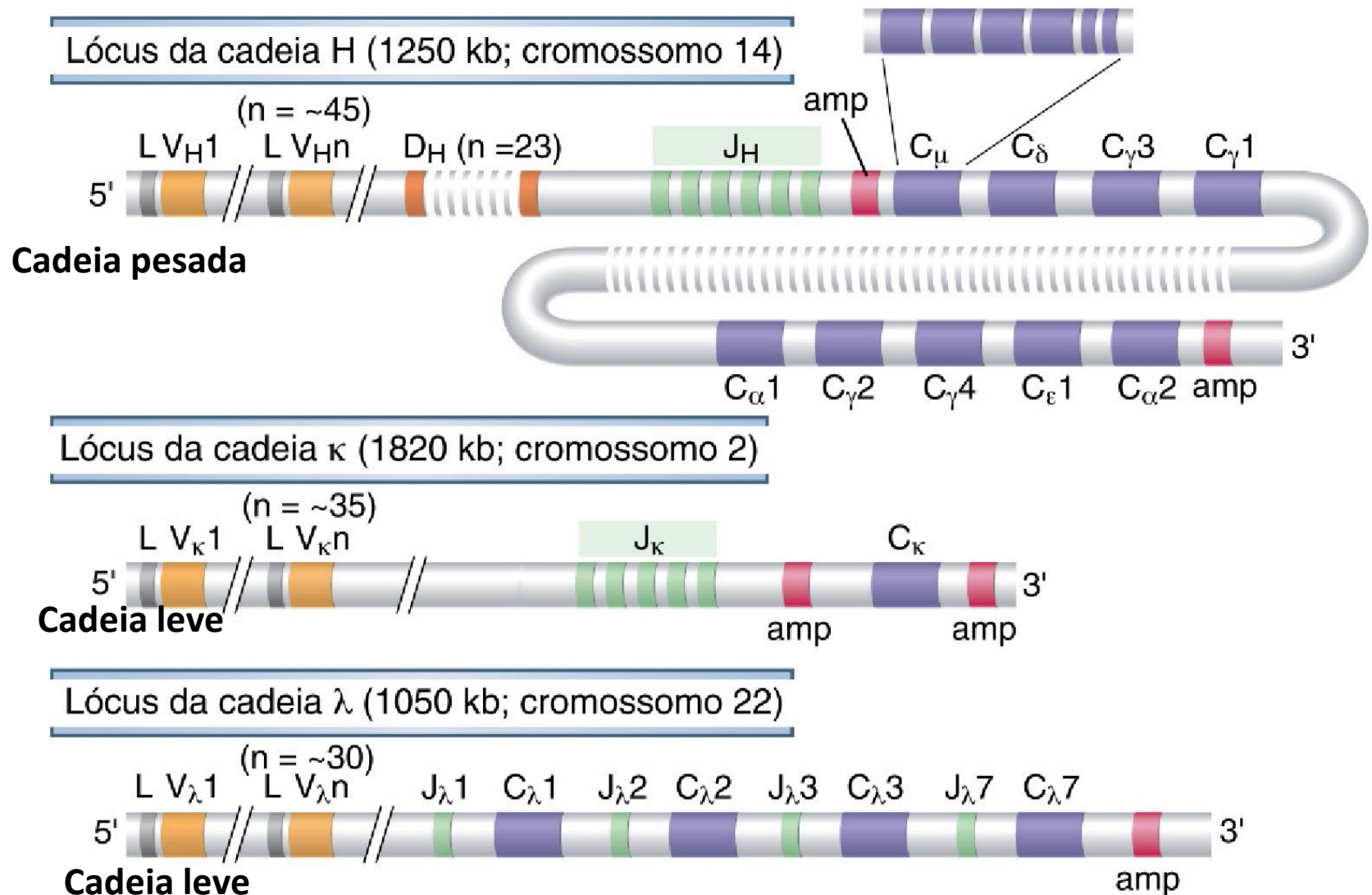
# Questão

Qual a importância da seleção desses linfócitos acontecer nessa etapa a partir do reconhecimento de antígenos próprios?

# Rearranjos Gênicos dos receptores de antígenos: Ig (Imunoglobulina) e do TCR (Receptor de Célula T)

- Genes da Ig em linfócitos B (BCR) e genes do TCR nas células T
- RECOMBINAÇÃO GÊNICA (no DNA)
- Os genes dos receptores de antígeno são gerados pelo rearranjo dos segmentos gênicos: região comum (**C**), região variável (**V**), diversidade (**D**) e junção (**J**).
- Na Ig, ocorre a formação de novos éxons pelo rearranjo do gene. Acontece a fusão de um segmento gênico **V**, distante e específico, com outro segmento. Este processo especializado de rearranjo de genes em locais específicos é denominado **recombinação V(D)J**.

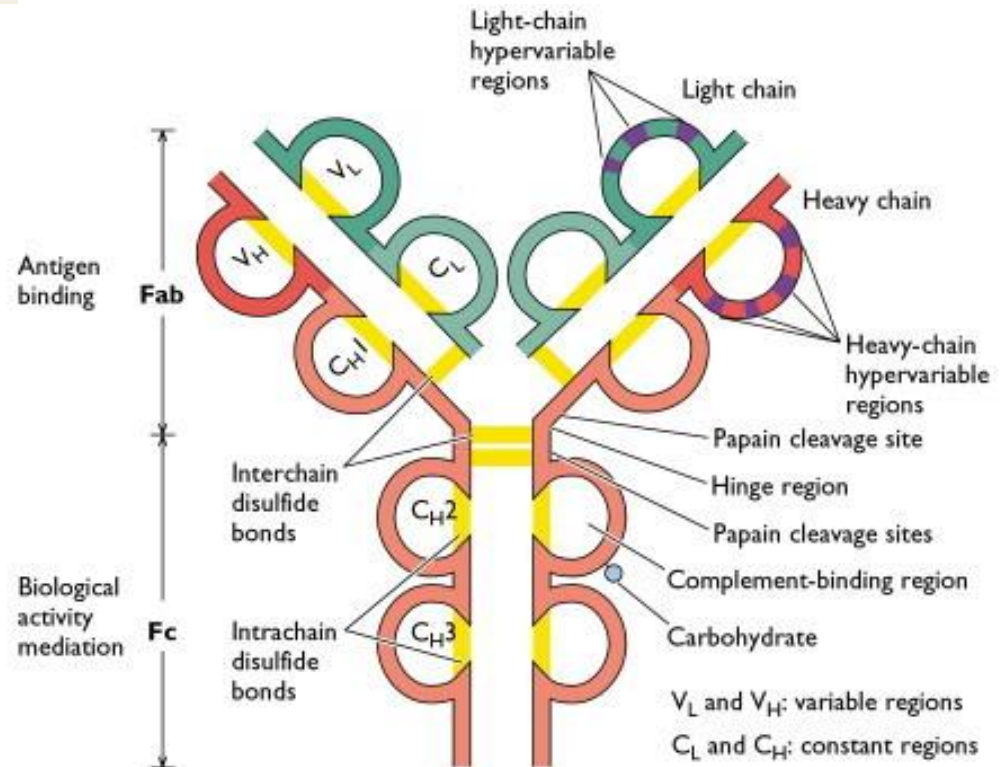
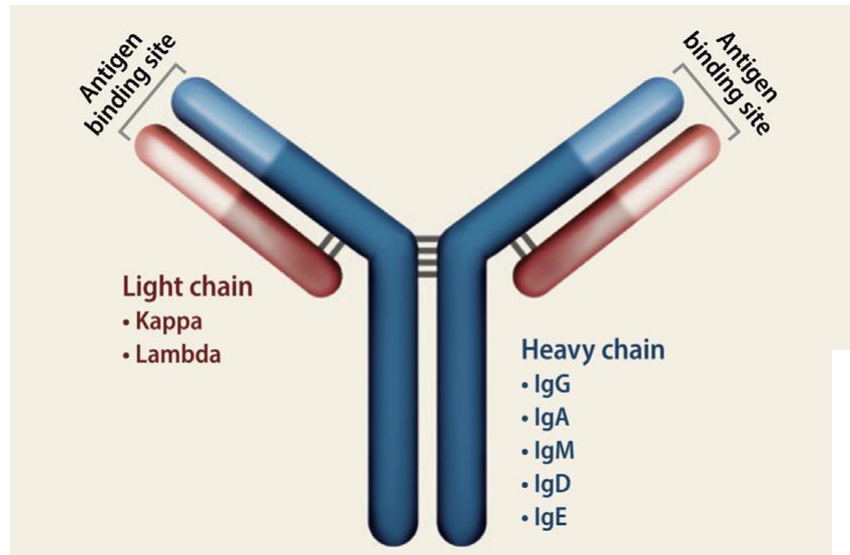
# Imunoglobulina (Ig)

