

**Curso de Odontologia**  
**Disciplina BMI0277 – Imunologia**

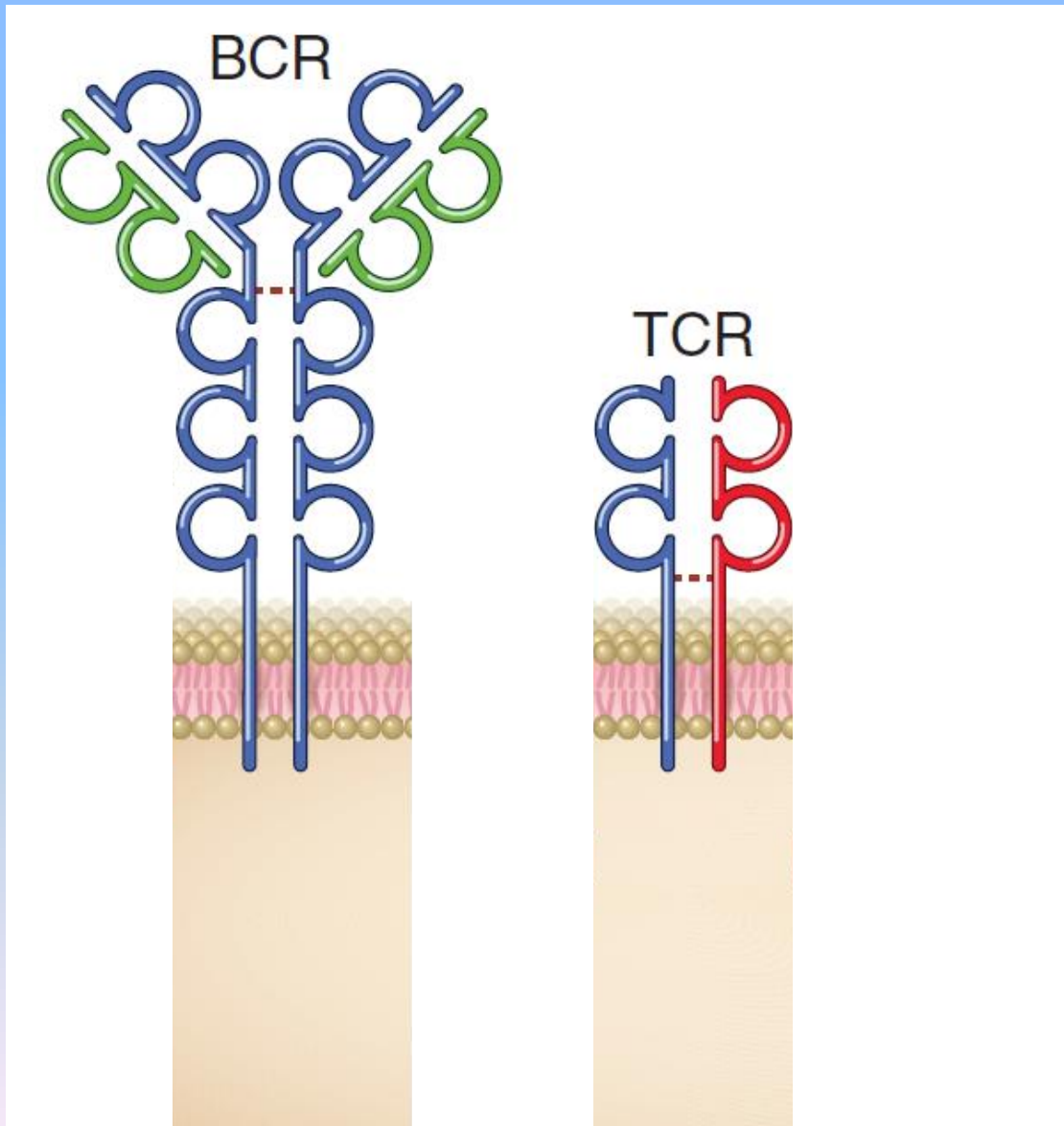
# **Ontogenia e Ativação de**

# **Linfócitos**

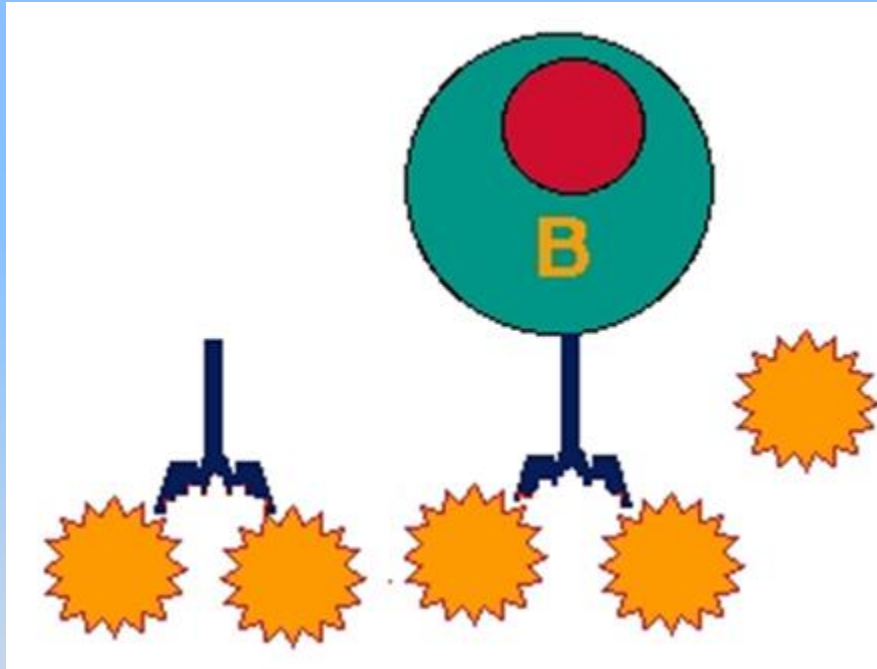
**Prof. Dr. Anderson de Sá Nunes**

**Departamento de Imunologia**  
**Instituto de Ciências Biomédicas**  
**Universidade de São Paulo**

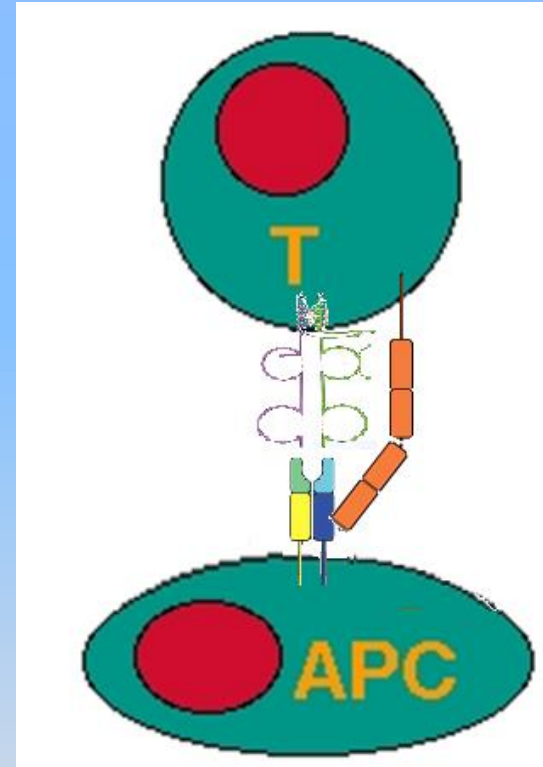
# Receptores Antigênicos da Imunidade Adquirida



# ***Reconhecimento de Antígenos pelos Linfócitos e Conceito de Clonalidade***

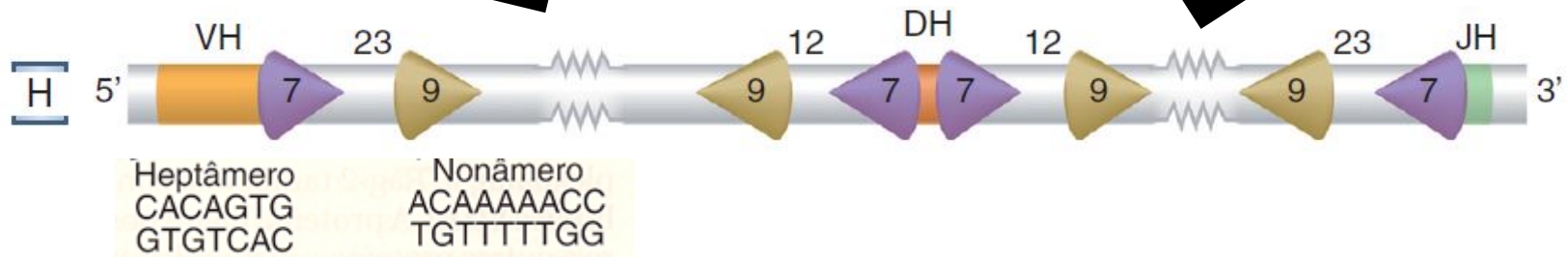
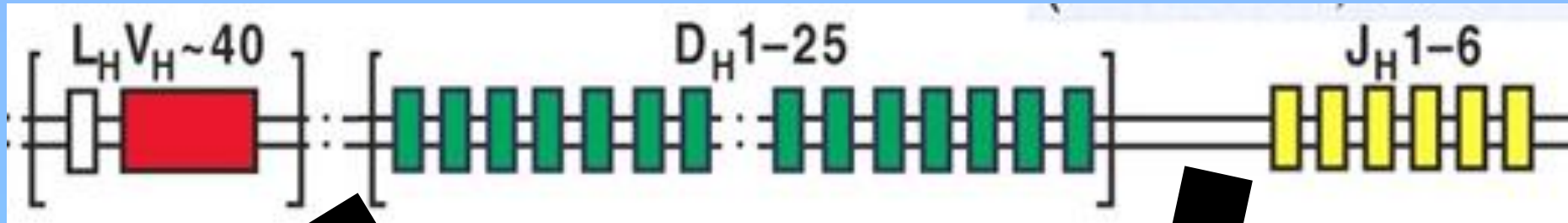


***Antígenos na conformação nativa são reconhecidos pelos linfócitos B***

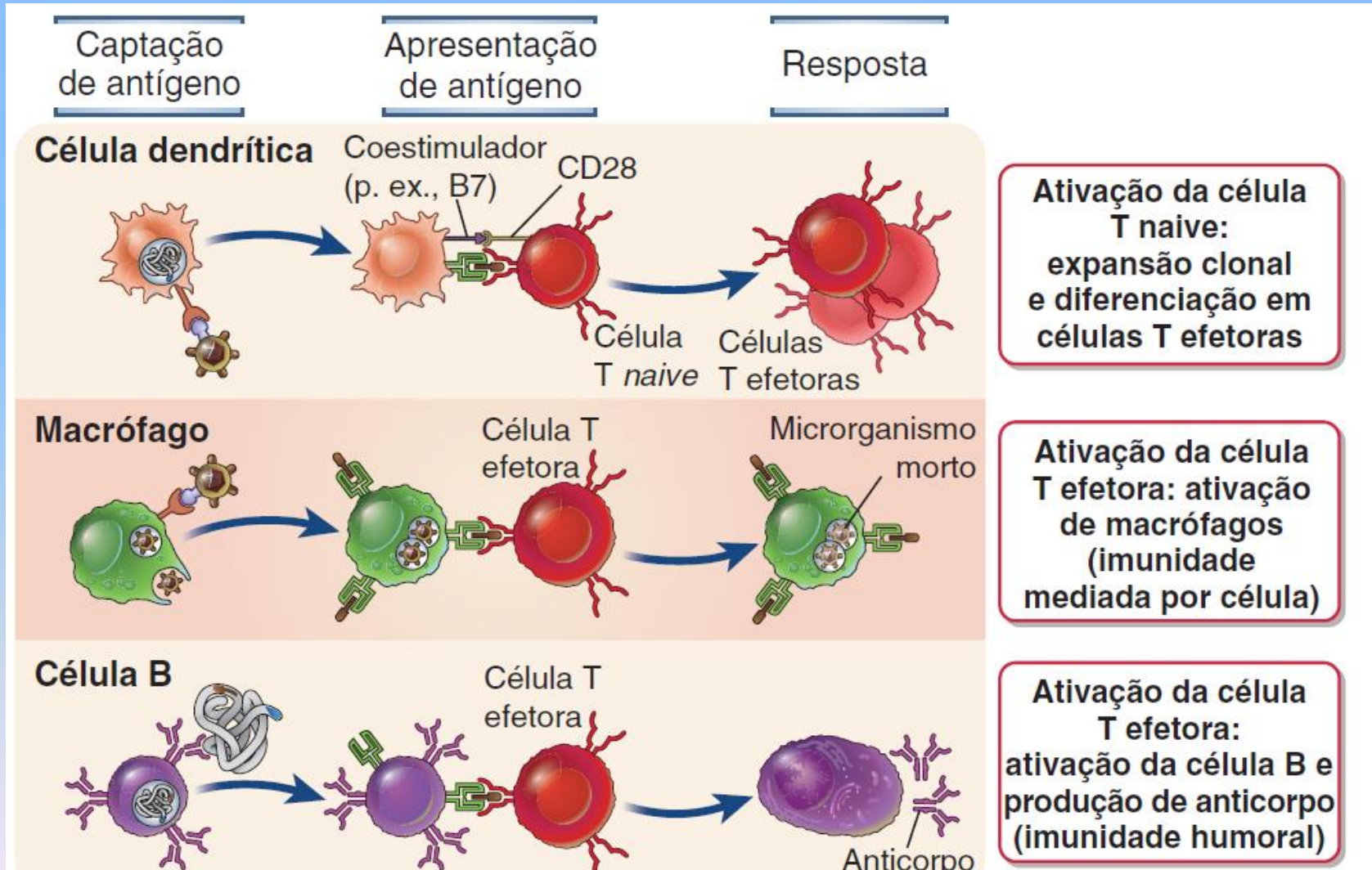


***Linfócitos T não reconhecem antígenos diretamente. Os antígenos precisam ser “processados” e “apresentados” pelas células apresentadoras de antígenos***

