

CURSO PÓS-GRADUADO

# Imunologia na prática pneumológica.

## Conceitos actuais sobre defesa imunológica do pulmão\*

### IV. Mecanismos de Resposta Celular T (Parte II)

A. SEGORBE LUIS

No presente texto, algumas das noções abordadas na Parte I serão complementadas – e, por vezes, questionadas – por conceitos que correspondem a novas tendências do conhecimento nesta matéria.

I. Uma vez que o número de ligandos ao receptor antigénico, TcR, é relativamente reduzido, a quota parte de contribuição deste para a manutenção do contacto com a célula apresentadora é muito limitada. Este aspecto, associado ao curtíssimo tempo funcional do TcR – que vem a ser libertado à medida que vão ocorrendo encontros específicos com peptídeos antigénicos – faz pensar numa sequência de "toca, larga e foge" por parte do TcR, a qual poderá biologicamente favorecer um maior número de oportunidades dos complexos HLA-peptídeo em contactos activadores com linfócitos T.

II. Crê-se que os linfócitos com TcR- $\gamma\delta$  presentes nas superfícies mucosas exerçam a função de imunovigilância. Em favor desta noção aponta o facto de os linfócitos  $\gamma\delta$  sediados a esse nível evidenciarem um leque limitado de genes V.

Entre os antígenos reconhecidos pelos linfócitos  $\gamma\delta$  contam-se moléculas "self", proteínas do MHC e associadas a este sistema, proteínas do choque térmico das micobactérias e compostos bacterianos e virais.

Um dado novo reside na aptidão dos linfócitos  $\gamma\delta$  em reconhecerem ligandos moleculares simples e não peptídeos integrados em complexos multi-moleculares, como acontece com os linfócitos com TcR- $\alpha\beta$ . Mais do que isso, demonstrou-se a ligação do receptor TcR- $\gamma\delta$  a proteínas virais que não passaram pela etapa convencional de processamento/apresentação antigénica.

Estes dados são relevantes a ponto de questionar a noção inicial de que as células T não reconhecem o

\* Curso Realizado no âmbito do X Congresso de Pneumologia (Coordenador: Prof. A. Segorbe Luis), Lisboa, 13 de Novembro de 1994.

Recebido para publicação em 95.10.16 (Texto IV, Parte II)

antigénio na forma livre.

III. Vimos que a ligação do CD28 linfocitário à molécula B7 da célula apresentadora representa uma etapa fundamental na necessária co-estimulação para a activação antigénica de células T.

Sabe-se hoje que na comunicação entre célula assessora e linfócito T o efeito modulador da resposta por este último é mais complexo do que a acção singularmente considerada do binário B7 (CD80)-CD28. Na realidade, estarão envolvidas uma componente positiva e outra negativa.

Enquanto a função da molécula CD28 constitui um sinal positivo de co-estimulação do TcR, a participação da molécula CTLA-4, também do lado linfocitário, conduz a uma influência negativa, inibitória da resposta celular T.

Em relação à célula assessora, o facto de ratinhos KO em B7 (geneticamente manipulados para serem privados de B7) continuarem a evidenciar actividade co-estimulatória fez supor a existência de um outro ligando para além do B7, com função passível de ser inibida via CTLA-4. Na espécie humana, esta molécula corresponde ao B70 (CD86).

Confirmou-se uma distribuição heterogénea de ambas moléculas, B7 e B70, no conjunto das células assessoras e demonstraram-se diferenças funcionais na sequência da ligação do anticorpo monoclonal respectivo.

Não deixa de ser relevante, quanto à importância funcional destas ligações, que um dos sinais observados nos linfócitos na senescência seja o decréscimo de expressão de CD28.

IV. Em relação aos linfócitos CD8, população linfocitária designada de supressora/citotóxica, interessa actualizar alguns conceitos sobre aspectos funcionais.