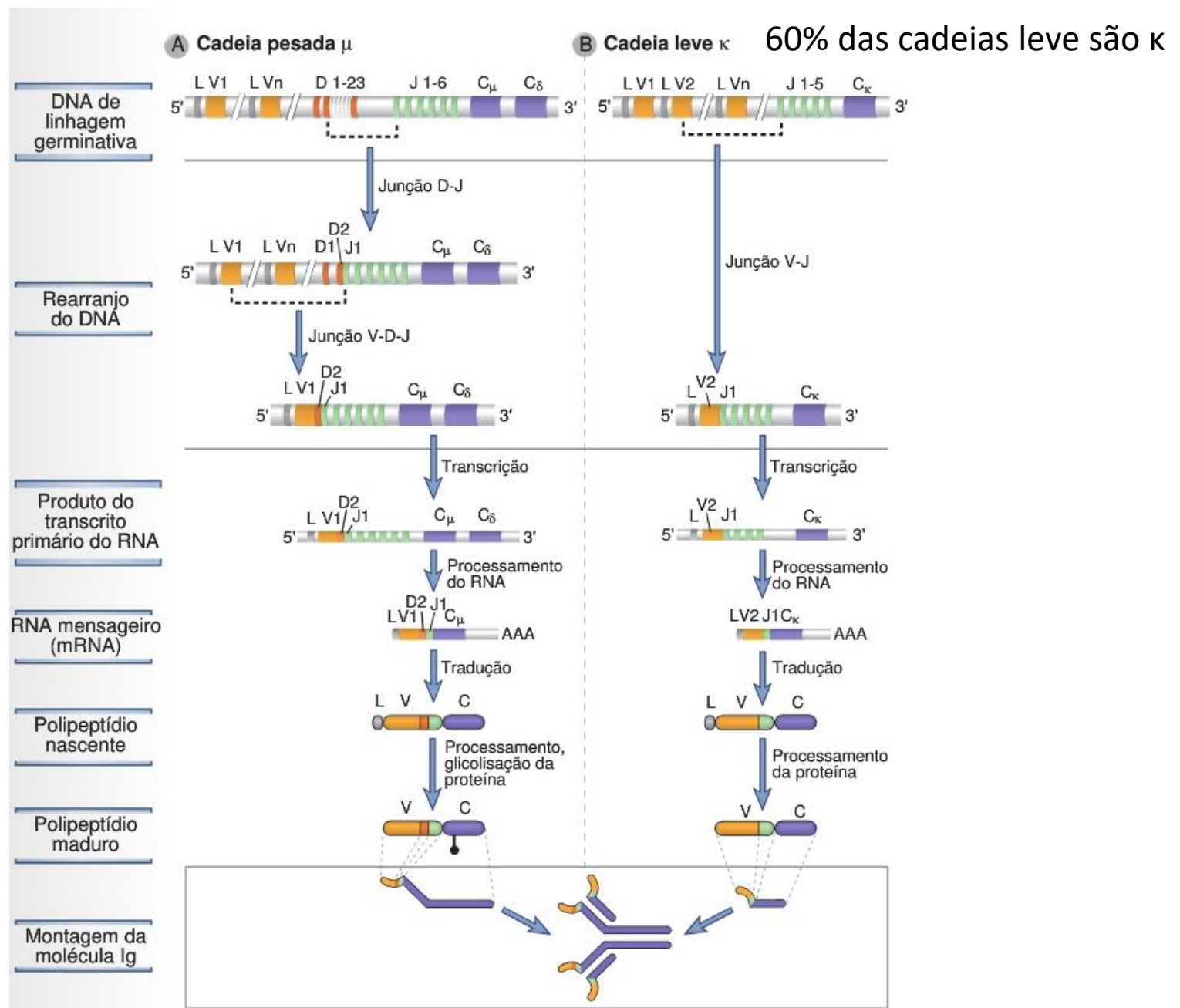


Os *loci* da cadeia pesada (H) e da cadeia leve (K) da Ig humanas

Onde Domínios: V= variável, D= diversidade, J= junção, C= constante e amp= amplificador (enhancer)

# Estrutura da imunoglobulina

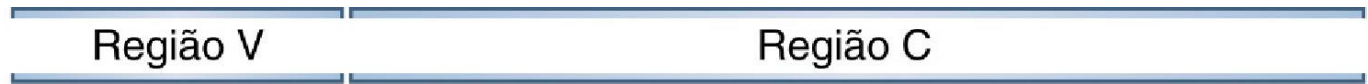




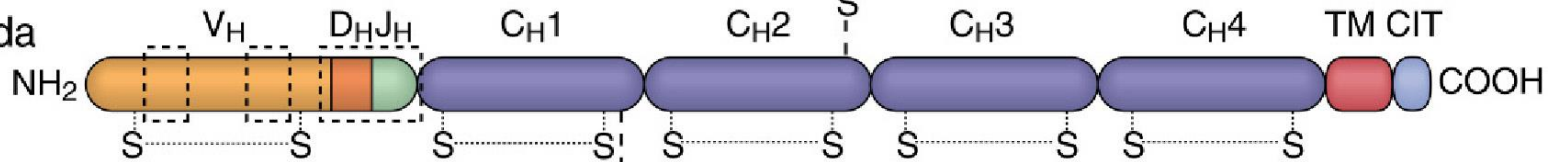
Recombinação e expressão dos genes das cadeias pesadas e leves das Ig

A

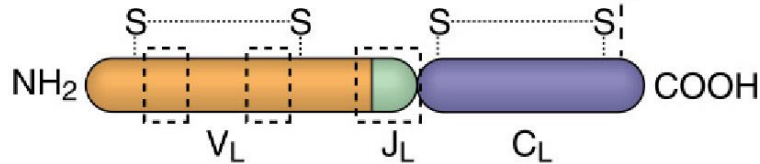
## Ig BCR



Cadeia ( $\mu$ ) pesada da Ig (forma de membrana)



Cadeia leve da Ig

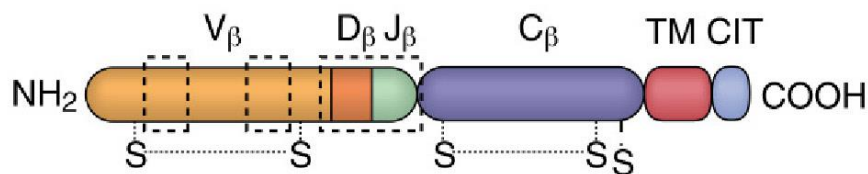


Células B

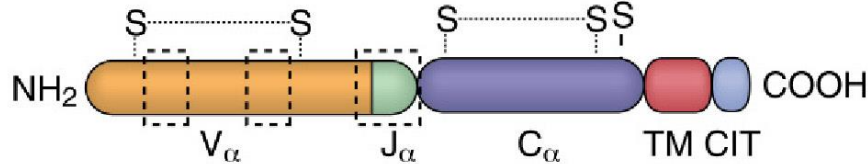
B

## TCR

Cadeia  $\beta$  do TCR



Cadeia  $\alpha$  do TCR



Células T

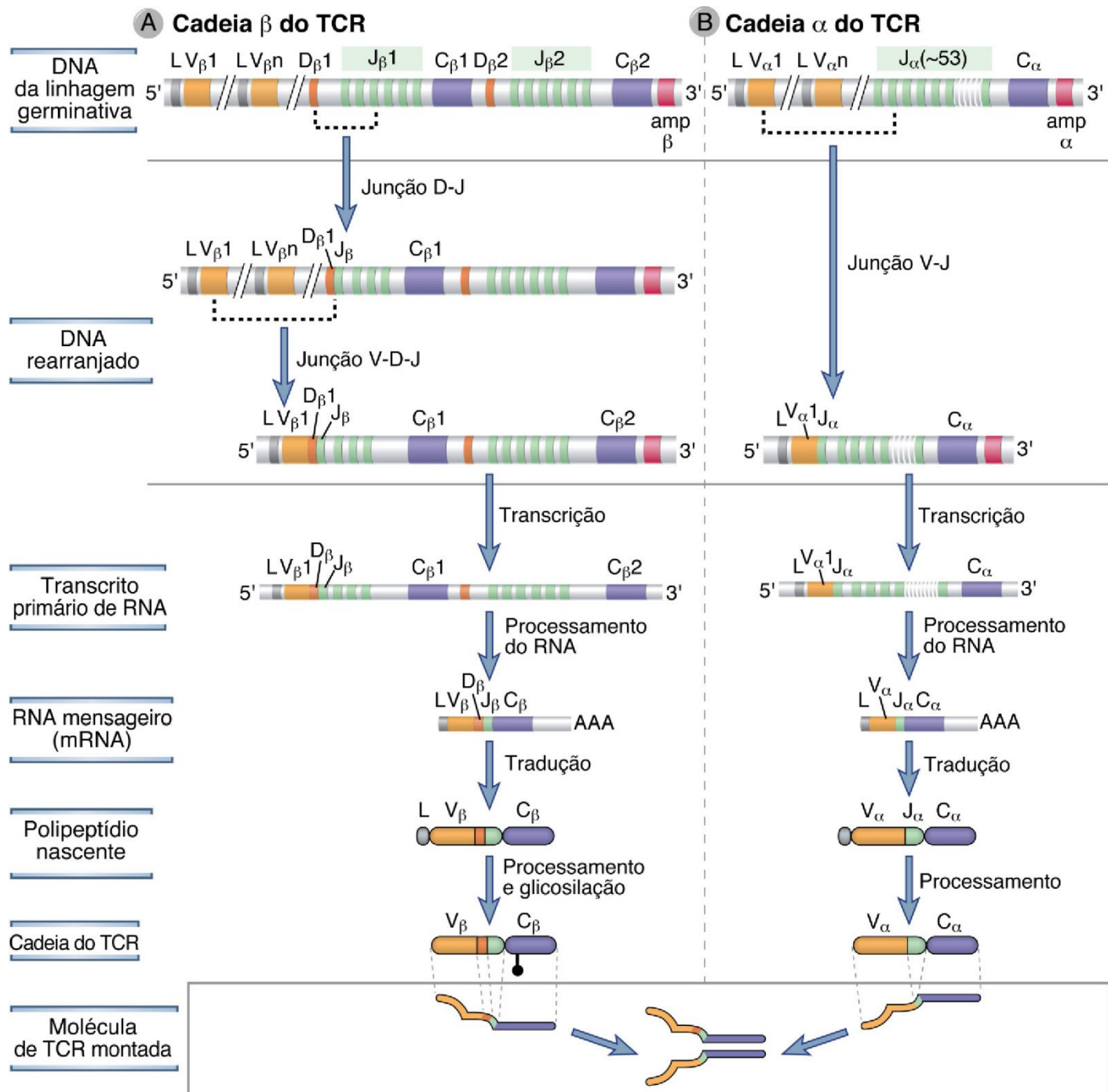
Domínios: V= variável, D= diversidade, J= junção, C= constante, TM= transmembrana e CIT= citoplasmático