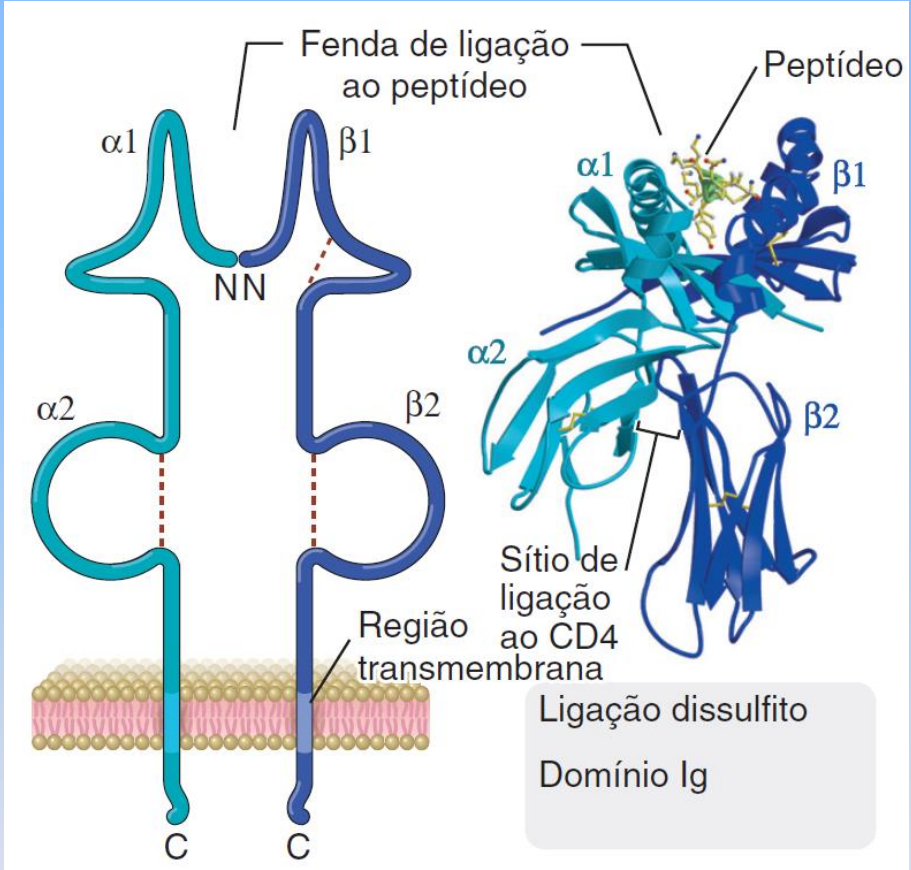
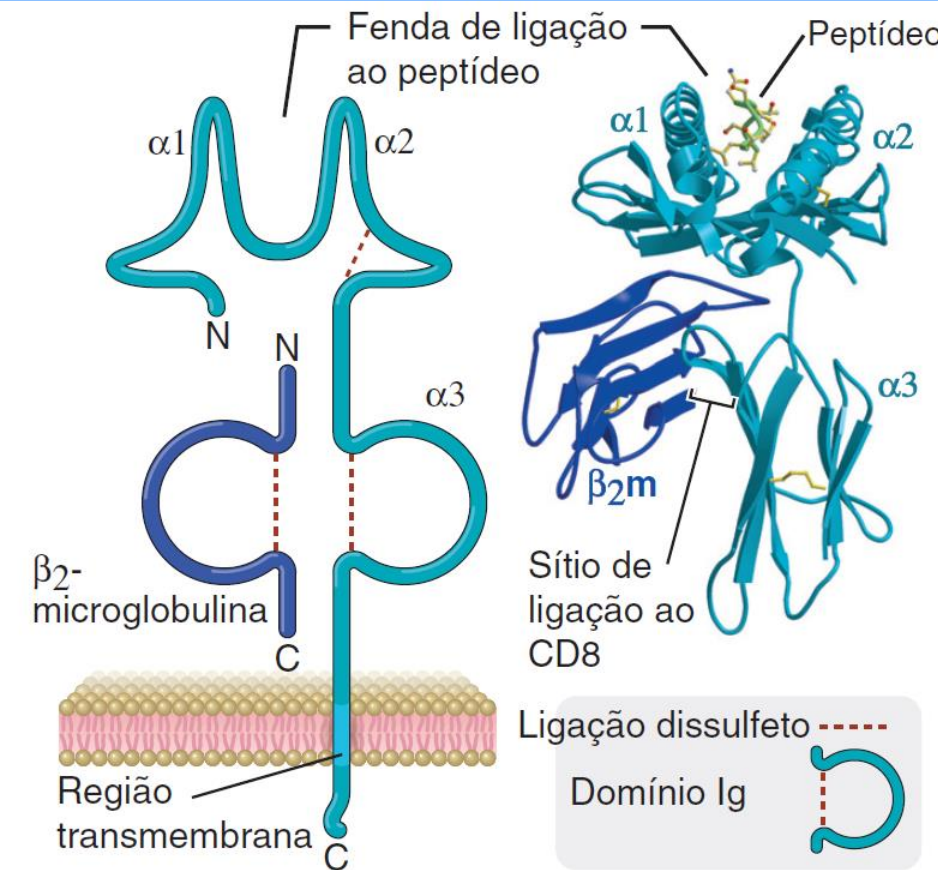
# Sequência Sinal de Recombinação (RSS) da Cadeia Pesada



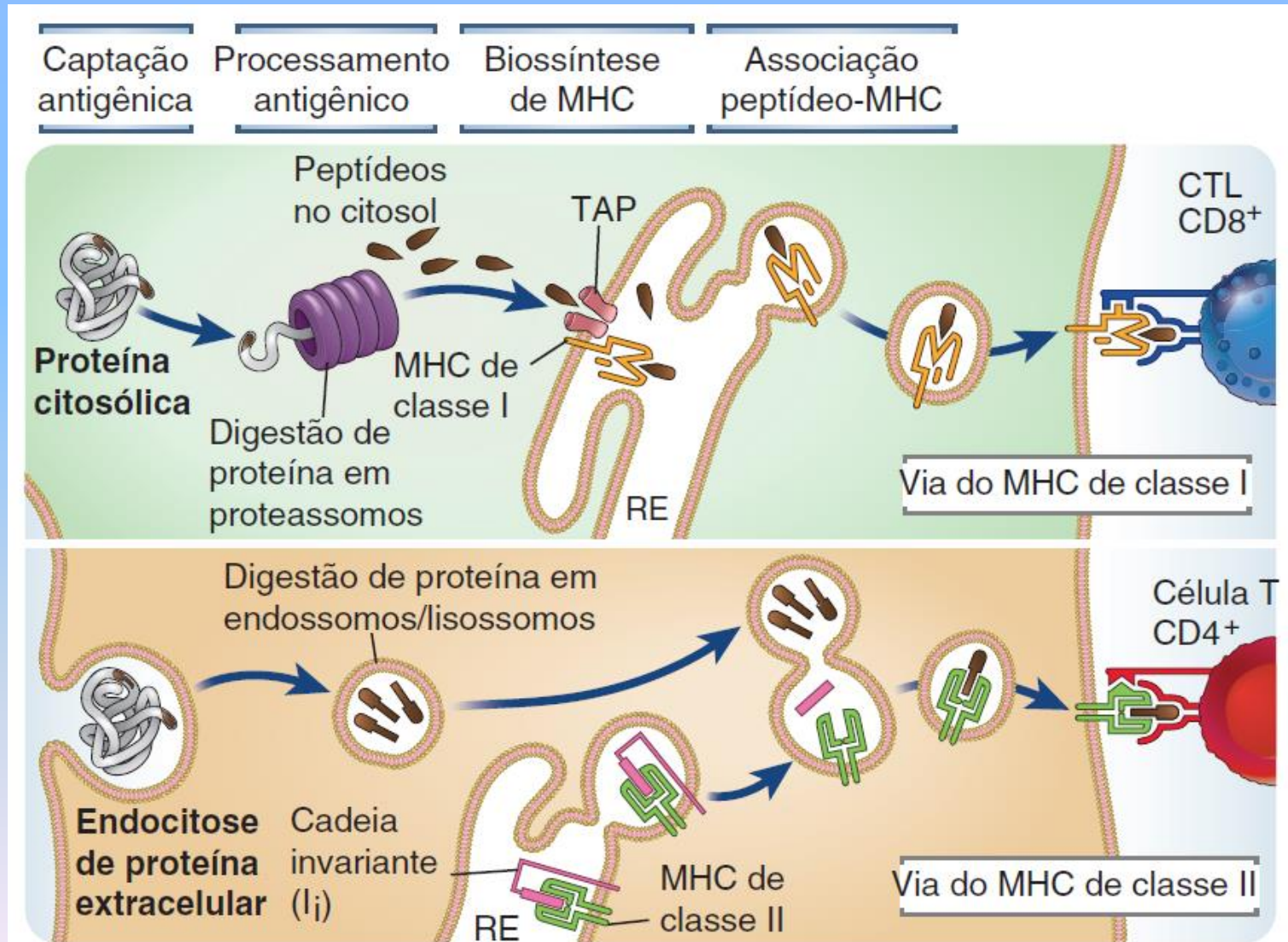
# Células Apresentadoras de Antígeno (APC)