As moléculas CD8 comportam-se funcionalmente como proteínas de adesão e como co-receptores. O seu papel afigura-se determinante quando as células-alvo têm uma expressão reduzida de moléculas HLA da classe I ou quando o receptor TcR do próprio linfócito evidencia uma baixa afinidade de ligação ao antigénio. Neste aspecto particular e também aqui, as moléculas LFA-1 e ICAMs vêm reforçar o sinal de

activação.

A acção lítica dos linfócitos CD8 parece desenrolar-se através de diversas vias:

- produção de *perforina*, proteína indutora da formação de poros membranários na célula-alvo;
- exocitose de granzimas (serinoproteases), cujo papel parece beneficiar da permeabilização da membrana-alvo induzida pela citolisina *perforina*.

A estas duas vias de citólise, condicionadas pela disponibilidade de  $Ca^{2+}$ , junta-se a que depende da presença de uma molécula-chave na membrana da célula-alvo, a proteína *Fas* (ou Apo-1). No linfócito CD8, o ligando respectivo é um receptor da família TNF. O envolvimento da molécula *Fas* na lise celular foi claramente demonstrado pela acção do anticorpo monoclonal respectivo ao induzir a apoptose da célula portadora.

A imunossupressão por linfócitos T, desde há muito conotada com as células CD8, é um campo do conhecimento com algumas áreas controversas e outras mal esclarecidas.

Pode afirmar-se, sem margem para dúvida, que da lise de células apresentadoras ou de células T poderá emergir efeito supressor. Por outro lado, já não é recente a identificação de factores supressores solúveis, alguns hoje identificados como citocinas ( $IFN\gamma$ , IL-10,  $TGF\beta$ ,...) enquanto outros mantêm ainda a anterior designação, genérica, de TsF. Crê-se que alguns destes inibem especificamente a interacção entre células assessoras e linfócitos T, pensando-se corresponder a TcR solúveis ou a uma fracção molecular destes (p. ex., cadeia  $\alpha$  do TcR).

Como mecanismo de imunossupressão não se exclui também a ocorrência de inibição funcional da célula-alvo; no contacto intercelular seriam emitidos sinais negativos não citolíticos, libertados pelo linfócito supressor.

Além da actividade de citólise, os linfócitos CD8 dispõem de capacidade de secreção citocínica, com destaque para a de  $IFN\gamma$  e TNF.

Importa salientar que a população de células CD8 não é uniforme. Recentemente, foi-lhe reconhecida a aquisição de características fenotípicas até aqui pouco

valorizadas. Sabe-se hoje que as células CD8 activadas em presença de IL-4 passam a produzir citocinas do espectro TH2, ou seja, IL-4, IL-5 e IL-10; nesta eventualidade, promovem a síntese de imunoglobulinas e perdem a sua vocação citotóxica. Este aspecto afigura-se relevante em casos de SIDA quando a actividade citotóxica das células CD8 se vai extinguindo em favor da emergência do fenótipo TH2, síntese de IgE, etc.

V. A perspectiva, adquirida, de que as células TH1 e TH2 constituem subconjuntos compartimentados no seio do sistema imunitário afigura-se um pouco excessiva já que é reconhecida a existência de numerosos clãs de células T cujo perfil citocínico não é enquadrável no fenótipo TH1 ou no TH2 (ou mesmo no TH0).

Segundo uma análise crítica recente, de A. KENSO, as células T distribuir-se-ão segundo um espectro quanto ao seu perfil de síntese de citocinas. Assim, as que correspondem às designadas subclases TH1 e TH2 representarão os extremos polares deste espectro. Segundo este modelo, em pontos intermédios do espectro encontrar-se-ão clãs celulares que sintetizam um número variável e uma combinação heterogénea de citocinas.

Em favor desta perspectiva cabe salientar a relativa independência da regulação dos genes das citocinas, aspecto que não exclui a existência de factores promotores da activação de um conjunto de genes de citocinas (como, p.ex., a IL-4, reguladora e indutora do desenvolvimento dos clãs produtores de citocinas "TH2" e a IL-12 na indução de clãs TH1).