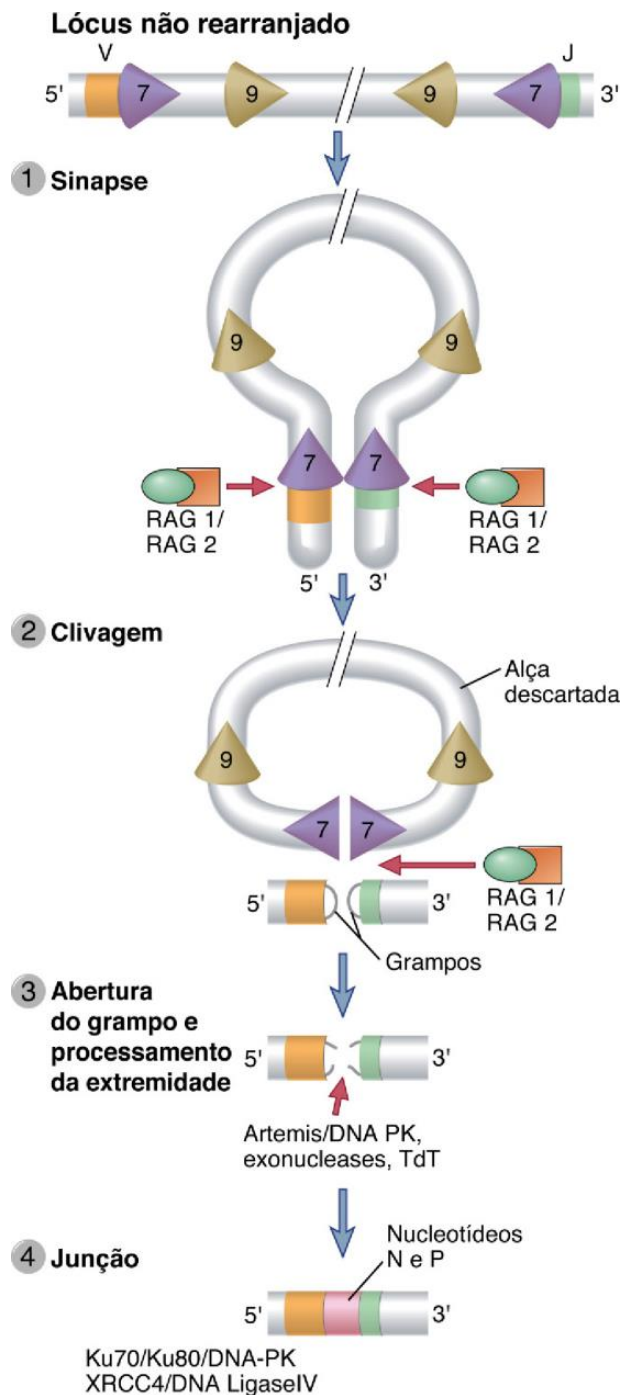
# Domínios das proteínas das Ig e do TCR

**A:** Os domínios das cadeias pesada e leve das Ig (Cél B)

**B:** Os domínios das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  do TCR (Cel T)

- Os domínios das cadeias polipeptídicas do receptor de antígeno estão indicadas.
- As regiões V e C de cada polipeptídeo estão codificadas por diferentes segmentos gênicos.
- As localizações das pontes dissulfeto (S-S) intracadeias e intercadeias são aproximadas.
- As áreas nos retângulos tracejados são regiões hipervariáveis (determinadoras de complementariedade).





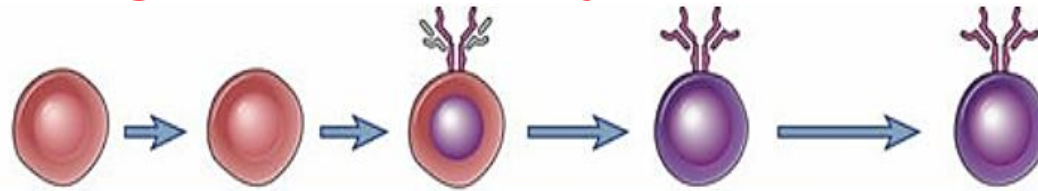
- As proteínas Rag são expressas nos estágios G0 e G1 do ciclo celular
- Os genes *RAG* são específicos de células linfoides e somente são expressos nas células B e T em desenvolvimento.

- A deficiência de Rag-1 ou Rag-2 também é uma causa rara de Síndrome Congênita Imuno Deficiência (ausência de linfócitos)
- Camundongos sem genes *Rag1* ou *Rag2* funcionais (camundongos *knockout Rag*) não desenvolvem linfócitos B ou T.

# Questão

Qual a importância da recombinação genética que acontece durante o desenvolvimento dos linfócitos (recombinação V(D)J)?

# Estágios de maturação da célula B



Estágio de maturação	Célula-tronco	Pró-B	Pré-B	B imaturo	B maduro
<b>Proliferação</b>	[Barra cinza]		[Barra cinza]		
<b>Expressão de RAG</b>		[Barra cinza]		[Barra cinza]	
<b>Expressão de TdT</b>		[Barra cinza]			
<b>DNA, RNA das Ig</b>	DNA não recombinado (da linhagem germinativa)	DNA não recombinado (da linhagem germinativa)	Gene da cadeia H recombinado (VDJ); mRNA $\mu$	Gene da cadeia H recombinado (VDJ), genes $\kappa$ ou $\lambda$ (VJ); mRNA $\mu$ , $\kappa$ ou $\lambda$	Processamento ( <i>splicing</i> ) alternativo do RNA VDJ-C (transcrito primário), para formar o mRNA $C_{\mu}$ e $C_{\delta}$
<b>Expressão das Ig</b>	Nenhuma	Nenhuma	$\mu$ citoplasmático e $\mu$ associado ao receptor pré-B	IgM de membrana (cadeia leve $\kappa$ ou $\lambda$ , $\mu$ +)	IgM e IgD de membrana
<b>Marcadores de superfície</b>	CD43 <sup>+</sup>	CD43 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup>	B220 <sup>lo</sup> CD43 <sup>+</sup>	IgM <sup>lo</sup> CD43 <sup>-</sup>	IgM <sup>hi</sup>
<b>Local anatômico</b>	[Barra cinza] Medula óssea			[Barra cinza] Periferia	
<b>Resposta ao antígeno</b>	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Seleção negativa (deleção), edição do receptor	Ativação (proliferação e diferenciação)

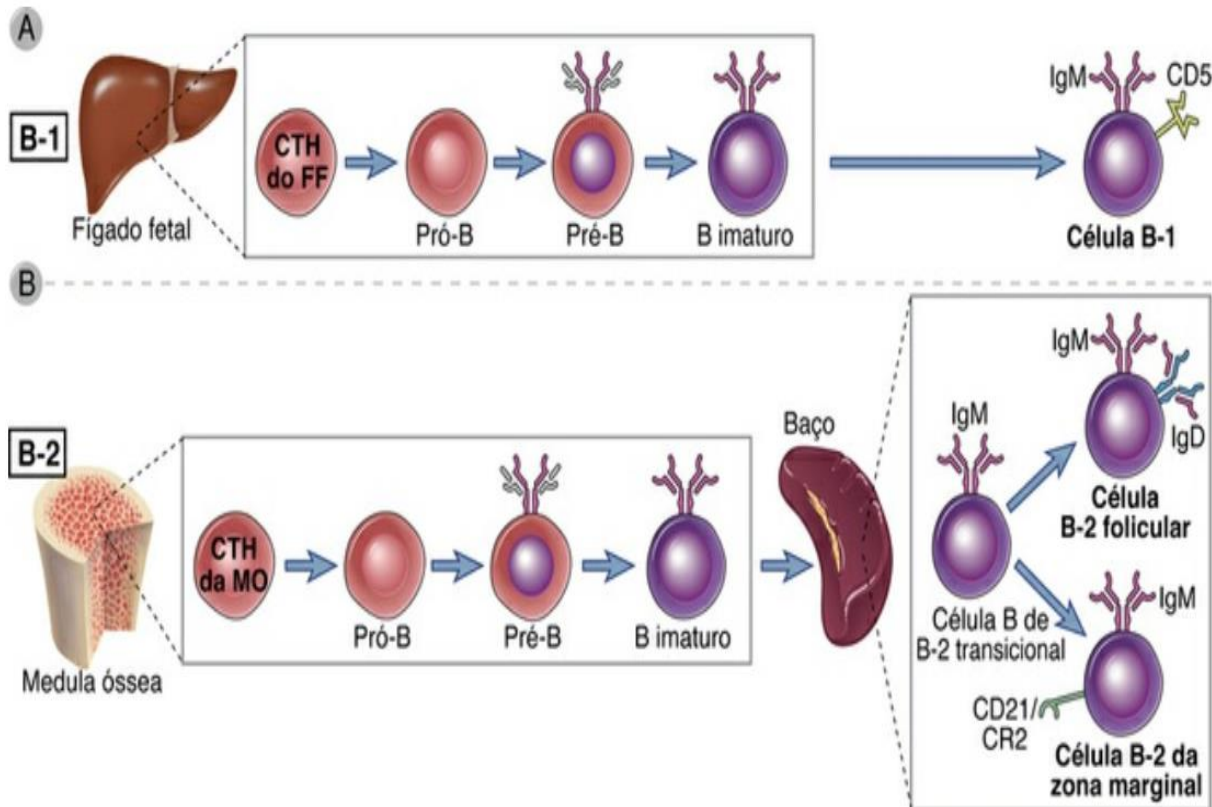
**RAG: gene ativador da recombinação 1 e 2 (*RAG1* e *RAG2*)**