# MHC de classe I e II



# Processamento e Apresentação dos Antígenos



# Funções Efetoras das Células T Ativadas

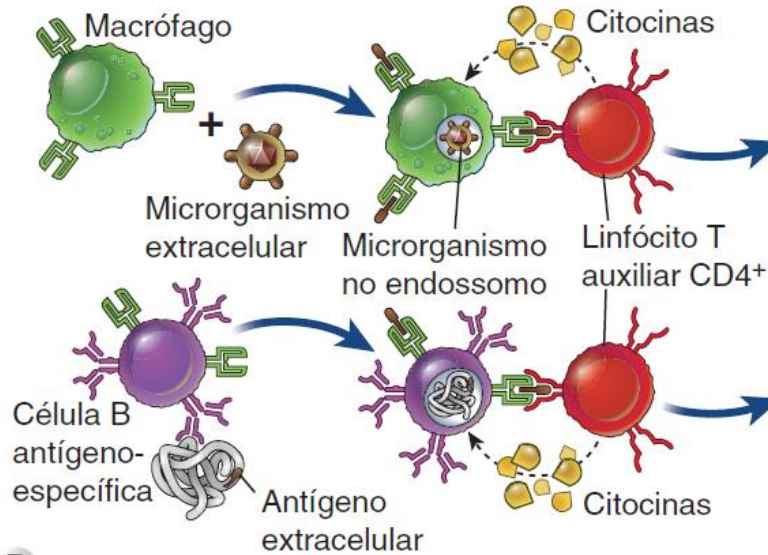
Captação ou síntese de antígeno

Apresentação de antígeno

Funções da célula T efetora

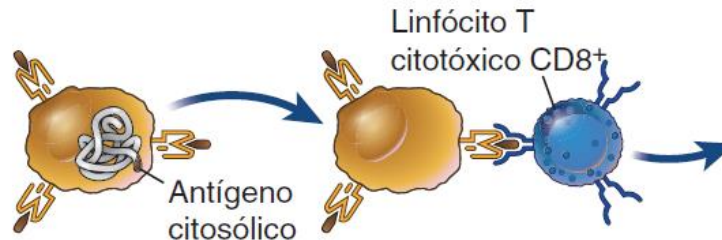
A

Via do MHC de classe II: apresentação de antígeno a células T auxiliares



B

Via do MHC de classe I: apresentação de antígeno para linfócitos T citotóxicos

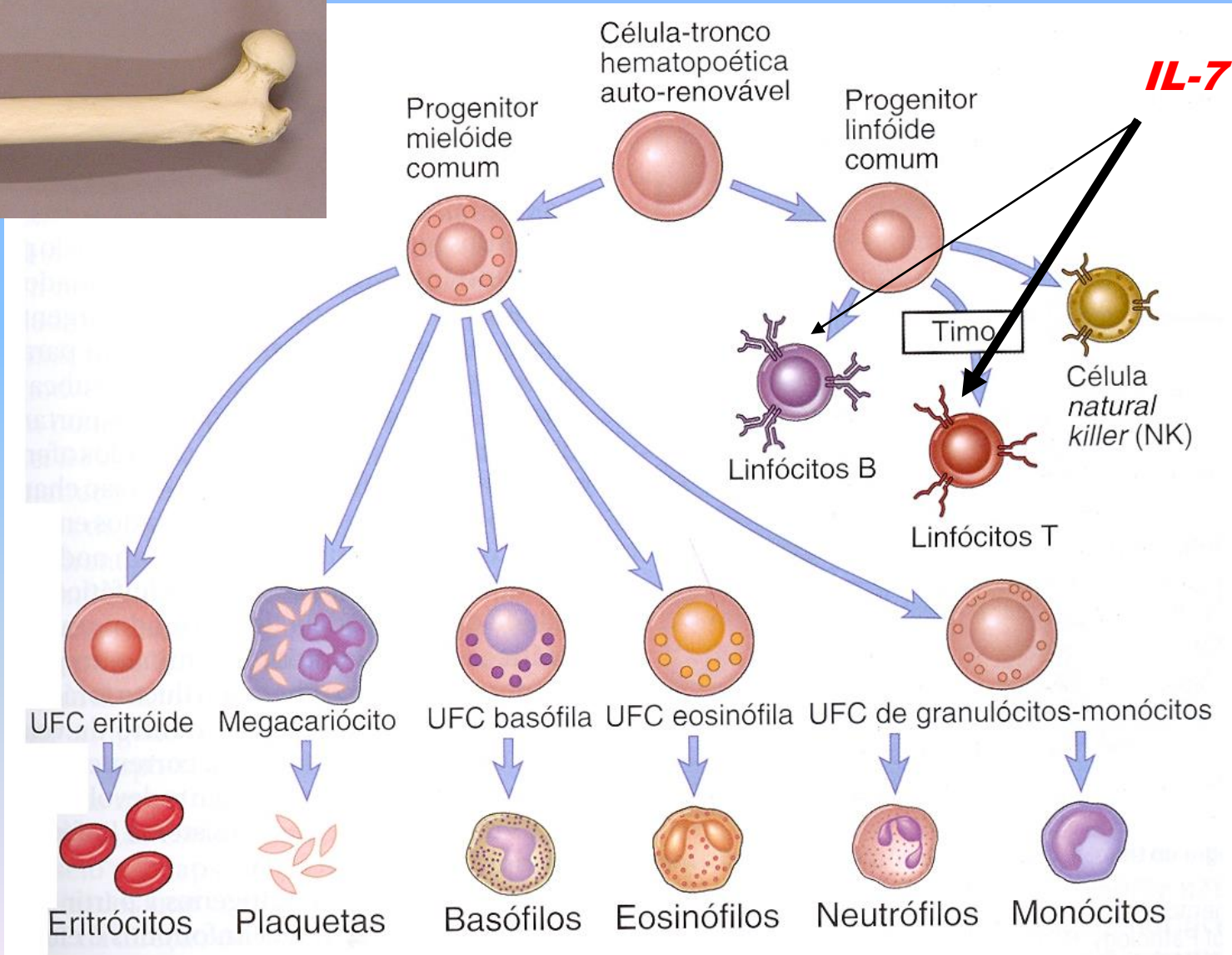




## ***Tópicos Essenciais da Aula***

- 1. Conhecer os estágios de desenvolvimento dos linfócitos, a sequência de sinais e as moléculas que regulam cada estágio.***
- 2. Contextualizar o processo de geração de diversidade dos receptores nas fases de desenvolvimento dos linfócitos.***
- 3. Discutir os processos de seleção positiva e negativa dos linfócitos.***
- 4. Reconhecer os locais onde a ativação dos linfócitos T e B ocorrem.***
- 5. Conhecer as fases, a sequência de sinais e as moléculas que participam da ativação dos linfócitos T e B.***