VI. Na verdade, embora se reconheça que algumas variáveis, como a natureza e dose de estímulo antigénico, o tipo de célula apresentadora, as moléculas envolvidas na co-estimulação, venham a favorecer o desenvolvimento de clãs linfocitários para os fenótipos polares, TH1 ou TH2, o certo é que a influência, respectiva, da IL-12 e da IL-4 parece ser dominante.

A IL-12 é uma citocina cuja origem parte essencialmente das células fagocíticas e cuja acção será fulcral no início e manutenção da resposta imunitária. O seu papel no desenvolvimento de mediadores e efectores de uma resposta TH1 e, por outro lado, na

inibição da resposta TH2, tem sido confirmado segundo várias linhas de evidência.

Deste modo, a intervenção da IL-12 acaba por ser determinante na devir das infecções agudas já que uma génese deficiente de efectores TH1 favorecerá a cronicidade do processo infeccioso e facilitará, por outro lado, a ocorrência de fenómenos imunopatológicos decorrentes de uma insuficiente e ineficaz inibição da resposta TH2.

Embora haja a sugestão da acção directa da IL-12 na promoção da resposta TH1, o seu efeito promotor da secreção de IFN $\gamma$  e IL-2 é um dado adquirido, bem como, é conhecida sua capacidade indutora da proliferação e citotoxicidade de células NK e linfócitos T. Assim, parte ou a totalidade do efeito inibitório sobre a resposta TH2 poderá passar pelo IFN $\gamma$ . Esta citocina, por sua vez, é um bom indutor da síntese de IL-12 por macrófagos.

Uma das consequências relevantes da acção da IL-12 acaba por ser a de coartar a síntese de IL-10 por parte de clãs TH2. A IL-10, como se referiu e se verá, é um potente inibidor das respostas TH1 e de diversas funções dos macrófagos.

Este conjunto de dados confere à IL-12 um papel de pivot nas infecções por patógenos intracelulares e permite antever a sua futura utilização terapêutica em infecções graves causadas por este grupo de agentes.

VII. As respostas T são indissociáveis da intervenção dos macrófagos.

Os macrófagos são células apresentadoras, expressam moléculas de co-estimulação, necessária para a activação antigénica do TcR, e produzem um leque de citocinas com acção moduladora da resposta celular T.

Por outro lado, as células T, directa ou indirectamente, exercem profunda influência no *status* funcional dos macrófagos.

A activação cognitiva de macrófagos por células T refere-se à activação decorrente do contacto intercelular e parece envolver moléculas como as dos pares B7-CD28, CD40 e respectivo ligando, CD2-LFA-3, LFA-1 e ICAMs e a forma membranária do TNF $\alpha$ .

Conforme se referiu, o IFN $\gamma$  é um excelente indutor de diversas funções macrofágicas. O IFN $\gamma$ , entre outras acções, promove a expressão macrofágica

de receptores de  $TNF\alpha$  e, assim, assegura a abertura de uma porta para a activação autócrina e parácrina pelo  $TNF\alpha$ . Por outro lado, o  $IFN\gamma$  promove a síntese de IL-12 que é, conforme acabámos de ver, um factor de desenvolvimento dos clãs linfocitários TH1.

Ora, as células TH1 têm a capacidade de produzir  $IFN\gamma$  e  $TNF\alpha$  e, deste modo, promover a activação não cognitiva de macrófagos. A IL-2, um outro produto das células TH1, também potencia a actividade citotóxica de macrófagos.

Por outro lado, quer o  $IFN\gamma$ , quer a IL-12, induzem a expressão das moléculas B7.1 e B7.2 que sinergizam com as citocinas na activação dos linfócitos T.