**(TdT): enzima desoxinucleotidil transferase terminal (adiciona novos nucleotídeos)**

# DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS B

**B1 - Células B das células tronco do fígado fetal produzem a linhagem B-1 - IgM.**

**B2 - Células B da medula óssea (pós nascimento) originam à linhagem B-2.**



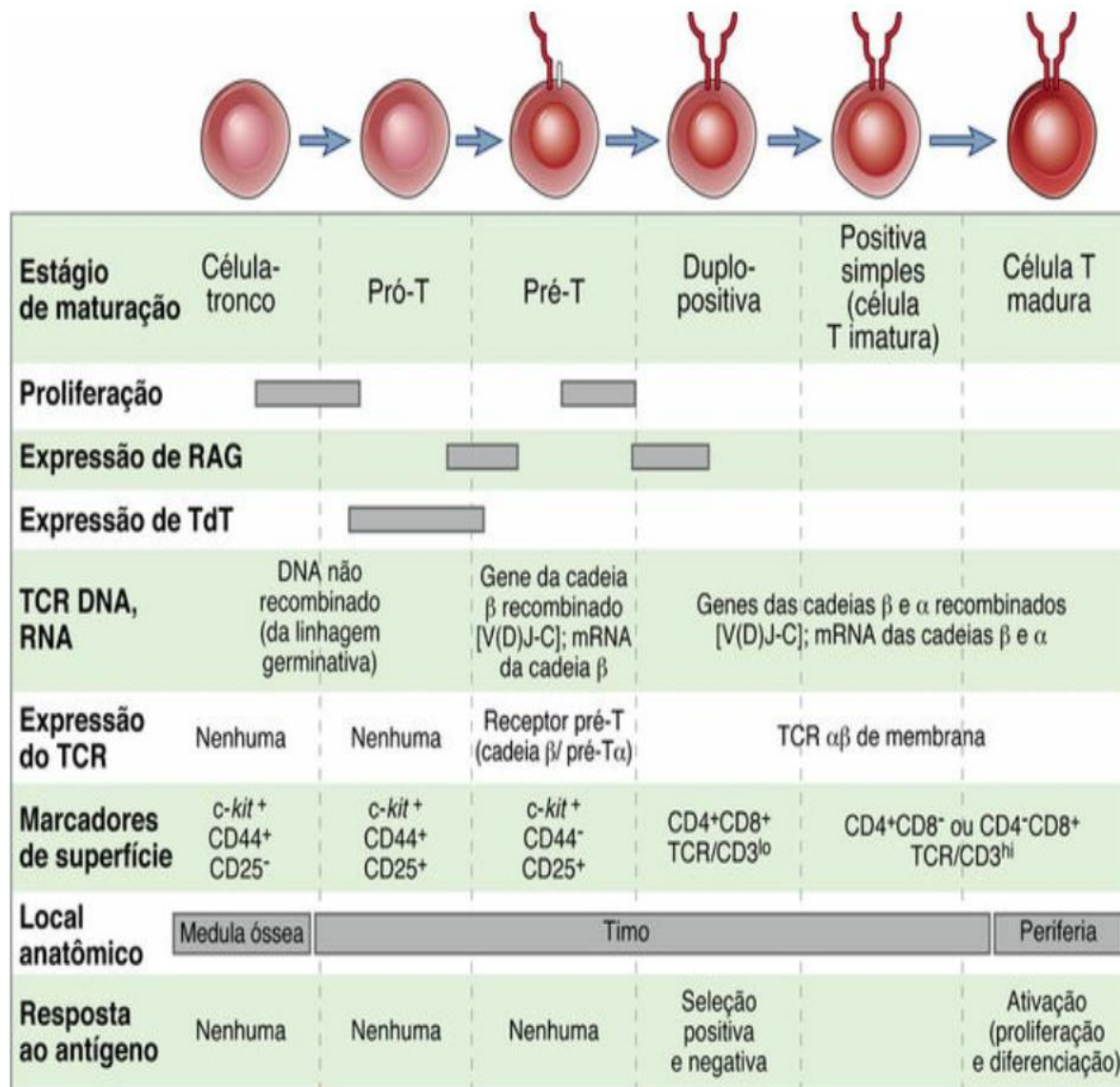
Os LB amadurecem em LB foliculares no baço (expressam IgM e IgD na superfície) e adquirem a capacidade de recircular e ocupar todos os órgãos linfoides periféricos.

Antes do nascimento, os LB se desenvolvem a partir de precursores comprometidos no fígado fetal, e após o nascimento, as células B são geradas na medula óssea.

# DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS B

- As células B-1 contribuem para a produção rápida de anticorpos contra micro-organismos em tecidos particulares, tais como o peritônio.
- As células B foliculares são linfócitos recirculantes.
- As células B da zona marginal são abundantes no baço e também podem ser encontradas nos linfonodos em humanos.

# DESENVOLVIMENTO DE LINFÓCITOS T



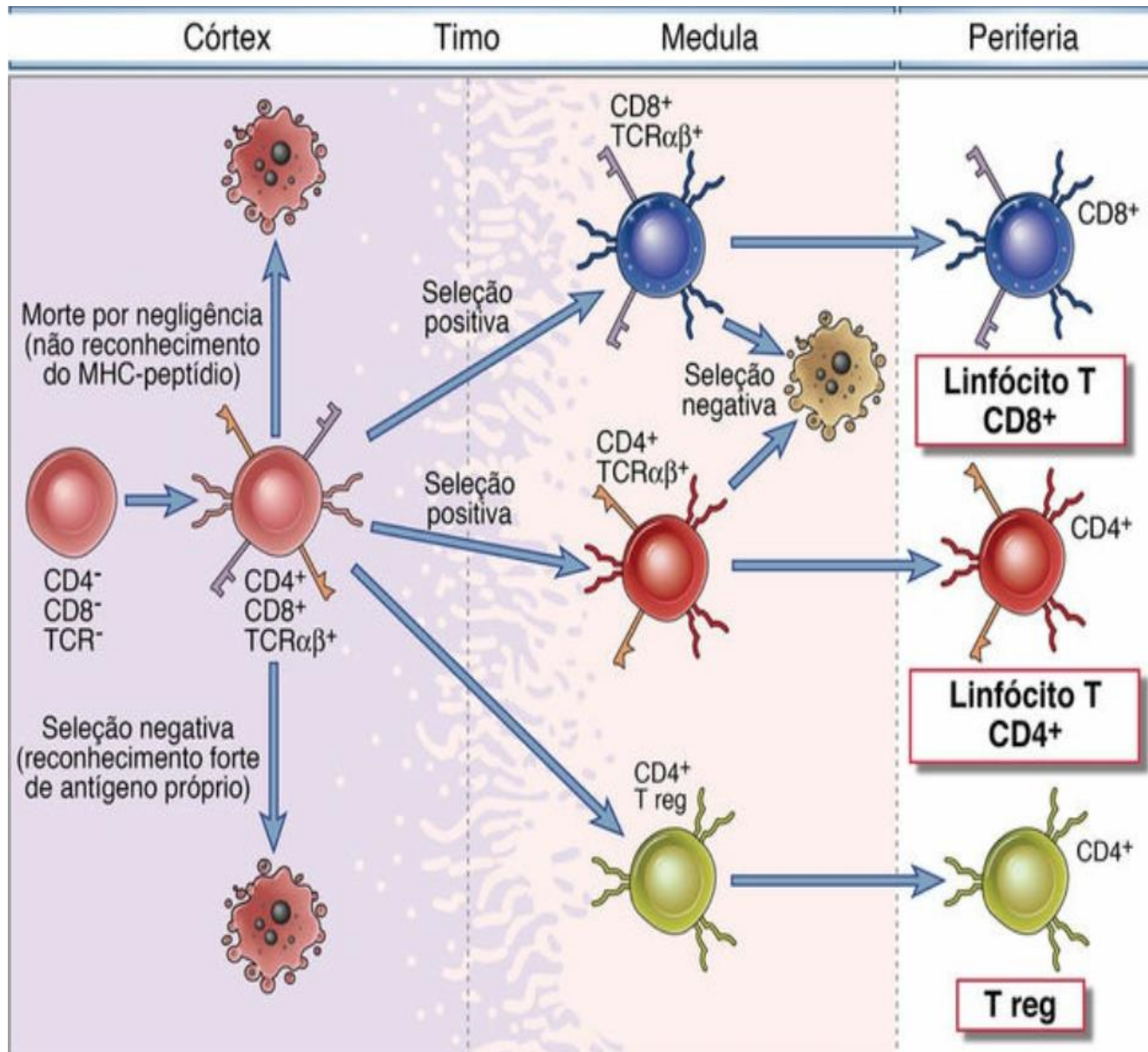
Maturação da célula tronco da medula óssea até o linfócito T maduro.