# Elementos Celulares do Sangue

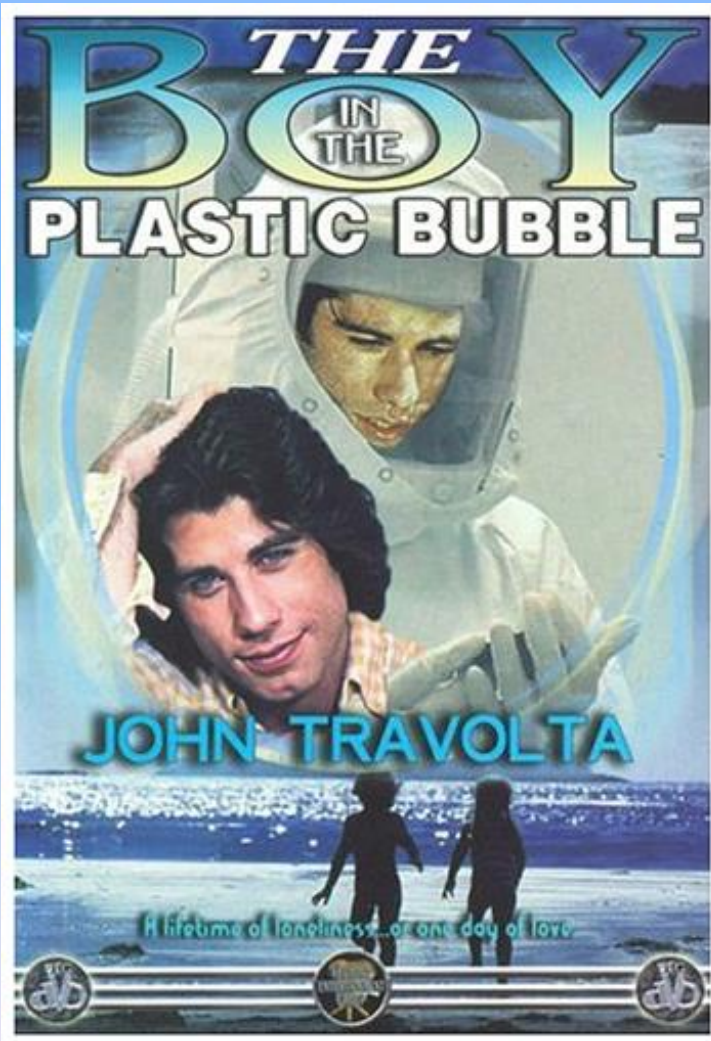


# ***Distúrbios Congênitos da Imunidade Adaptativa Imunodeficiência Combinada Severa (SCID)***

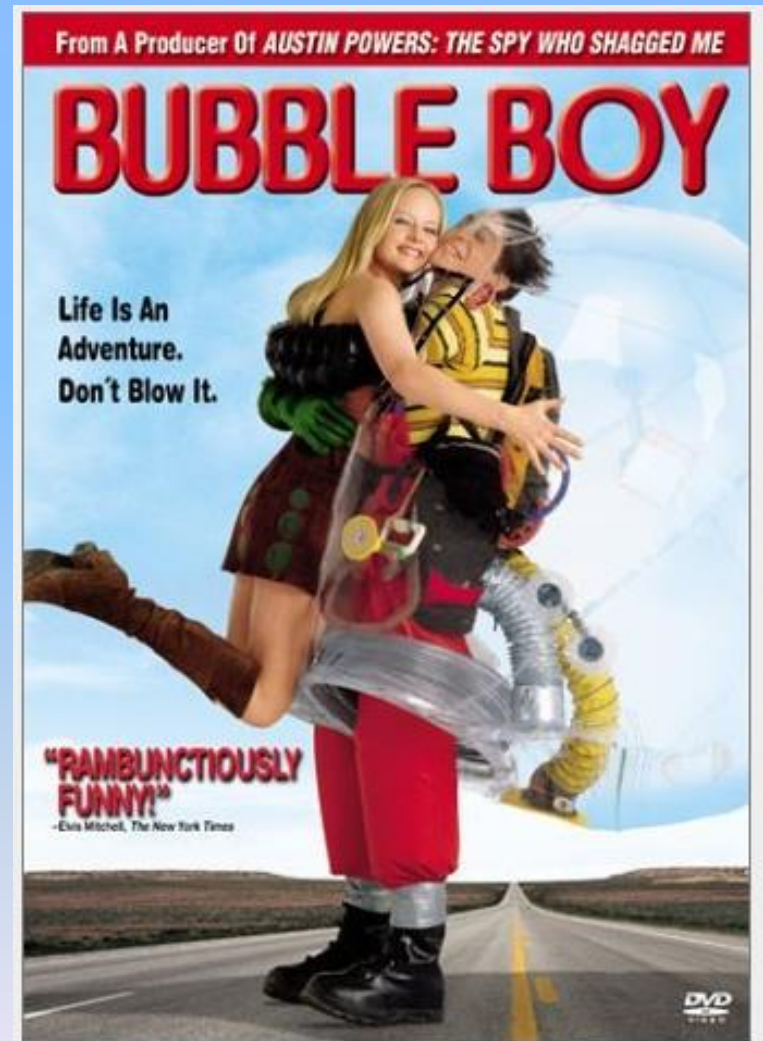


***David Vetter - "Bubble Boy"  
(1971-1984)***

# ***Distúrbios Congênitos da Imunidade Adaptativa Imunodeficiência Combinada Severa (SCID)***

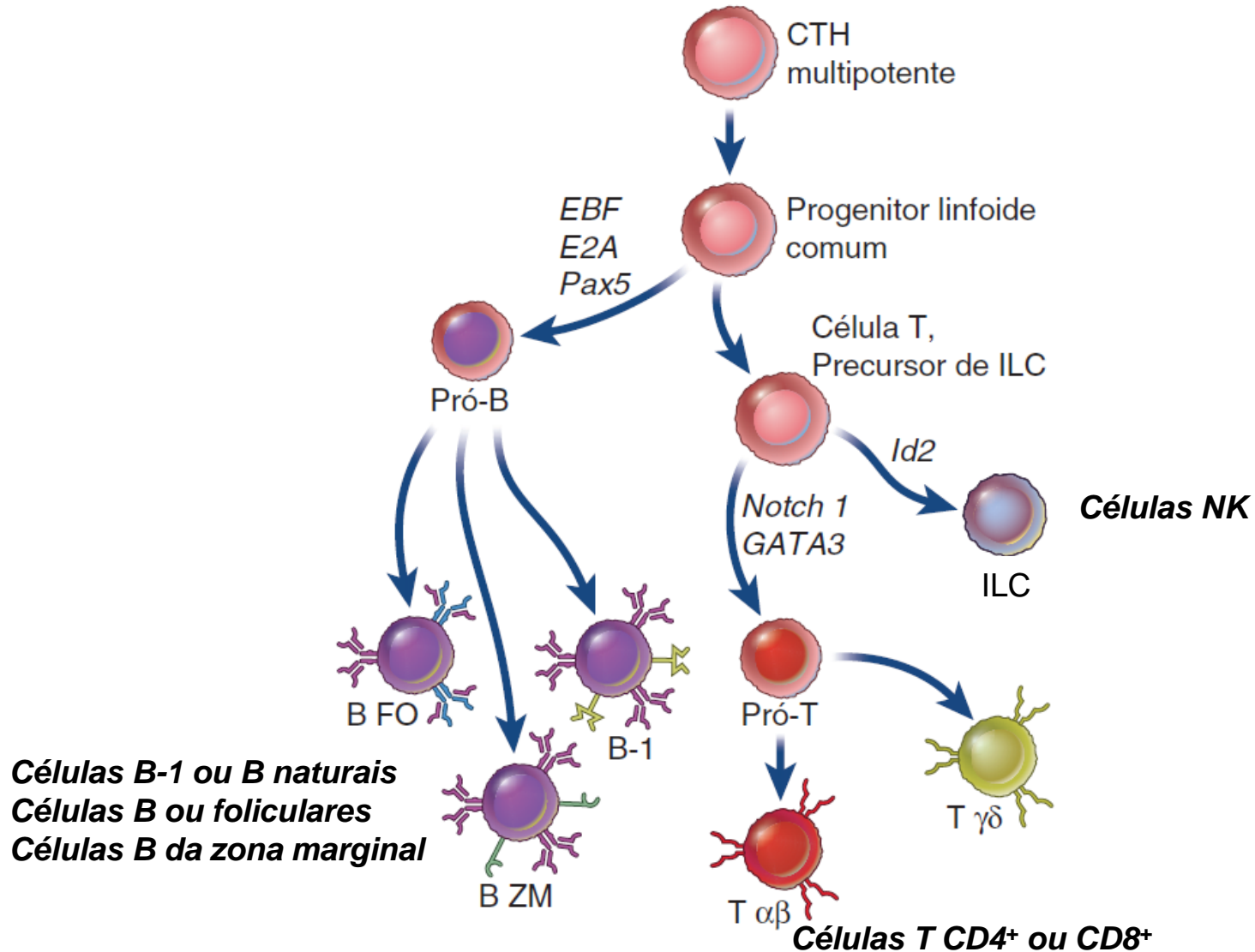


***O Menino da Bolha de Plástico  
(John Travolta - 1976)***



***Jimmy Bolha  
(Jake Gyllenhaal - 2001)***

# Tipos Celulares Derivados do Progenitor Linfóide Comum



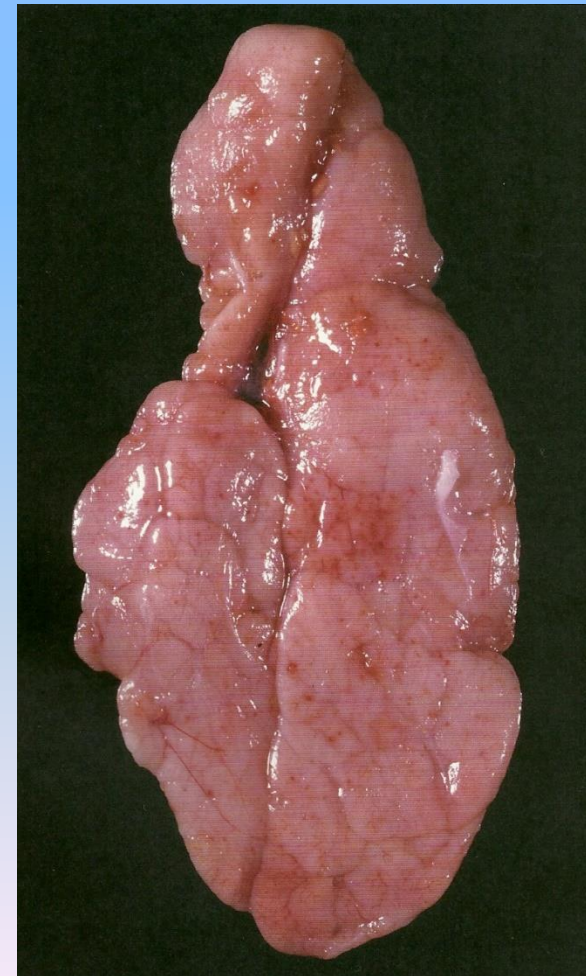
# Órgãos Linfóides Primários ou Centrais (Geradores)



<https://www.gettyimages.com/photos/femur>

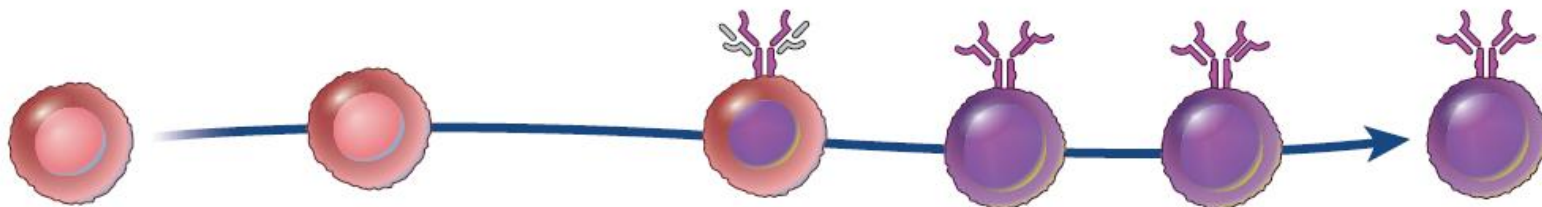


Tizard, *Imunologia Veterinária*, Saunders-Elsevier, 2009.



Parham, 3a. Edição, 2011.

# Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos



<b>Estágio de Maturação</b>	Célula-tronco	Pró-linfócito	Pré-linfócito	Linfócito imaturo	Subpopulações de linfócito	Linfócito maduro
-----------------------------	---------------	---------------	---------------	-------------------	----------------------------	------------------

**Principais Eventos**

Proliferação, comprometimento mediado por fator de crescimento

Iniciação de rearranjo do gene de receptor antigênico

Seleção de células que expressam pré-receptores antigênicos

Seleção de repertório

Maturação de subpopulações de células T e B funcionalmente distintas

**Sítio Anatômico**

Órgão gerador (medula óssea ou timo)

Tecido ou órgão linfoide periférico

**Dependência de Antígeno**

Não

Autoantígeno

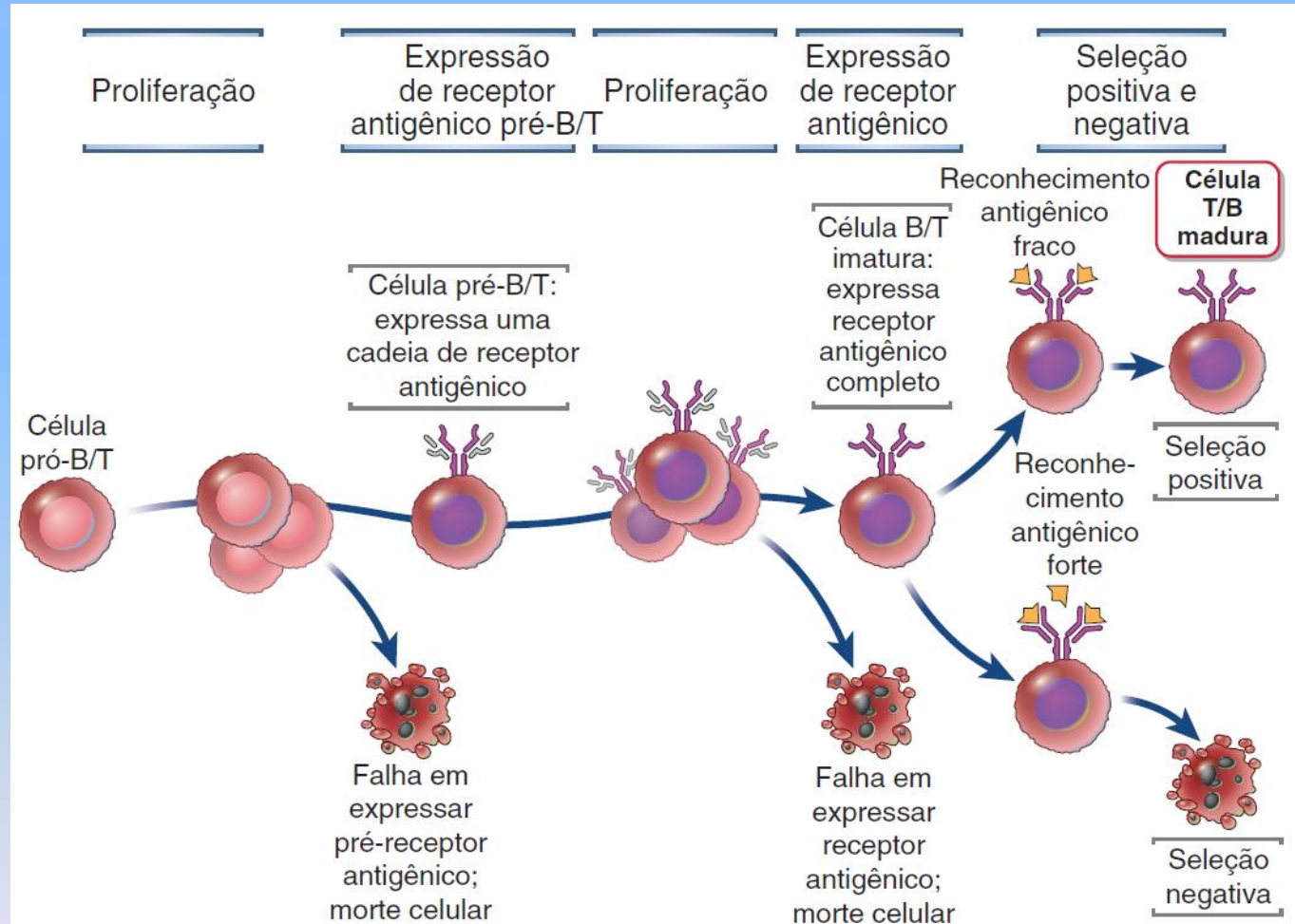
# Eventos do Desenvolvimento dos Linfócitos

**Requerimentos para o desenvolvimento dos linfócitos:**

**1) Recombinação de um receptor antigênico adequado**

**2) Capaz de reconhecer antígenos**

**3) Não reagir fortemente com os antígenos próprios expressos na medula óssea e periferia (tolerância)**

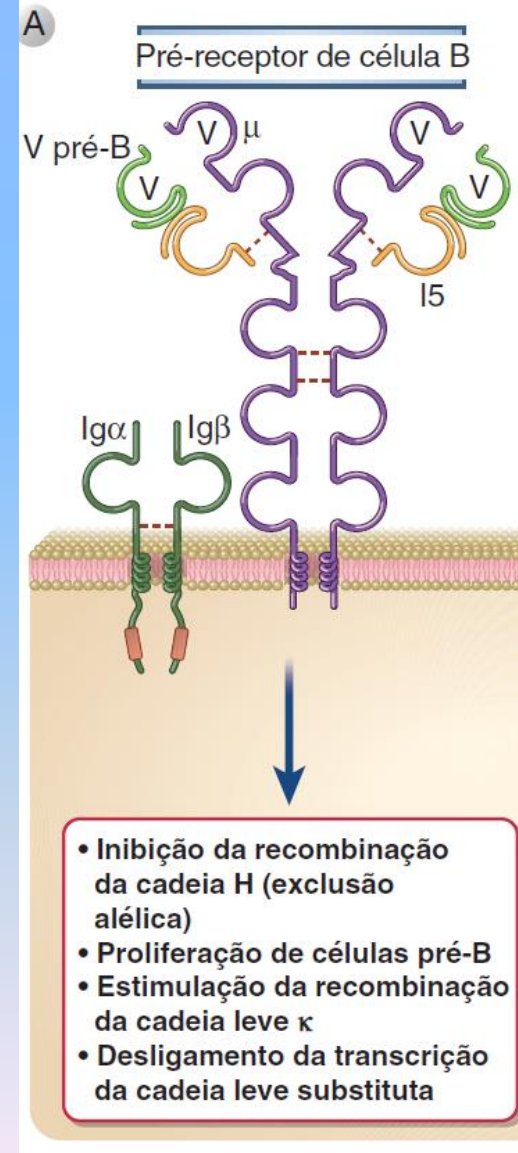




# Estágios do Desenvolvimento dos Linfócitos



Estágio de maturação	Célula-tronco	Pró-B	Pré-B grande	Pré-B pequena	B imatura	B madura
Proliferação	█	█	█			
Expressão de RAG		█	█	█		
Expressão de TdT		█				
RNA, DNA de Ig	DNA de linhagem germinativa	D <sub>H</sub> -J <sub>H</sub>	Recombinação V <sub>H</sub> -D <sub>J</sub> , mRNA de	Gene de cadeia H recombinado (VDJ), recombinação V-J κ	RNA de μ e κ/λ	Splicing alternativo do RNA VDJ-C para formar mRNA de C <sub>μ</sub> e C <sub>δ</sub>
Expressão de Ig	Nenhuma	Nenhuma	Receptor pré-B	citoplasmática	IgM de membrana (μ + κ ou cadeia leve)	IgM e IgD de membrana
Marcadores de superfície	CD43 <sup>+</sup>	CD43 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup>	B220 <sup>lo</sup> CD43 <sup>+</sup>	B220 <sup>lo</sup> CD43 <sup>+</sup>	IgM <sup>+</sup> CD43 <sup>+</sup>	IgM <sup>hi</sup> IgD <sup>+</sup>
Sítio anatômico	Medula óssea					Periferia
Resposta ao antígeno	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma		Seleção negativa (deleção), edição do receptor	Ativação (proliferação e diferenciação)