Entre os inibidores da funções macrófágicas contam-se o  $TGF-\beta$ , a IL-4, IL-13. O factor transformante  $TGF-\beta$  interferirá na síntese de monocinas e opõe-se à indução de receptores de  $TNF\alpha$ . A IL-10 inibe a expressão de moléculas de B7, reduz a actividade MIF e a produção de  $TNF\alpha$  e de IL-12. A acção da IL-13, funcionalmente próxima da IL-4, incidirá em macrófagos e não em linfócitos, em contraste com o que caracteriza a IL-4. Ambas inibem a citotoxicidade macrófágica. No entanto, a IL-4 parece promover a expressão de moléculas B7 e favorecer a co-estimulação B7-CD28, o que realça o facto das funções macrófágicas serem reguladas por uma teia de factores cujo vector resultante depende, afinal, da constelação citocínica vigente em dado momento.

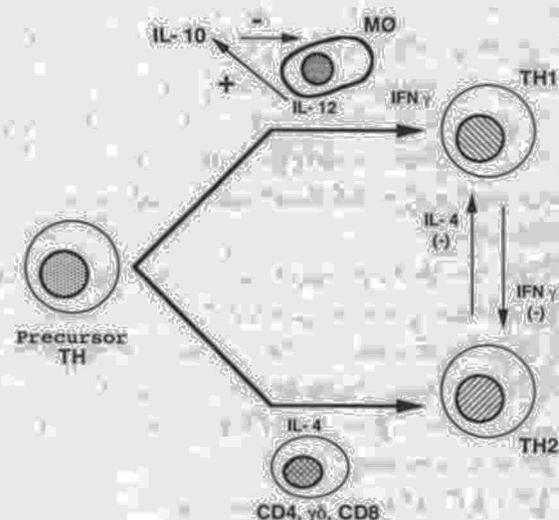
VIII. Os derivados nitrogenados, com destaque para o óxido nítrico, são efectores da actividade citotóxica dos macrófagos e constituem um dos meios fundamentais do poder microbicida dos fagócitos.

A produção de óxido nítrico aumenta em resposta ao  $IFN\gamma$  e  $TNF\alpha$  e à endotoxina, LPS. Algumas das

citocinas anteriormente referidas, nomeadamente  $TGF-\beta$ , IL-4 e IL-10, inibem também a produção de óxido nítrico.

Um dos efeitos do óxido nítrico é o de diminuir a síntese de  $IFN\gamma$  e de IL-2 por linfócitos T, aspecto que, por sua vez, poderá representar um dos sinais "off" da toxicidade macrófágica. Aliás, as acções do óxido nítrico sobre a resposta linfocitária estendem-se a diversos planos funcionais que vão desde a diminuição da resposta proliferativa, menor síntese de IL-2 e, com significado particular, depressão da resposta TH1 face à relativa resistência da parte de células TH2.

Completa-se, assim, um ciclo funcional uma vez que a produção de óxido nítrico é favorecida por células TH1; por outro lado, é o óxido nítrico que inibe o desenvolvimento excessivo do fenótipo TH1 a fim de frenar a expansão clonal e atenuar o risco de um processo imunopatológico.



(Adaptado de S.L. REINER e R.A. SEDER *Curr Op Immunol*, 7(3), 1995)

## BIBLIOGRAFIA FUNDAMENTAL

CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY – Lymphocyte Activation and Effector Functions – Vols 3 a 7; 1991 a 1995.

IMMUNOLOGY TODAY – Elsevier Science Ltd., Vols: 10 a 16; 1990 a 1995.

ADVANCED IMMUNOLOGY, MALE D., CHAMPION B., COOKE A. – Gower Medical Publishing, London; 1987.

THE LUNG: SCIENTIFIC FOUNDATIONS – R.G. CRYSTAL, J.B. WEST et al. – Ed. Raven Press, Ltd., New York, 1991.

FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY. – PAUL W., Raven Press Ltd., New York, 1989.

IMMUNOLOGY AND INFLAMMATION. BASIC MECHANISMS AND CLINICAL CONSEQUENCES. SIGAL L.H., YACOV R. – McGRAW-HILL, Inc., 1994.