Marcadores de superfície são produzidos para definir diferentes estágios de maturação.

# Estágios da maturação da célula T

- Os eventos correspondentes a cada estágio da maturação da célula T a partir da célula-tronco da medula óssea até o linfócito T maduro.
- **1º) Envolve o rearranjo sequencial e a expressão de genes do TCR.**
- **2º) Proliferação celular.**
- **3º) Seleção induzida por antígeno.**
- **4º) Comprometimento com subgrupos fenotipicamente e funcionalmente distintos.**

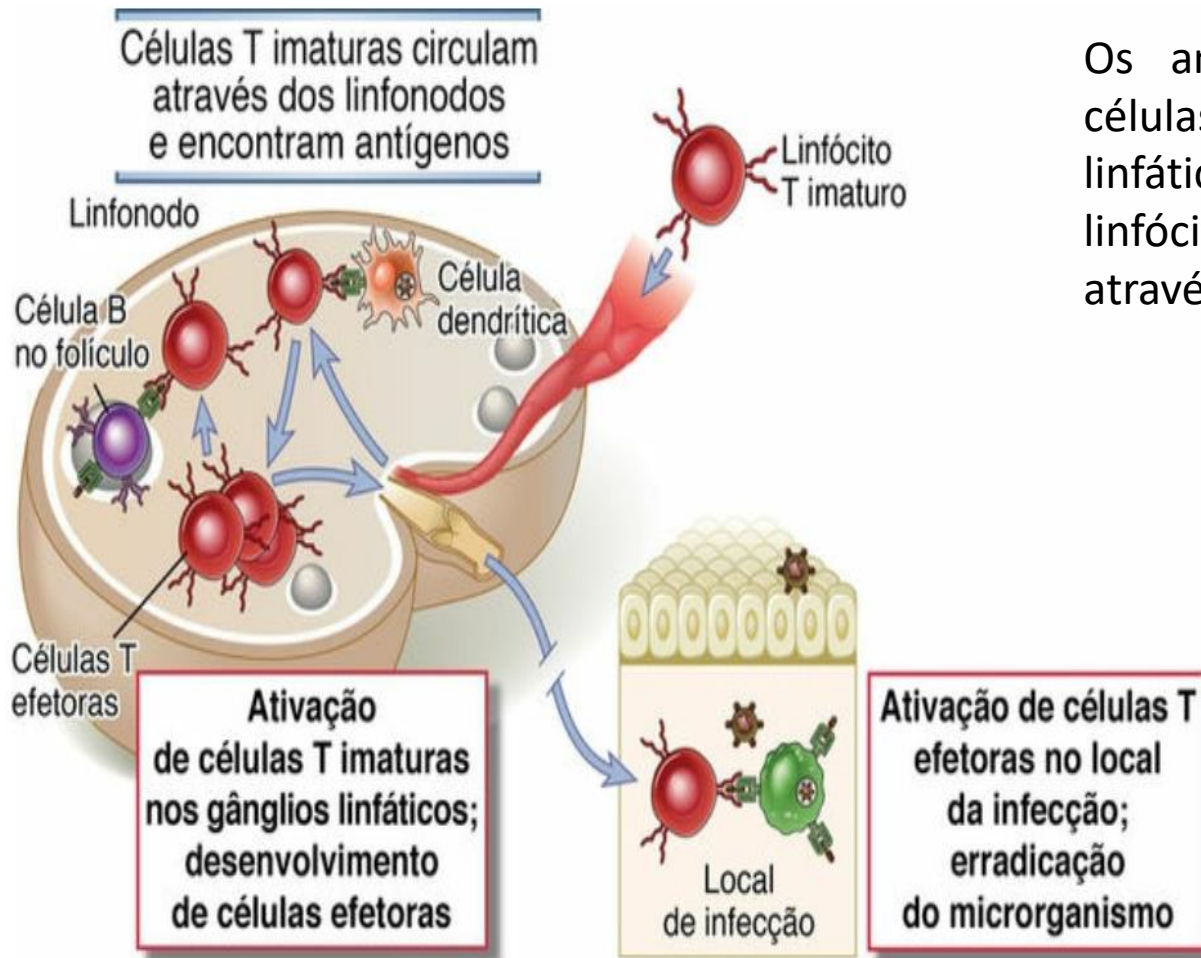
# Maturação das células T no timo



# Maturação das células T no timo

- Os precursores das células T viajam da medula óssea até o timo através da corrente sanguínea.
- No córtex do timo, os progenitores das células T  $\alpha\beta$  expressam TCRs e os correceptores CD4 e CD8.
- Os processos de seleção eliminam as células T autorreativas no córtex. Eles promovem a sobrevivência dos timócitos cujos TCRs se ligam a moléculas de MHC com baixa afinidade.
- A diferenciação funcional e fenotípica para células T CD4+CD8- ou CD8+CD4- ocorre na medula, e as células T maduras são liberadas na circulação.

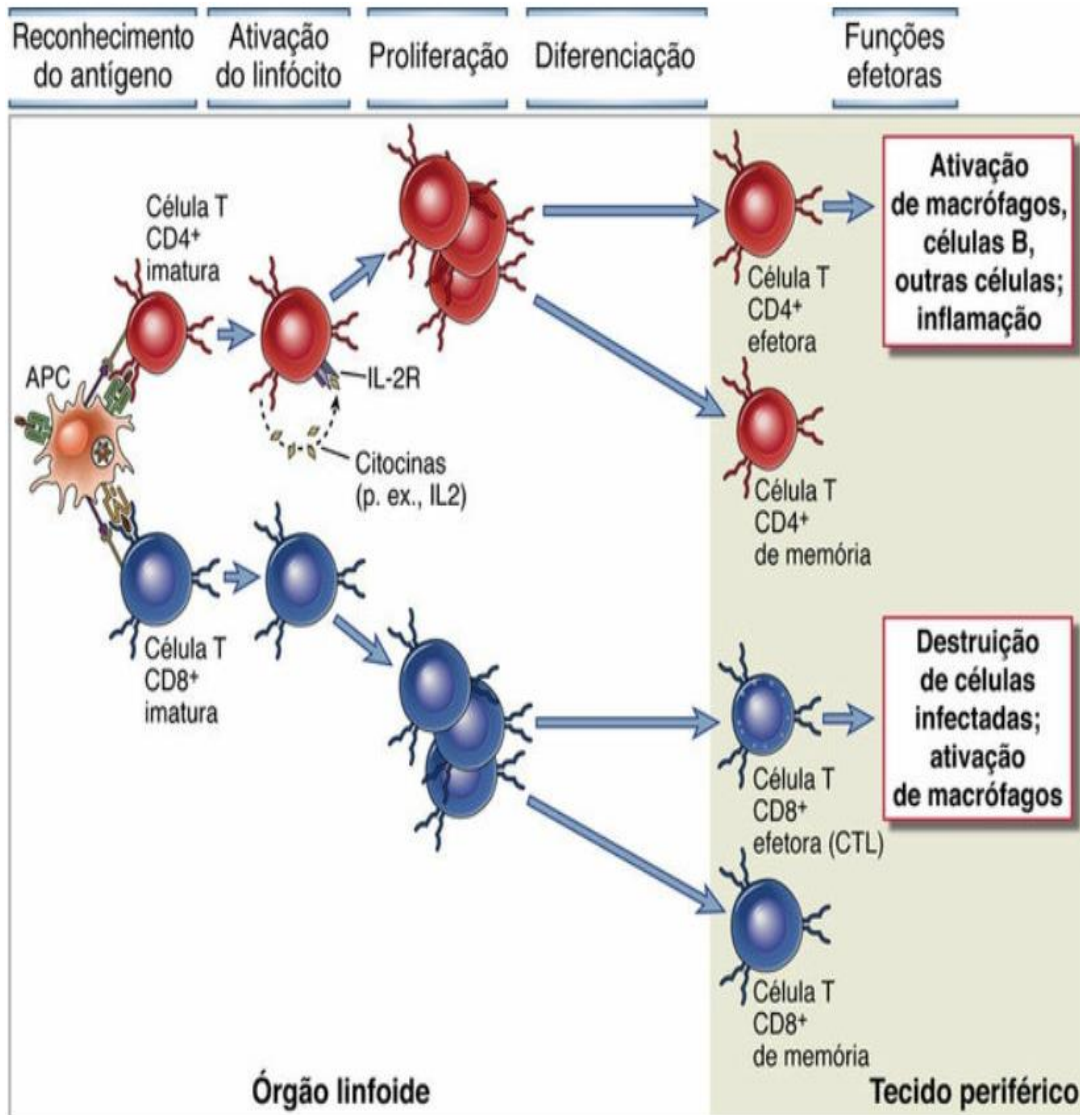
# ATIVAÇÃO DE CÉLULAS T IMATURAS E EFETORAS PELO ANTÍGENO



Os antígenos transportados pelas células dendríticas para os gânglios linfáticos são reconhecidos pelos linfócitos T imaturos que recirculam através destes gânglios linfáticos.

As células T são ativadas em células efectoras, que podem permanecer nos órgãos linfóides para auxiliar os linfócitos B ou migrar para os locais de infecção.