# Papel das Células Estromais para o Desenvolvimento dos Linfócitos B

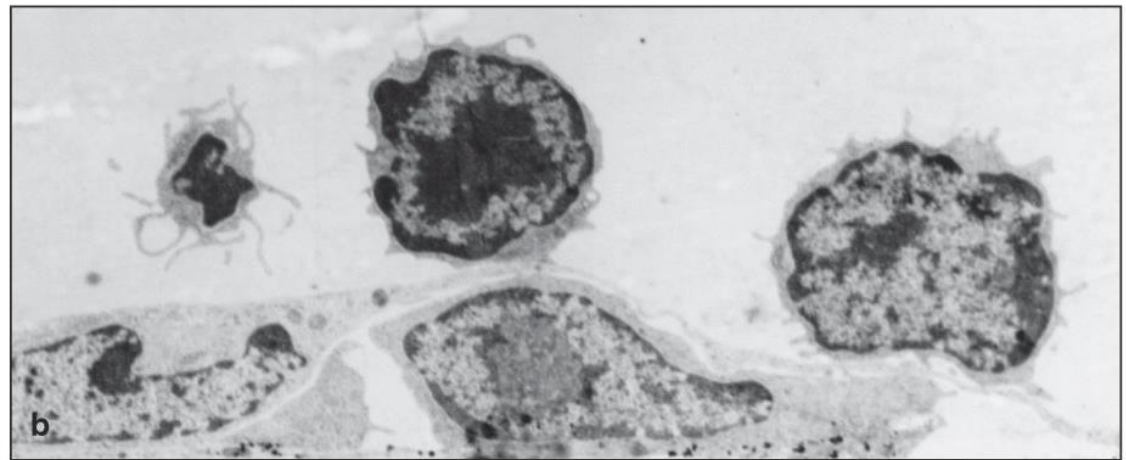
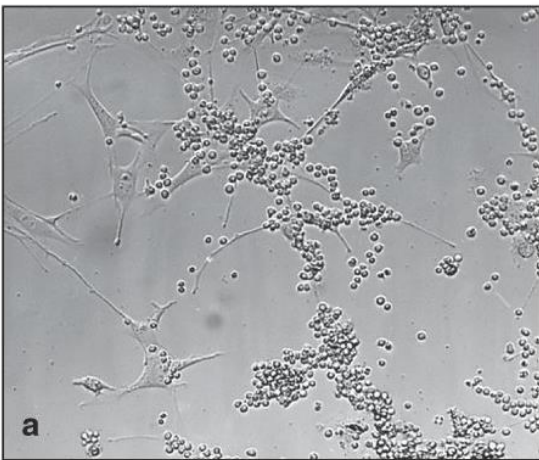
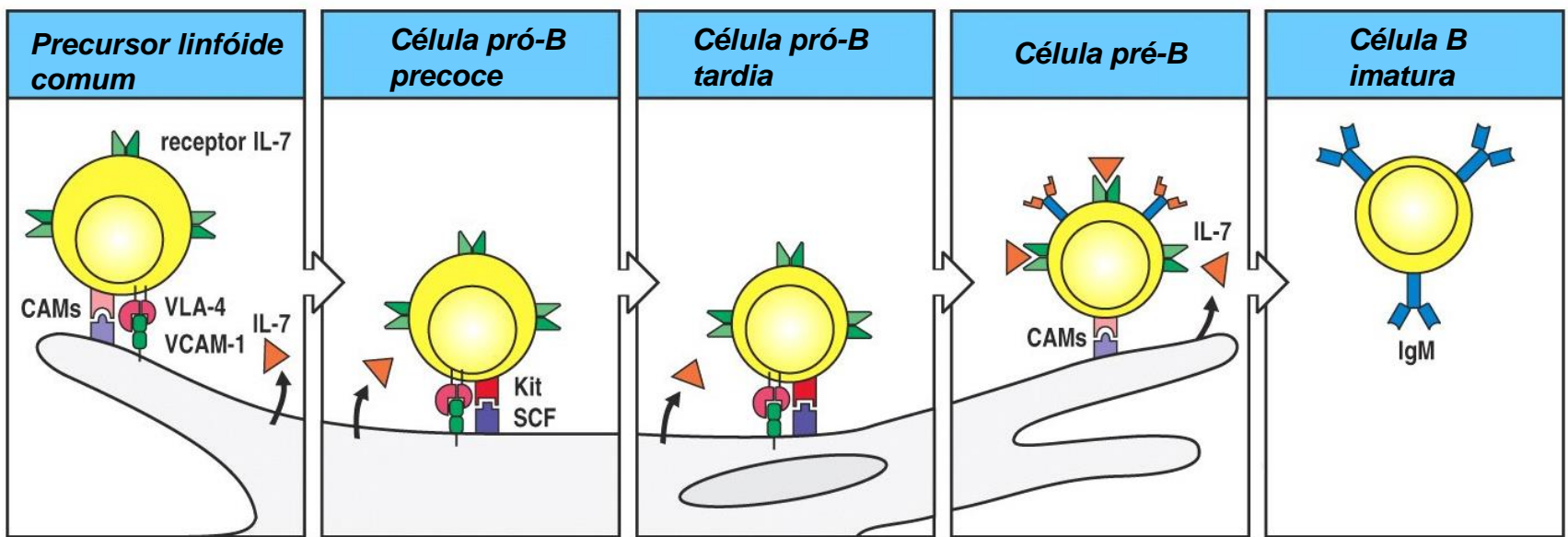


Figure 7-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Seleção Positiva e Negativa dos Linfócitos B

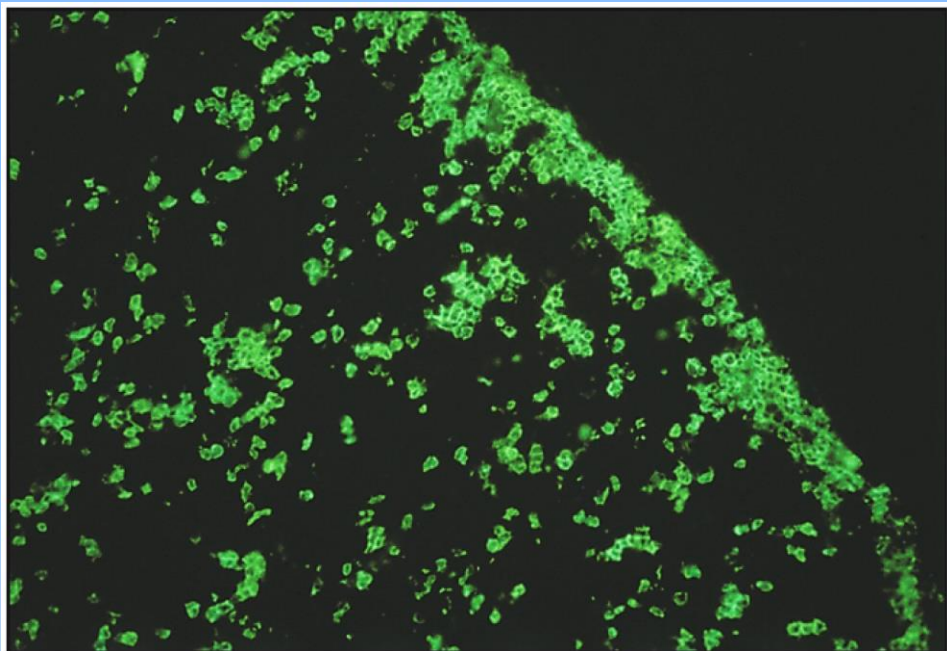


Figure 7-5 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

**Microscopia de Fluorescência de um corte transversal de fêmur**

**Marcação para Transferase desoxinucleotidil Terminal (TdT)**

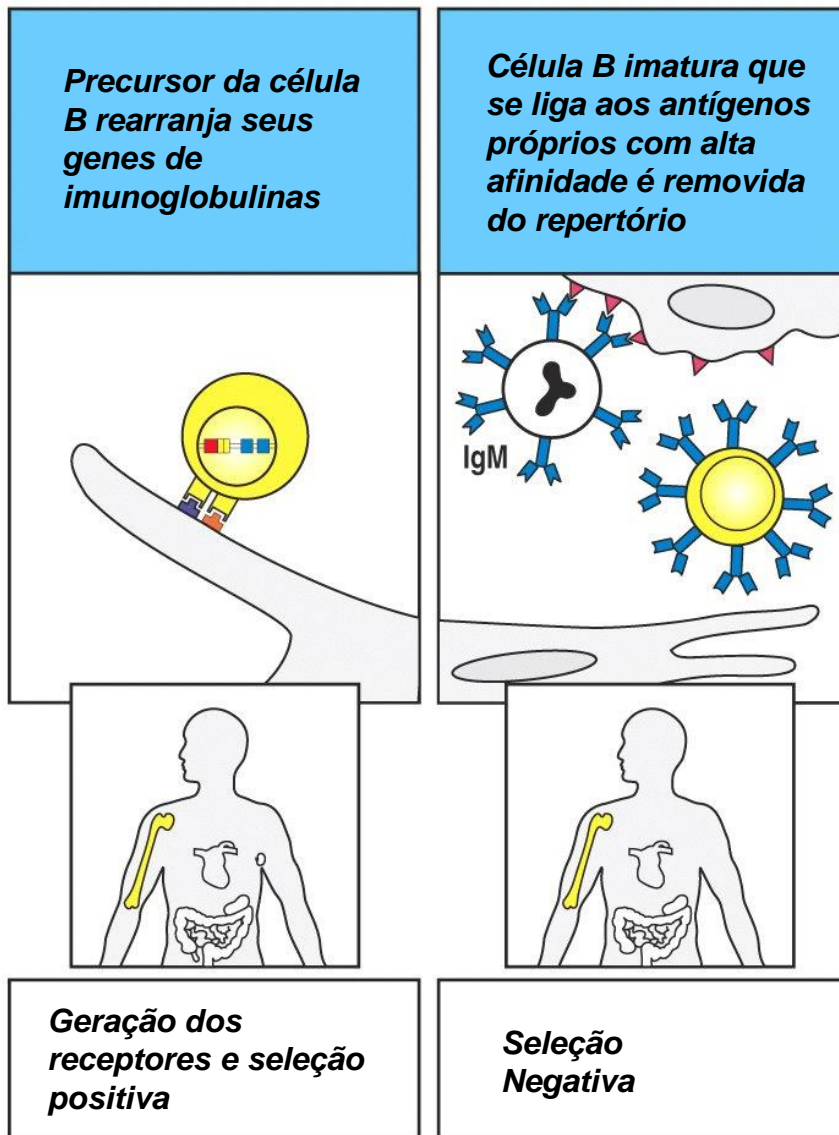
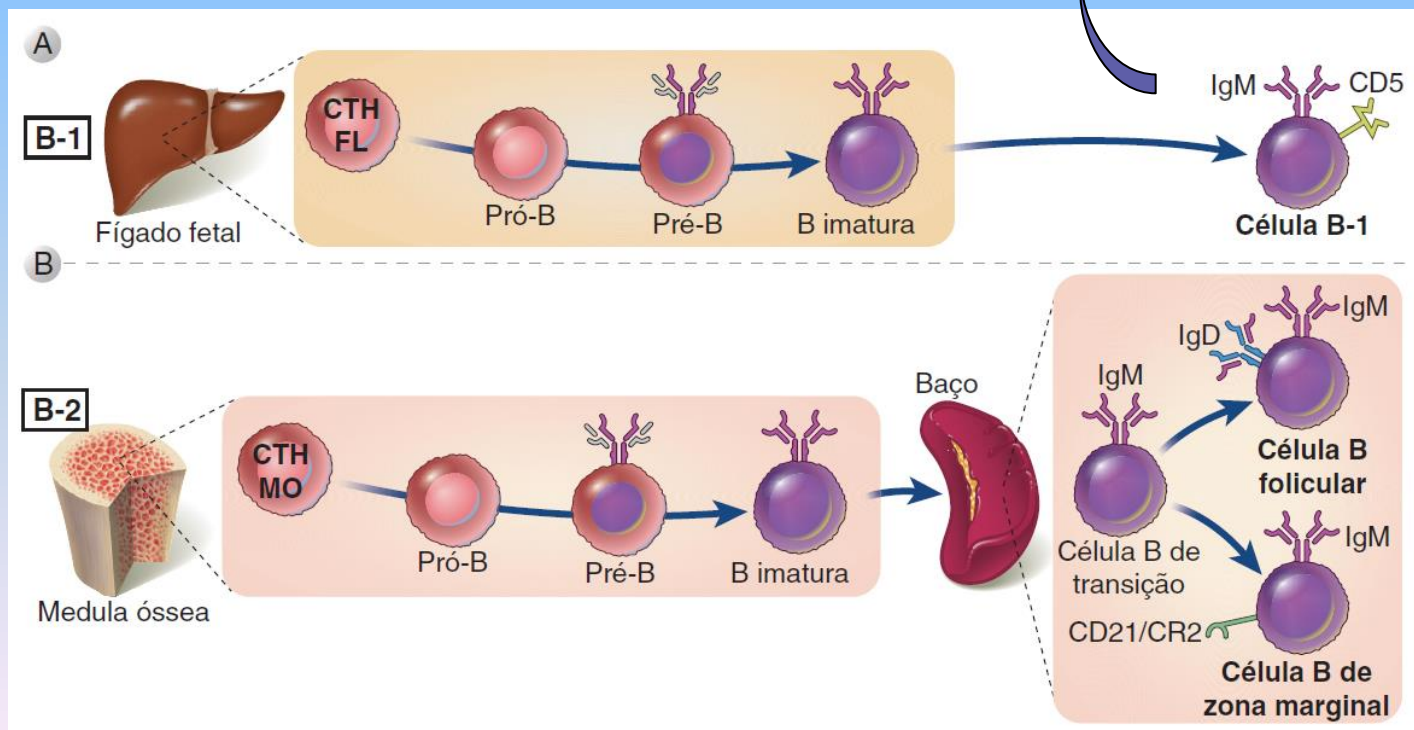
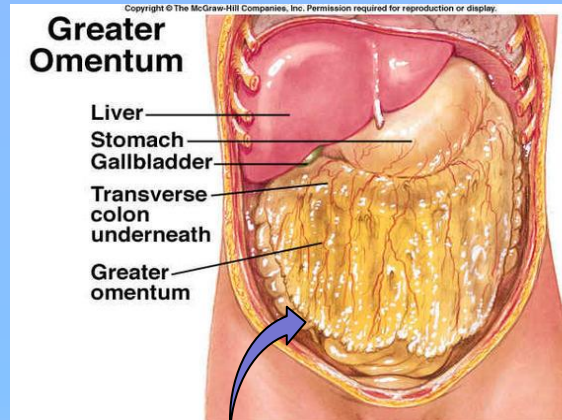
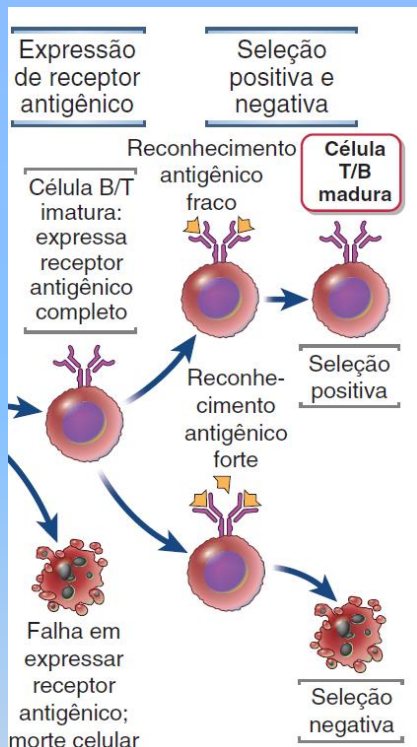