# ATIVAÇÃO DE CÉLULAS T IMATURAS E EFETORAS PELO ANTÍGENO

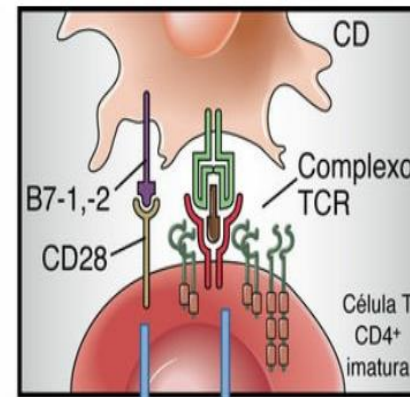


1º) O reconhecimento do antígeno pelos LT induz a secreção de citocinas (IL-2) por células T CD4+, expansão clonal (proliferação celular e diferenciação de células T) em células efectoras e de memória.

2º) As CTLs CD8+ respondem destruindo outras células.

# COESTIMULAÇÃO LINFÓCITOS T

Coestimulador B7  
Receptor CD28



Células Dendríticas

Linfócitos T

O acoplamento de CD28 induz vias de sinalização que aumentam os sinais de TCR para estimular a expressão de proteínas de sobrevivência, citocinas e receptores de citocinas; para promover a proliferação celular; e para induzir a diferenciação em células efetoras e de memória

Sinalizadores intermediários

PI-3 quinase/Akt  
RAS/MAP-quinase

Efeitos funcionais

↑ Produção de Bcl-X<sub>L</sub>, Bcl-2

↑ Secreção de IL-2, expressão de IL-2R

↑ Ciclinas/  
↓ Inibidores de ciclo celular

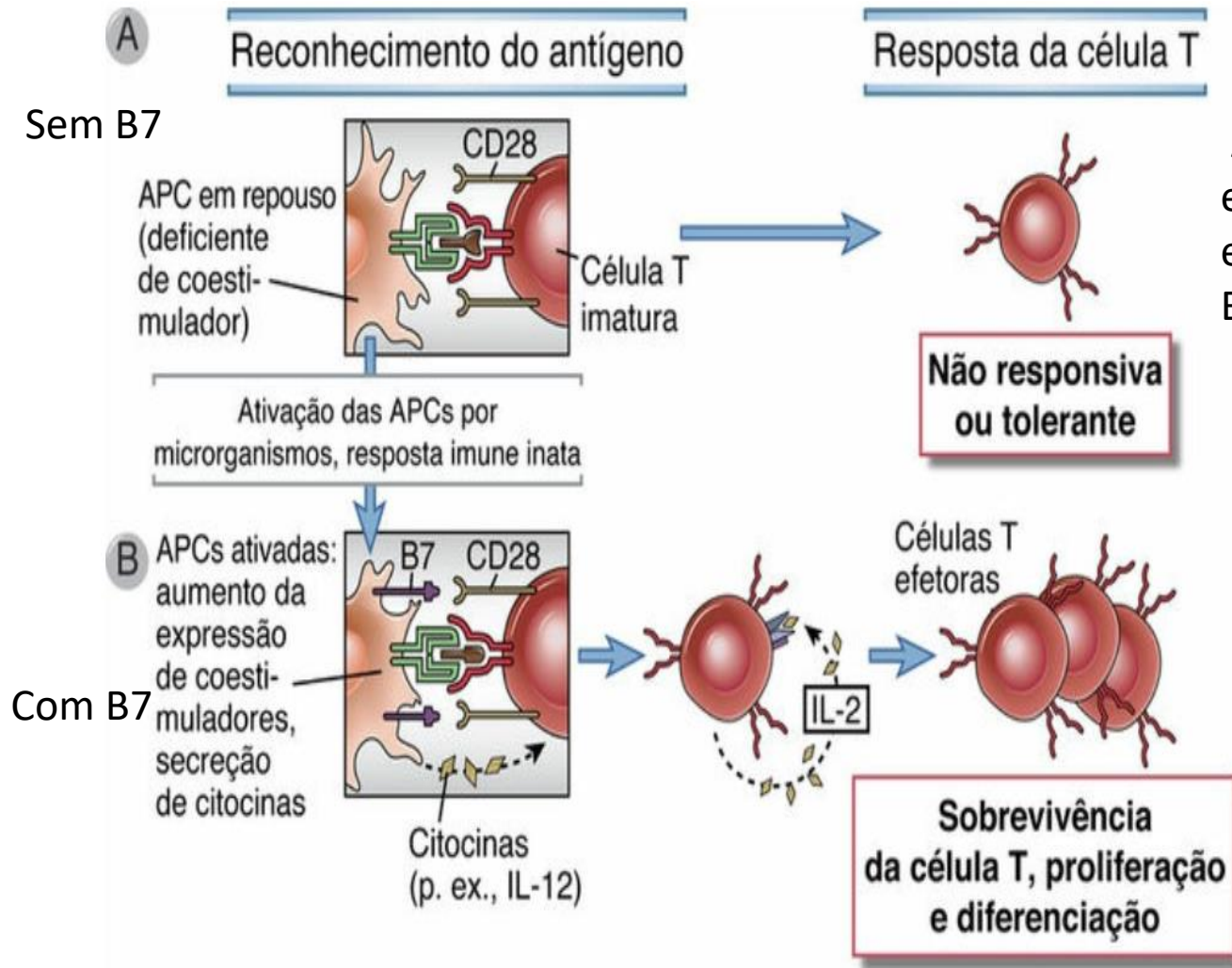
Mecanismos múltiplos

Sobrevivência celular

Proliferação celular

Diferenciação em células efetoras e de memória

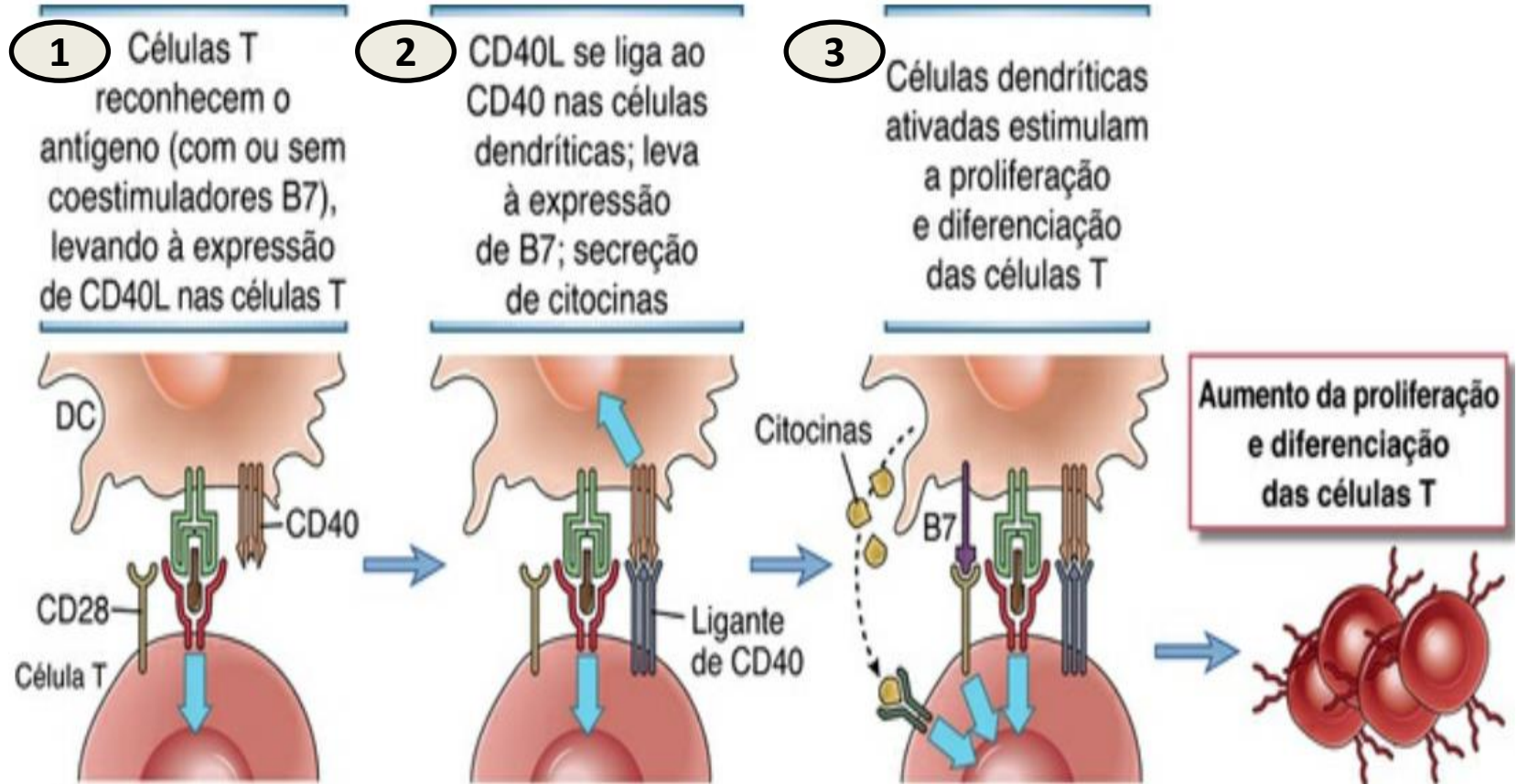
# COESTIMULAÇÃO LINFÓCITOS T



**A:** As APCs em repouso (CD) expressam poucos ou não expressam coestimuladores B7, não ativando LT imaturos.

**B:** Micro-organismos e citocinas da resposta imune inata ativam as APCs a expressarem coestimuladores B7. As APCs ativadas produzem citocinas (IL-12), que estimula a diferenciação de LT imaturas em células efetoras.

# COESTIMULAÇÃO LINFÓCITOS T



# Papel do CD40 na ativação de células T

- As células T imaturas são ativadas por complexos MHC-peptídeos nas APCs
- O reconhecimento do antígeno pelas células T em conjunto com alguma coestimulação induz a expressão do ligante de CD40 (CD40L) em células T ativadas. O CD40L acopla o CD40 nas APCs e pode estimular a expressão de várias moléculas B7 e a secreção de citocinas que ativam as células T. Assim, o CD40L nas células T torna as APCs melhores em promover e ampliar a ativação das células T.

# Questão

Explique a importância das interações entre CD e LT.

- TCR e MHC
- LCD40 e CD40
- CD 28 e B7

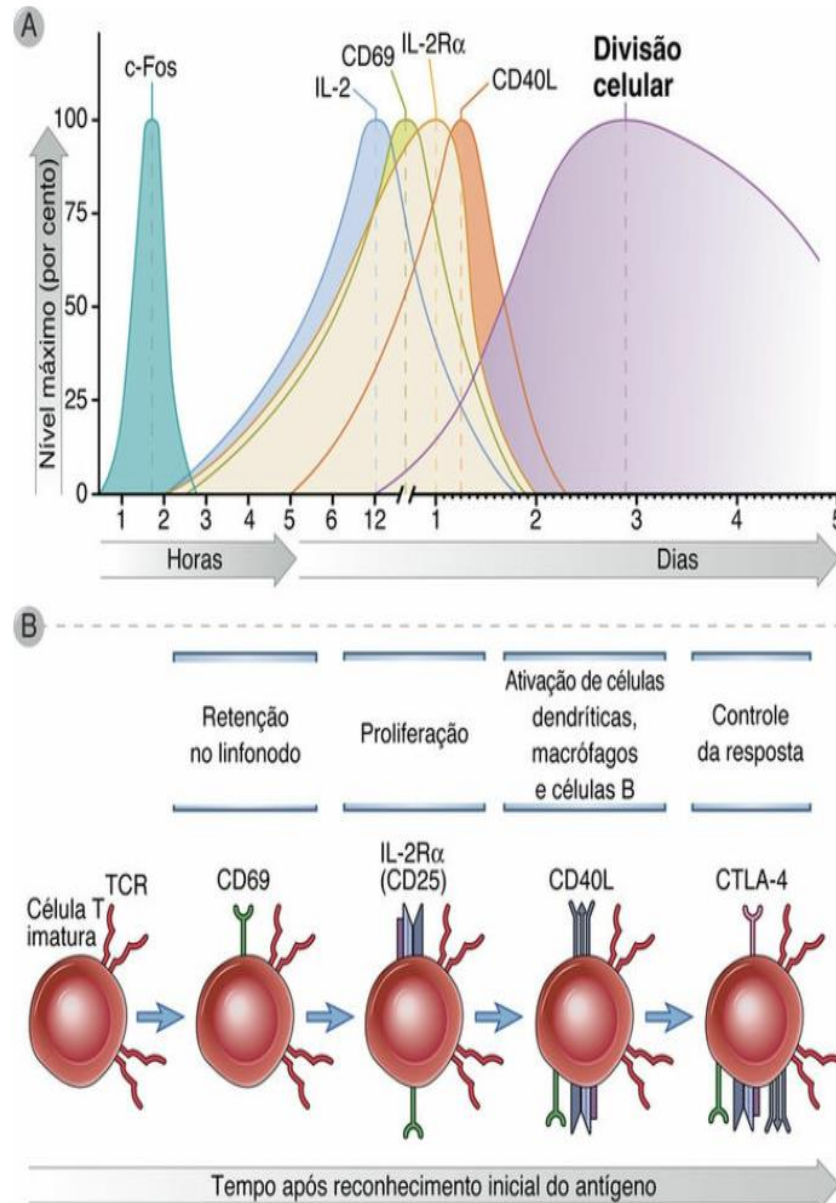
# Moléculas de Superfície e Ativação da Célula T

**CD69:** reduz a expressão do receptor S1PR1, que medeia a saída das células T de órgãos linfoides.

**CD25 (*IL-2R $\alpha$* ):** receptor de citocina permite que células T ativadas respondam à citocina promotora de crescimento IL-2.

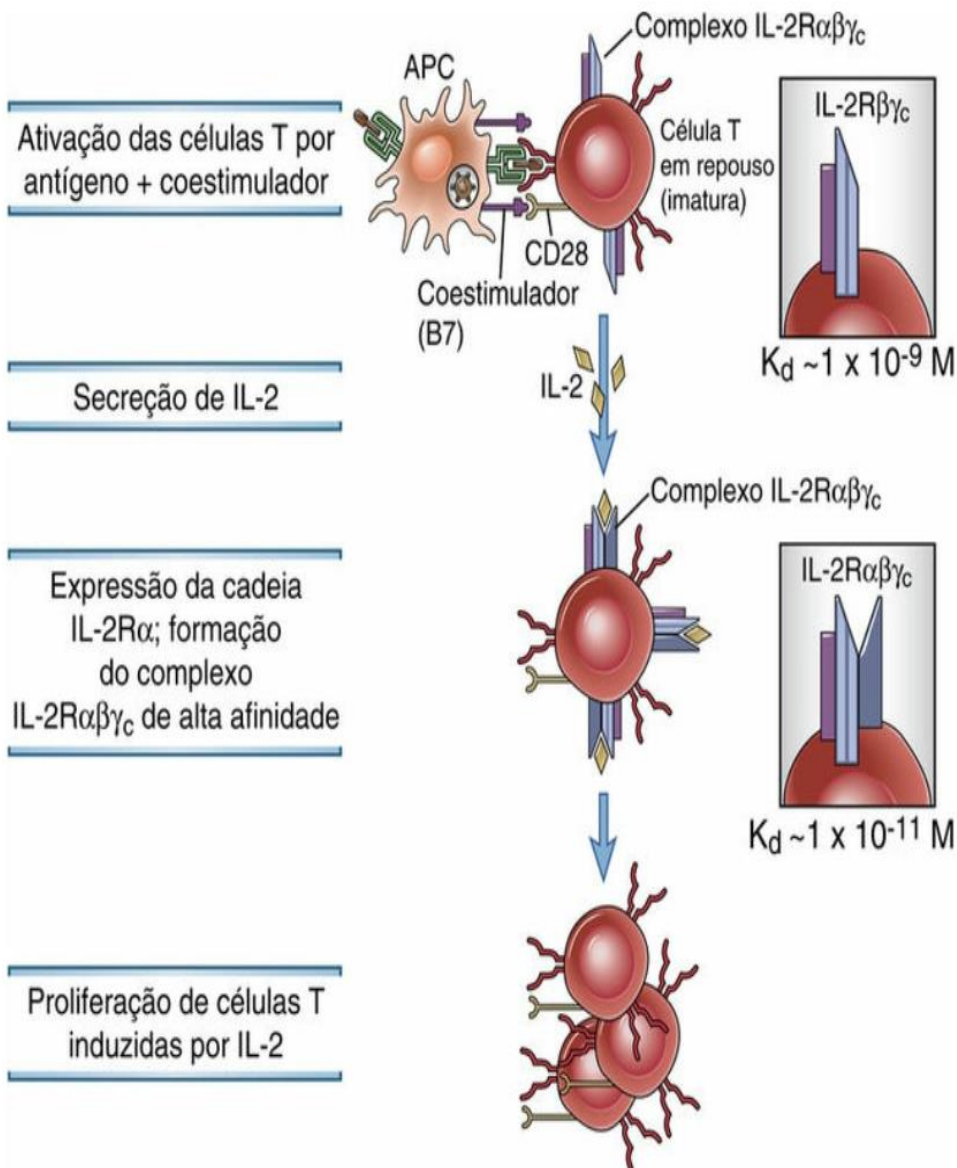
**Ligante do CD40 (*CD40L*):** Nos LT ativa células dendríticas a se tornarem melhores APCs.