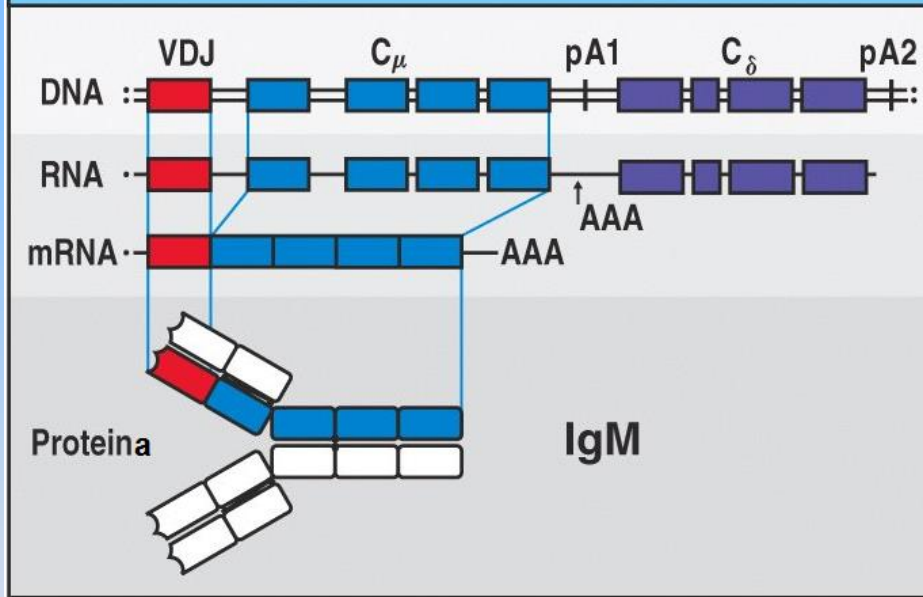
Figure 7-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Linfócitos B: seleção positiva e negativa



# Co-expressão de IgM e IgD

## Expressão de IgM



## Expressão de IgD

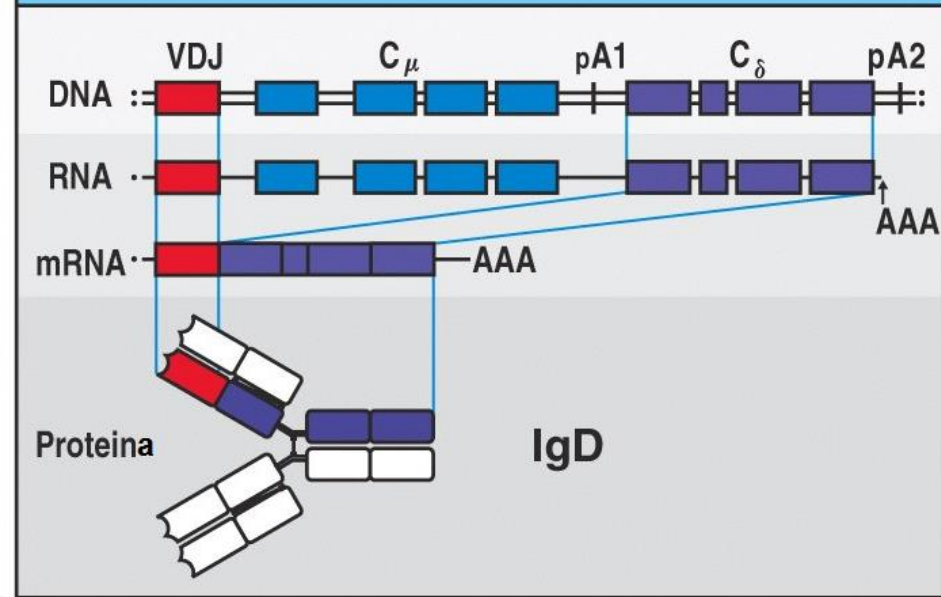
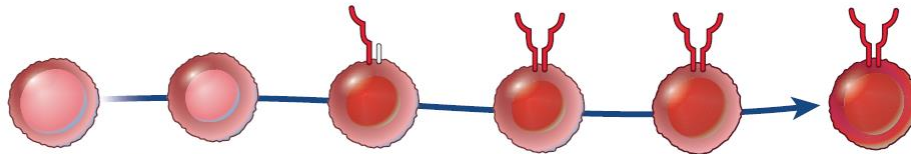


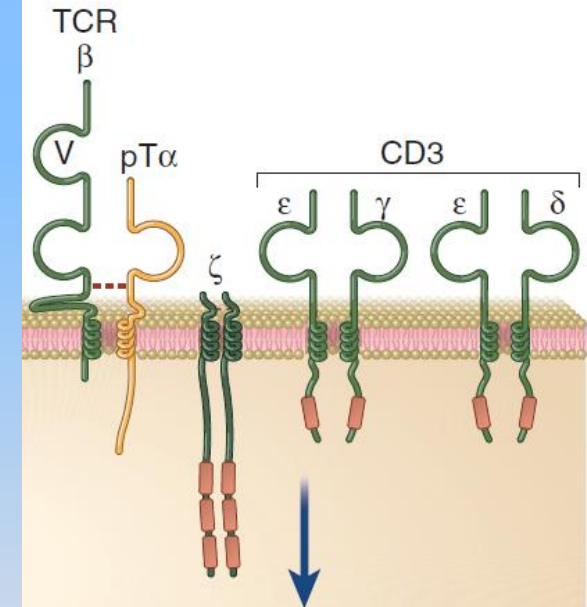
Figure 4-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos T



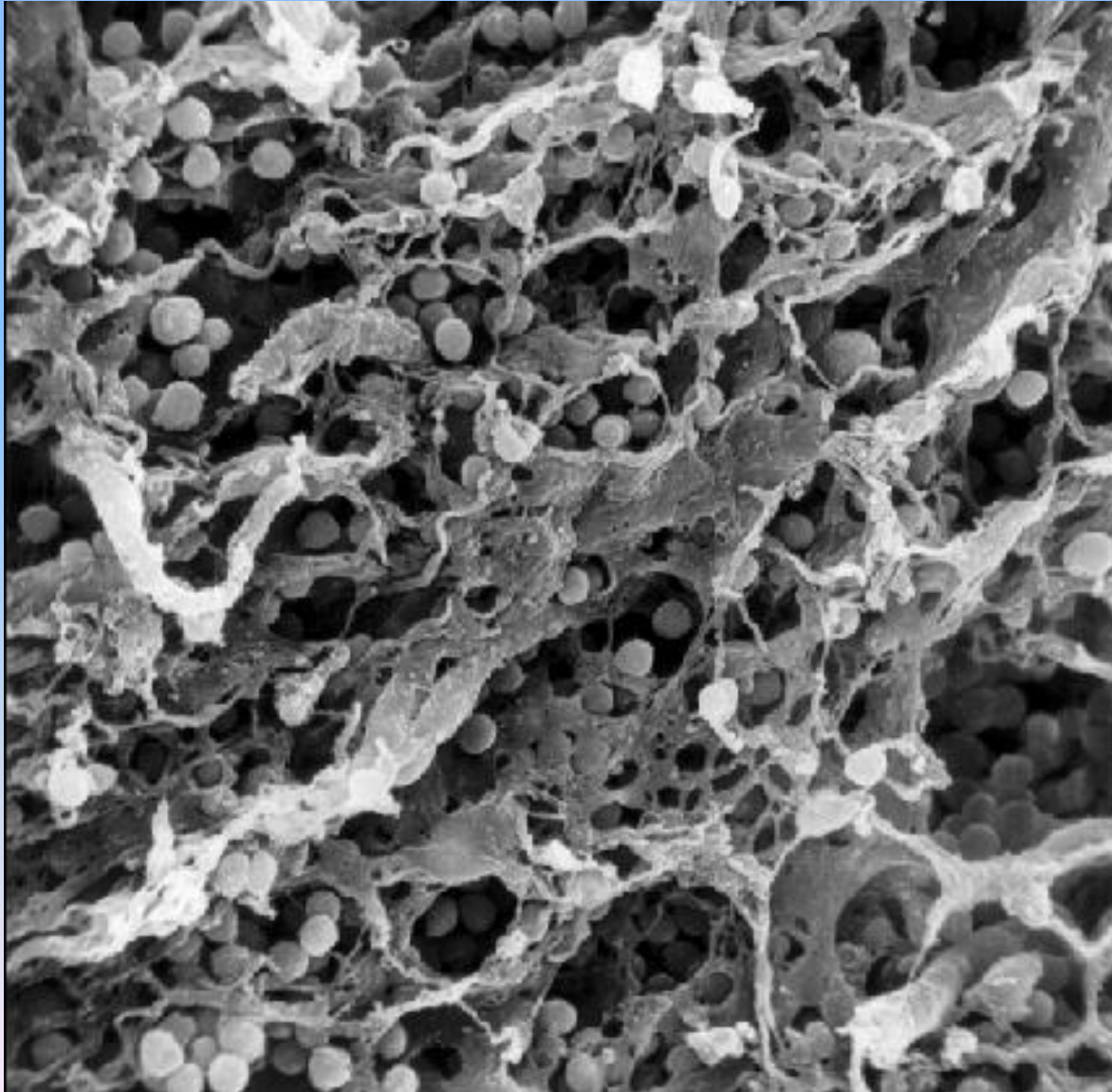
Estágio de maturação	Célula-tronco	Pró-T	Pré-T	Duplo-positivo	Monopositivo (célula T imatura)	Célula T madura
Proliferação	█		█			
Expressão de RAG			█	█		
Expressão de TdT		█				
DNA, RNA de TCR	DNA não recombinado (linhagem germinativa)		Gene de cadeia β recombinado [V(D)J-C]; mRNA de cadeia β	Genes de cadeias β e α recombinados [V(D)J-C]; mRNA de cadeias β e α		
Expressão do TCR	Nenhuma	Nenhuma	Pré-receptor T (cadeia β/pré-Tα)	TCR αβ de membrana		
Marcadores de superfície	c-kit <sup>+</sup> CD44 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup>	c-kit <sup>+</sup> CD44 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup>	c-kit <sup>+</sup> CD44 <sup>-</sup> CD25 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> TCR/CD3 <sup>lo</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> ou CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> TCR/CD3 <sup>hi</sup>	
Sítio anatómico	Medula óssea	Timo				Periferia
Resposta ao antígeno	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Seleção positiva e negativa	Ativação (proliferação e diferenciação)	

## Pré-receptor de célula T



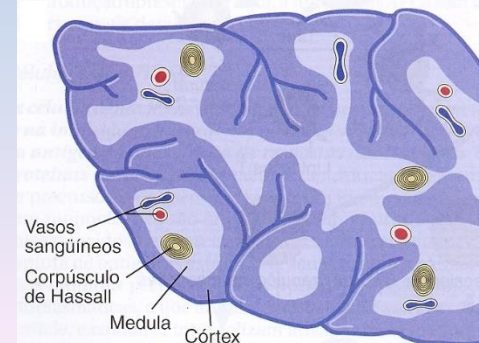
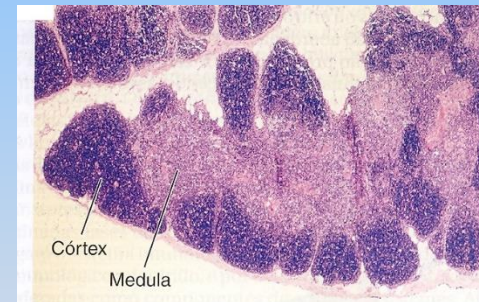
- Inibição da recombinação do gene da cadeia β
- Proliferação de células pré-T
- Estimulação da recombinação da cadeia α
- Expressão de CD4 e CD8
- Desligamento da transcrição de pTα

# Anatomia do Timo



**Timo de camundongos:**

- $1-2 \times 10^8$  células totais
- $5 \times 10^7$  novas células diariamente
- $1-2 \times 10^6$  deixam o timo diariamente (2-4% do total)



# Estágios de Desenvolvimento dos Timócitos

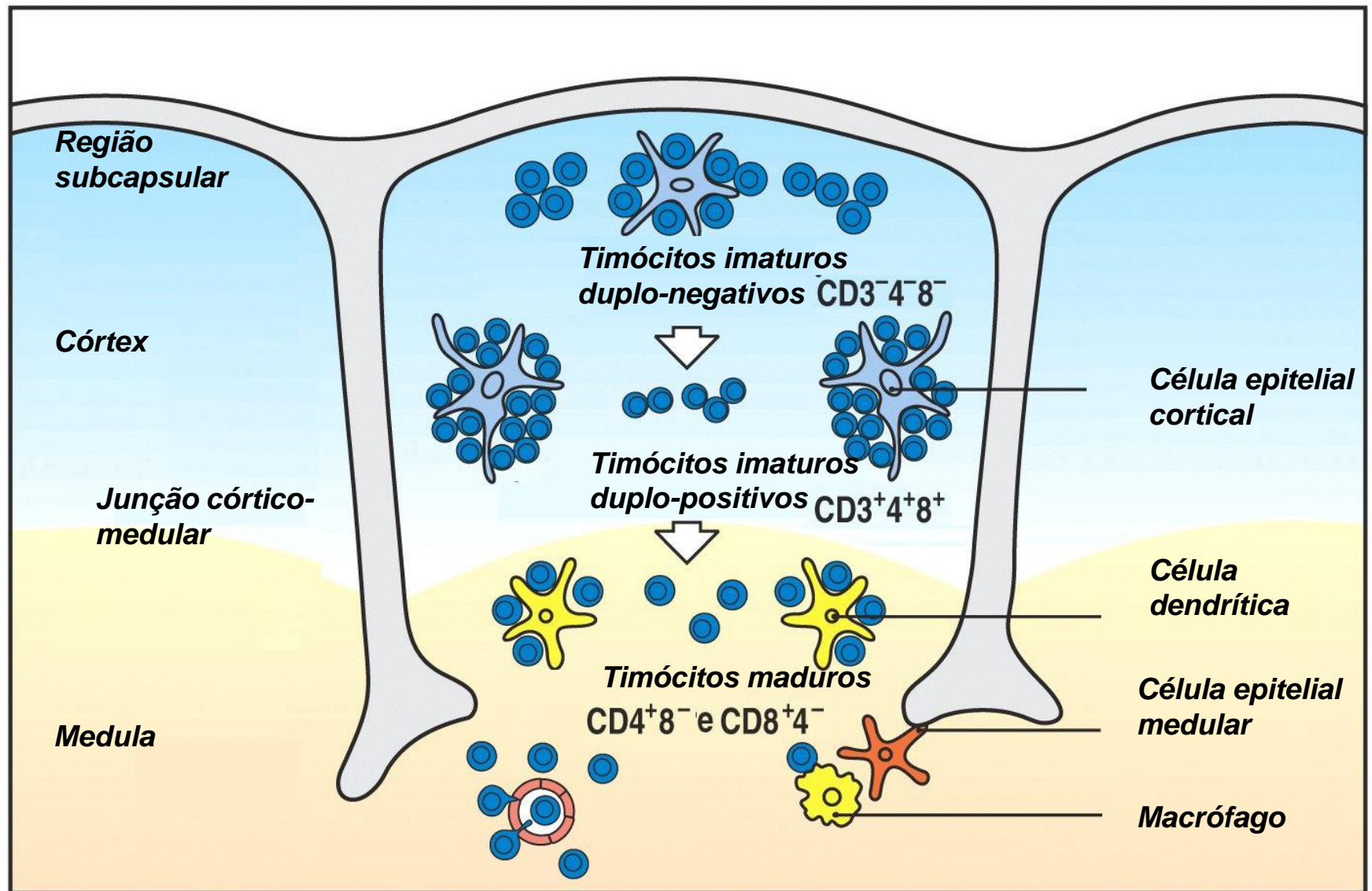
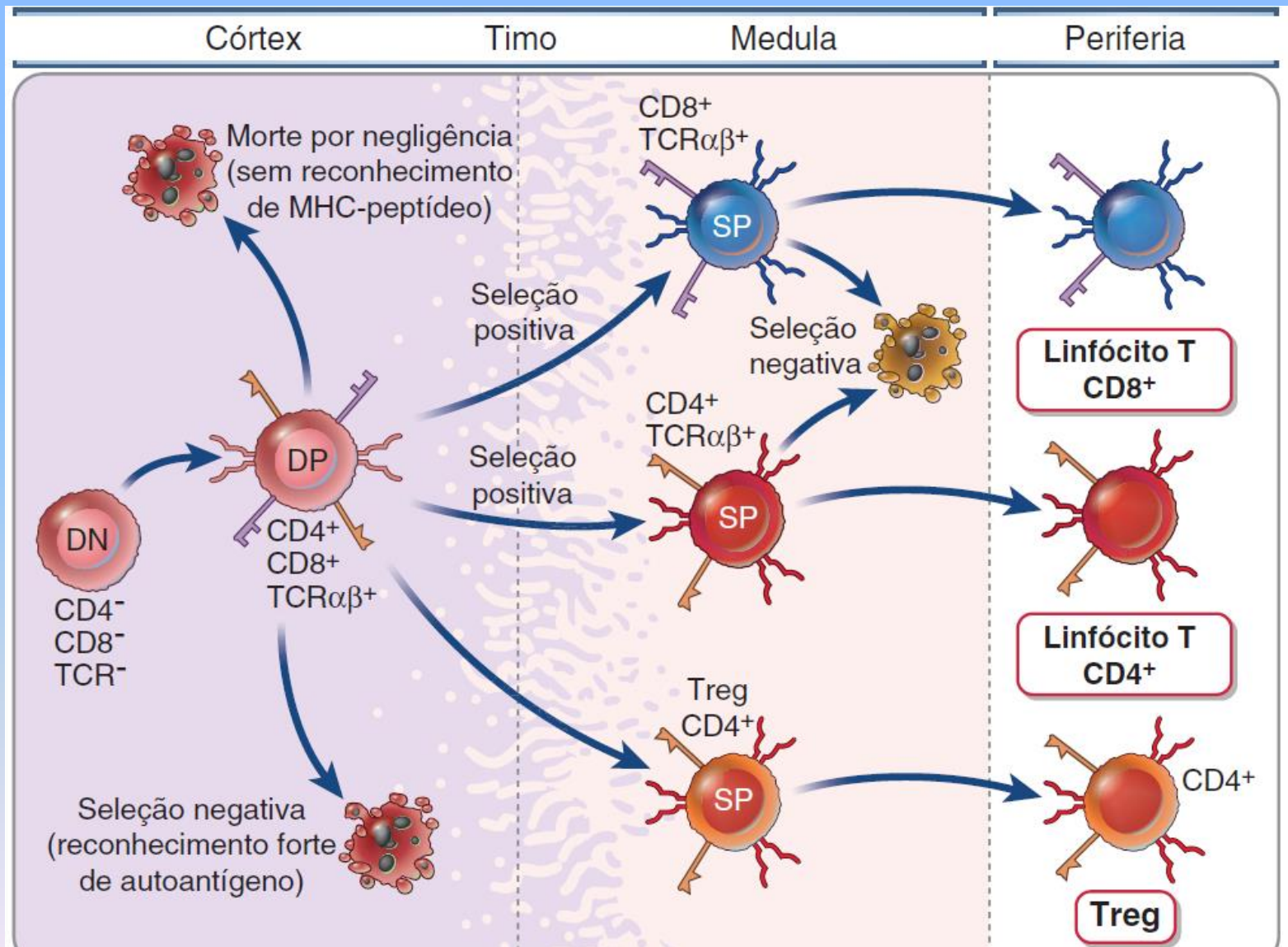


Figure 7-14 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

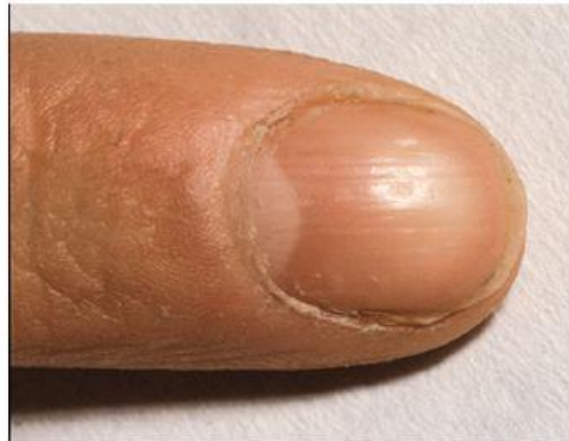


# Visão Geral do Desenvolvimento dos Linfócitos T



# ***Imunodeficiências podem causar autoimunidade***

## ***Mutações no gene AIRE***



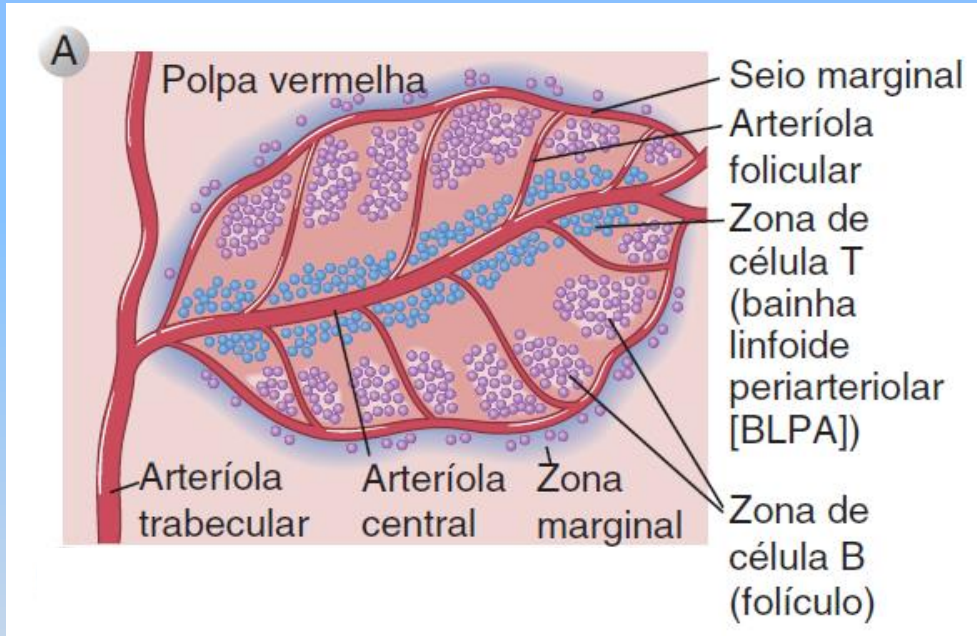
©Therapia Fennica / Kandiapattikustannus OY

[http://therapiafennica.fi/wiki/images/1/17/TFA\\_2007.jpg](http://therapiafennica.fi/wiki/images/1/17/TFA_2007.jpg)

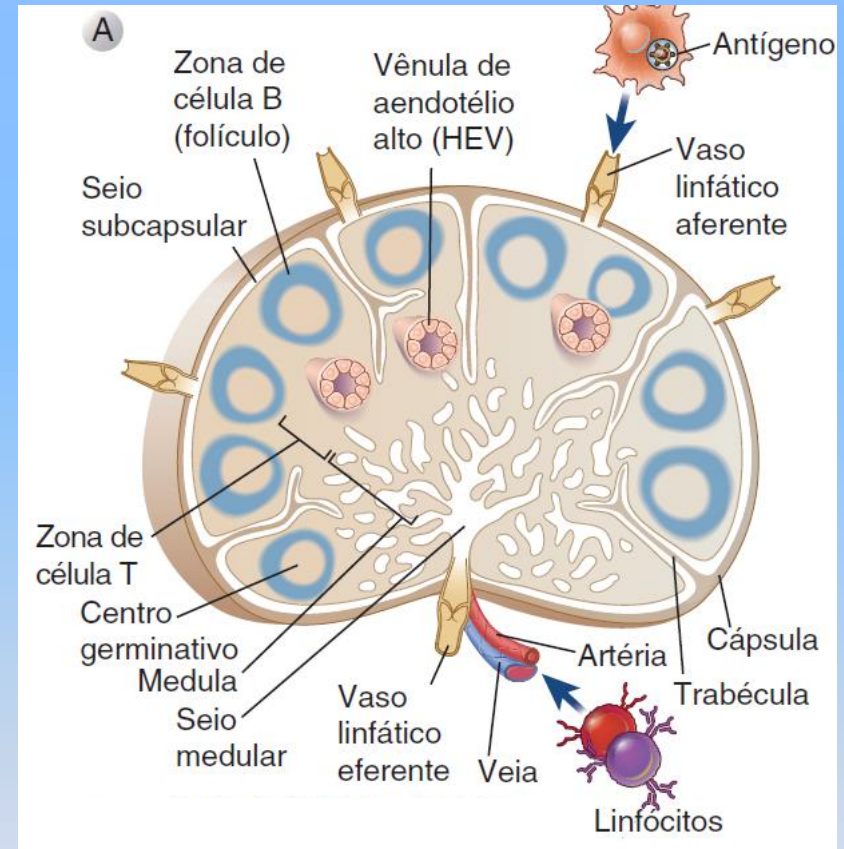
[http://dermatology-s10.cdlib.org/1603/case\\_presentations/aps\\_child/1.jpg](http://dermatology-s10.cdlib.org/1603/case_presentations/aps_child/1.jpg)