**CTLA-4:** inibidor da ativação da célula T. É induzido 1 a 2 dias depois da ativação inicial.



# CITOCINAS NAS RESPOSTAS IMUNES ADAPTATIVAS

## (Produção do receptor da IL-2)



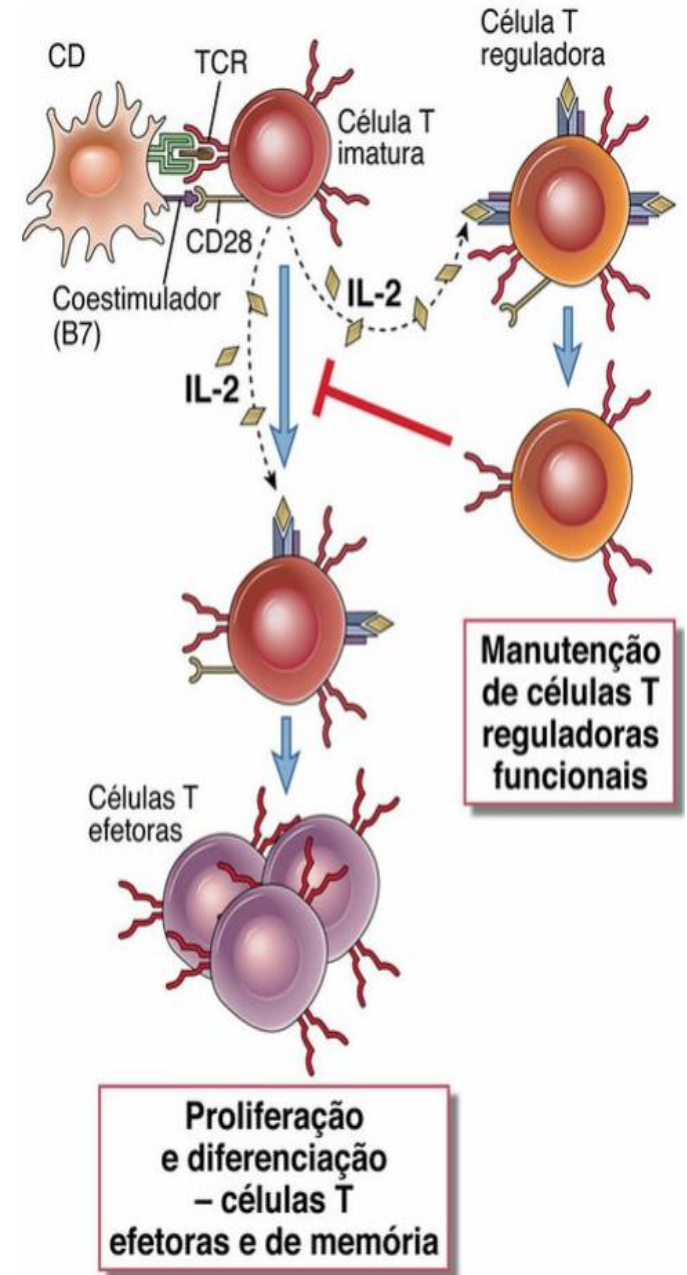
1º) Expressão do receptor de IL-2. Os LT em repouso (imaturos) expressam o complexo IL-2R $\beta\gamma_c$ , que tem uma afinidade moderada para IL-2.

2º) A ativação das células T por antígeno, coestimuladores e pela própria IL-2 leva à expressão de altos níveis do complexo IL-2R $\alpha\beta\gamma_c$  de alta afinidade.

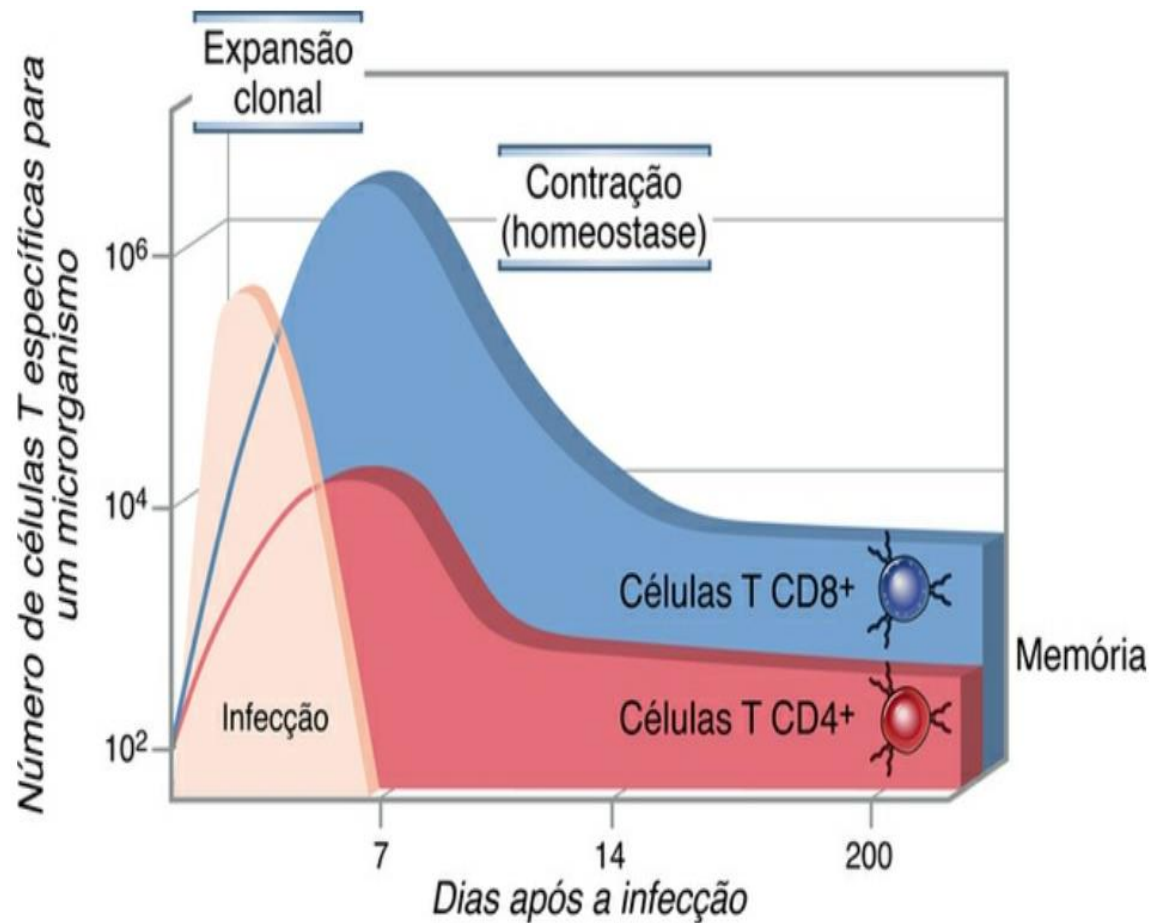
# CITOCINAS NAS RESPOSTAS IMUNES ADAPTATIVAS

**Papel biológico da IL-2:** Estimula a sobrevivência, proliferação e diferenciação de linfócitos T, atuando como um fator de crescimento autócrino.

A IL-2 também mantém as células T reguladoras funcionais e, assim, controla as respostas imunes



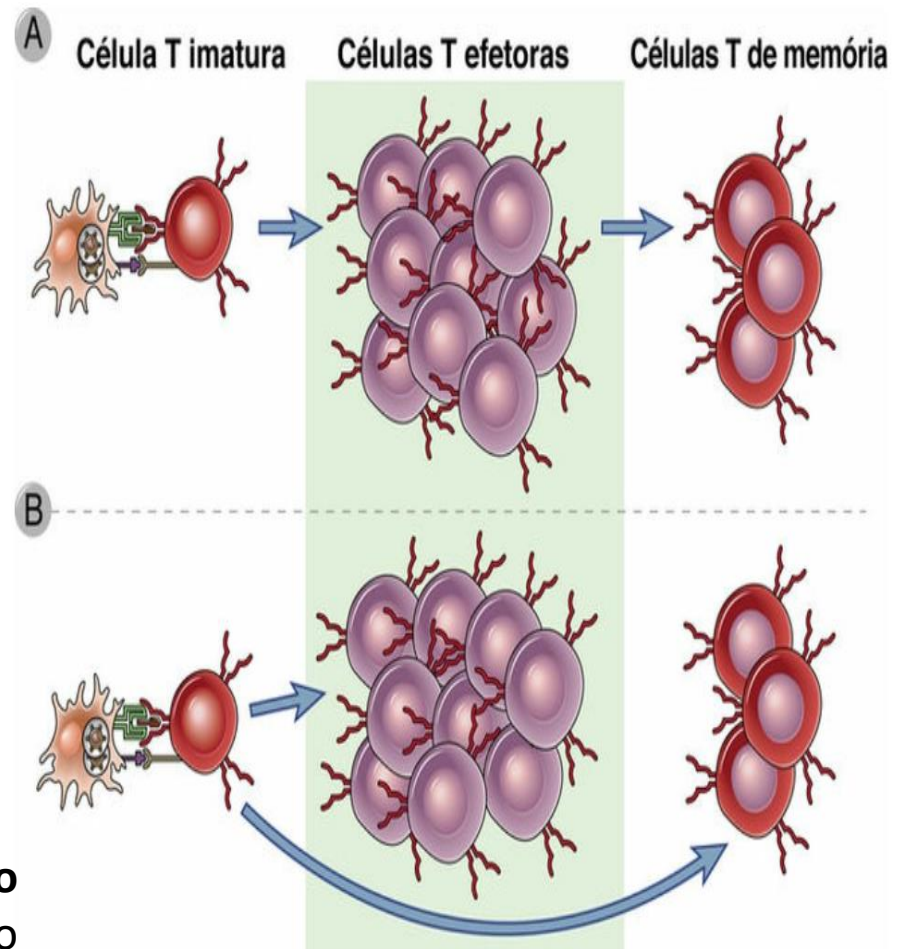
# EXPANSÃO CLONAL DAS CÉLULAS T



Os números de células T CD4+ e CD8+ específicas para antígenos microbianos e a expansão e declínio das células durante as respostas imunes.

# MODELO DE EXPANSÃO CLONAL DAS CÉLULAS T

**A: Modelo linear de diferenciação de células T de memória**, a maioria das células efetoras morre e algumas sobreviventes evoluem para a população de memória.



**B: Com base no modelo de diferenciação ramificada**, células efetoras e de memória são os destinos alternativos de células T ativadas