***Poliendocrinopatia autoimune associada à candidíase e distrofia ectodérmica (APECED)***

# Órgãos Linfóides secundários (periféricos)

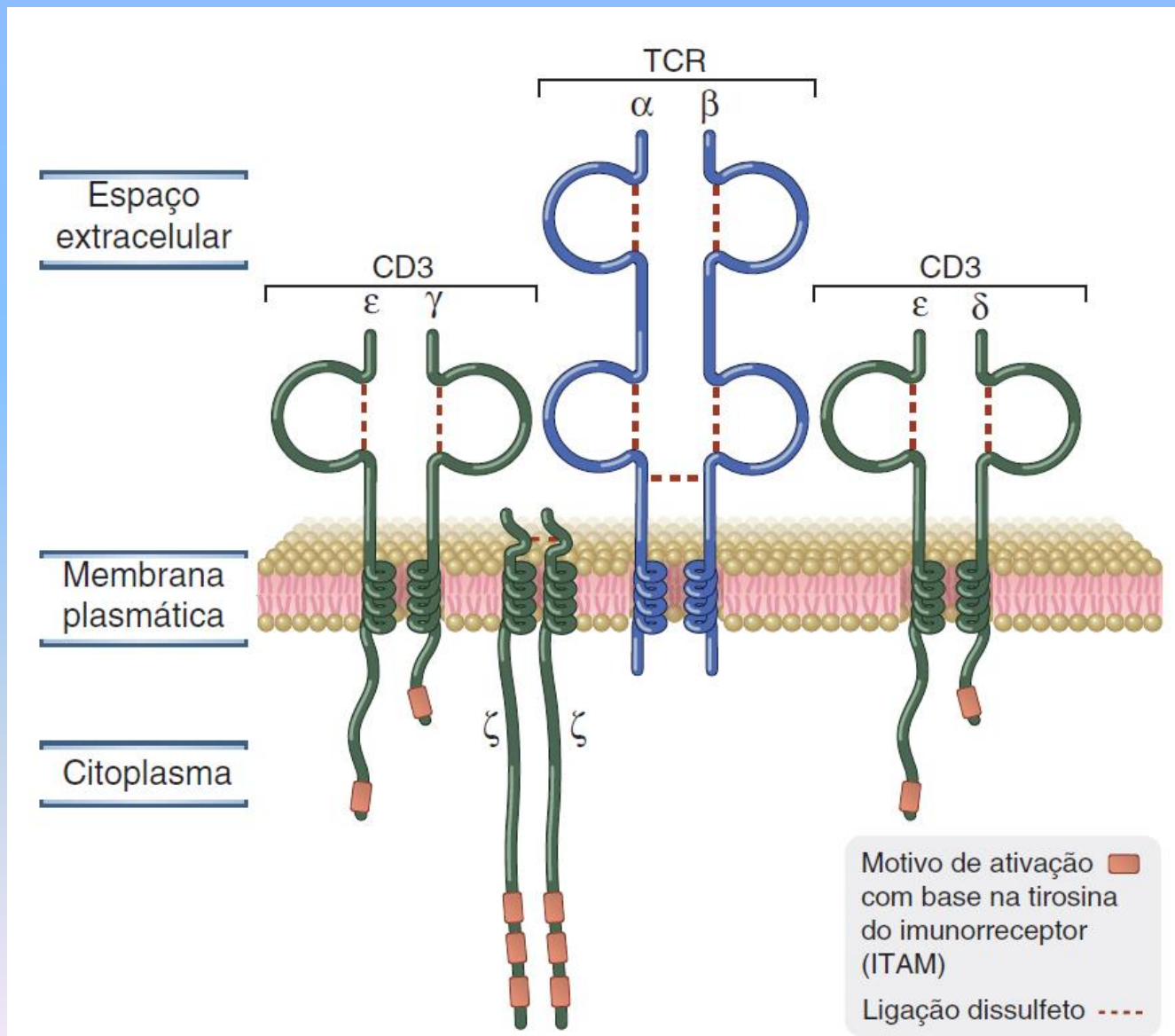


**Polpa branca do baço**

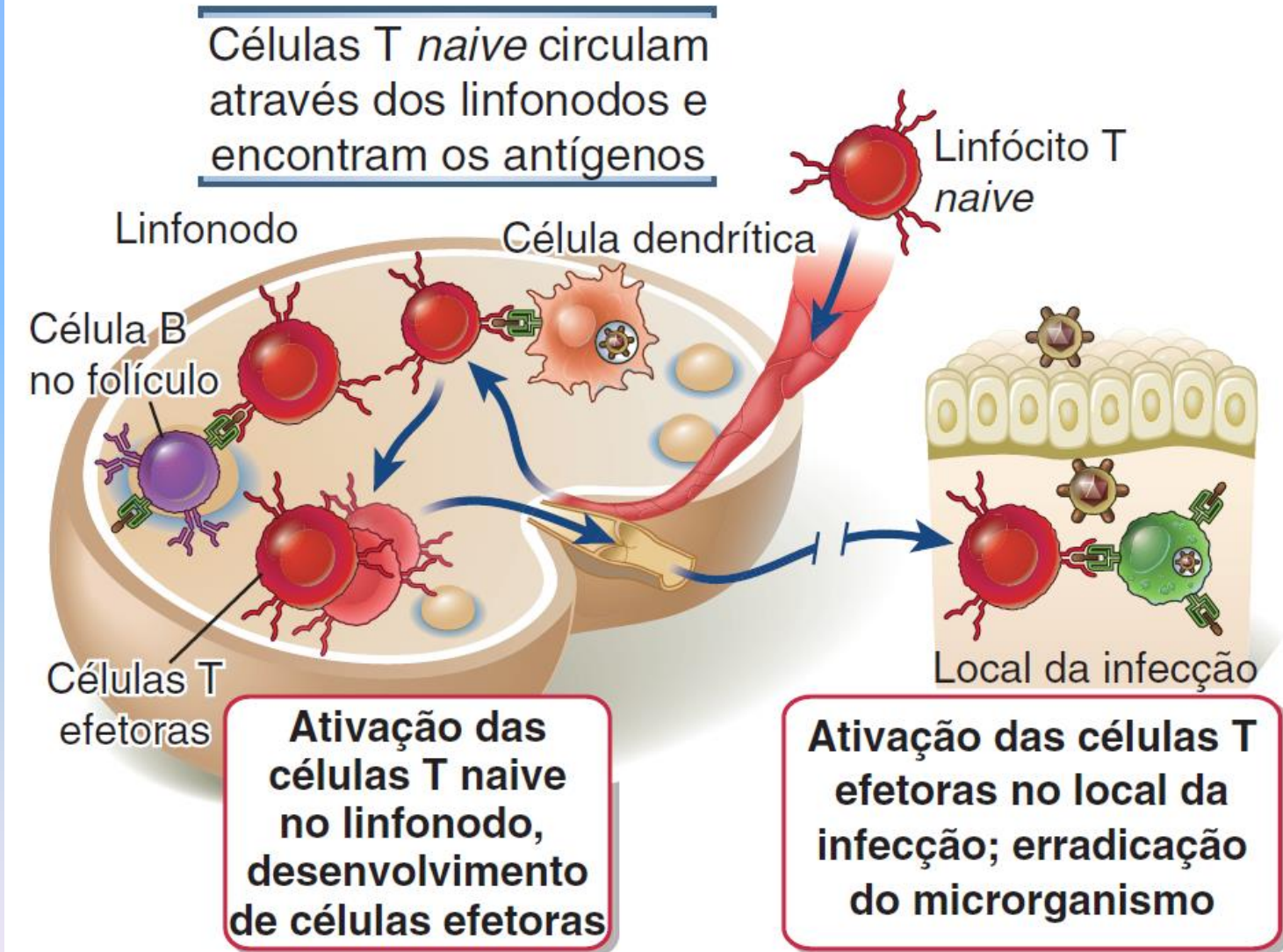


**Linfonodos**

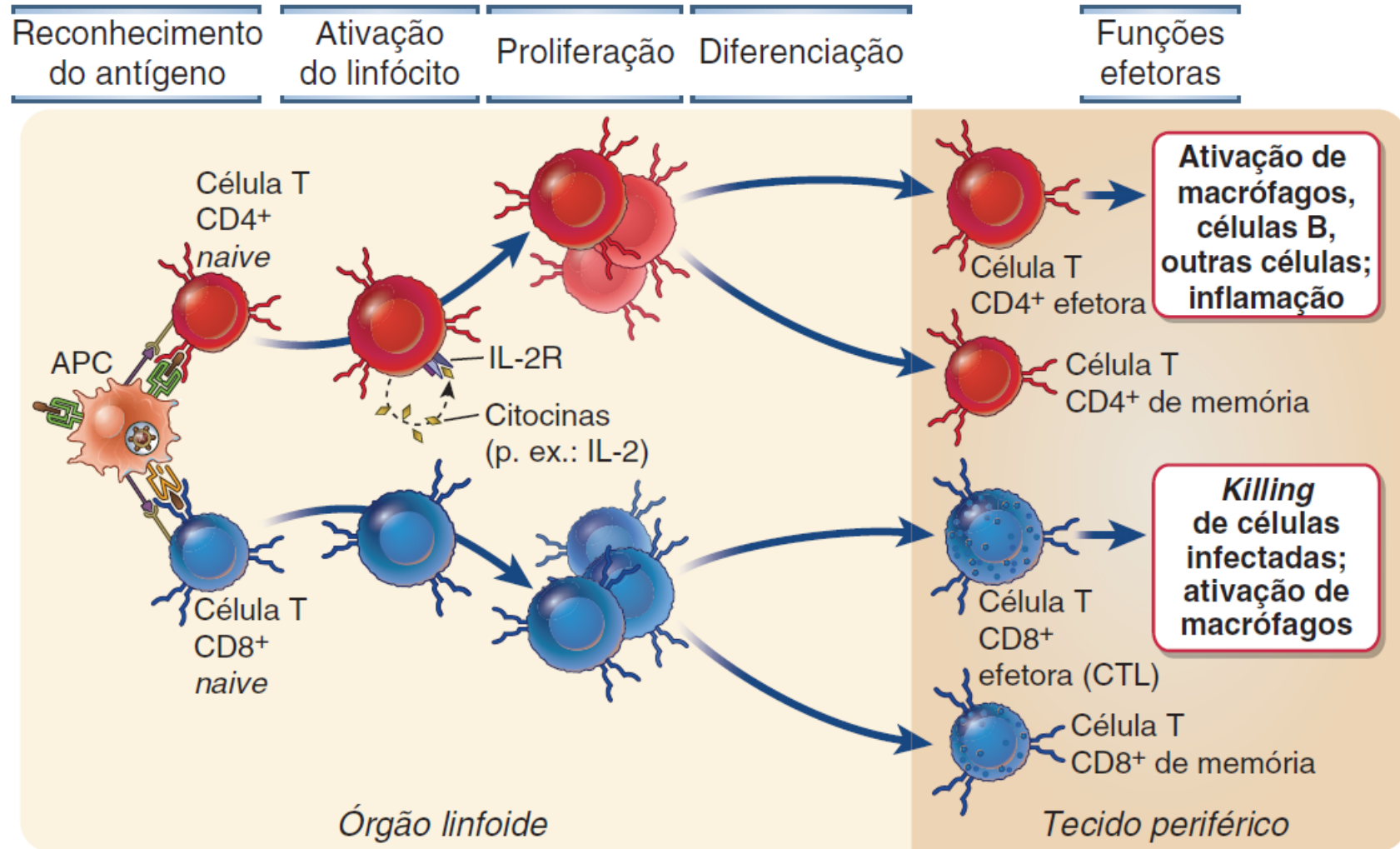
# Linfócitos T : complexo TCR / CD3 / cadeia zeta



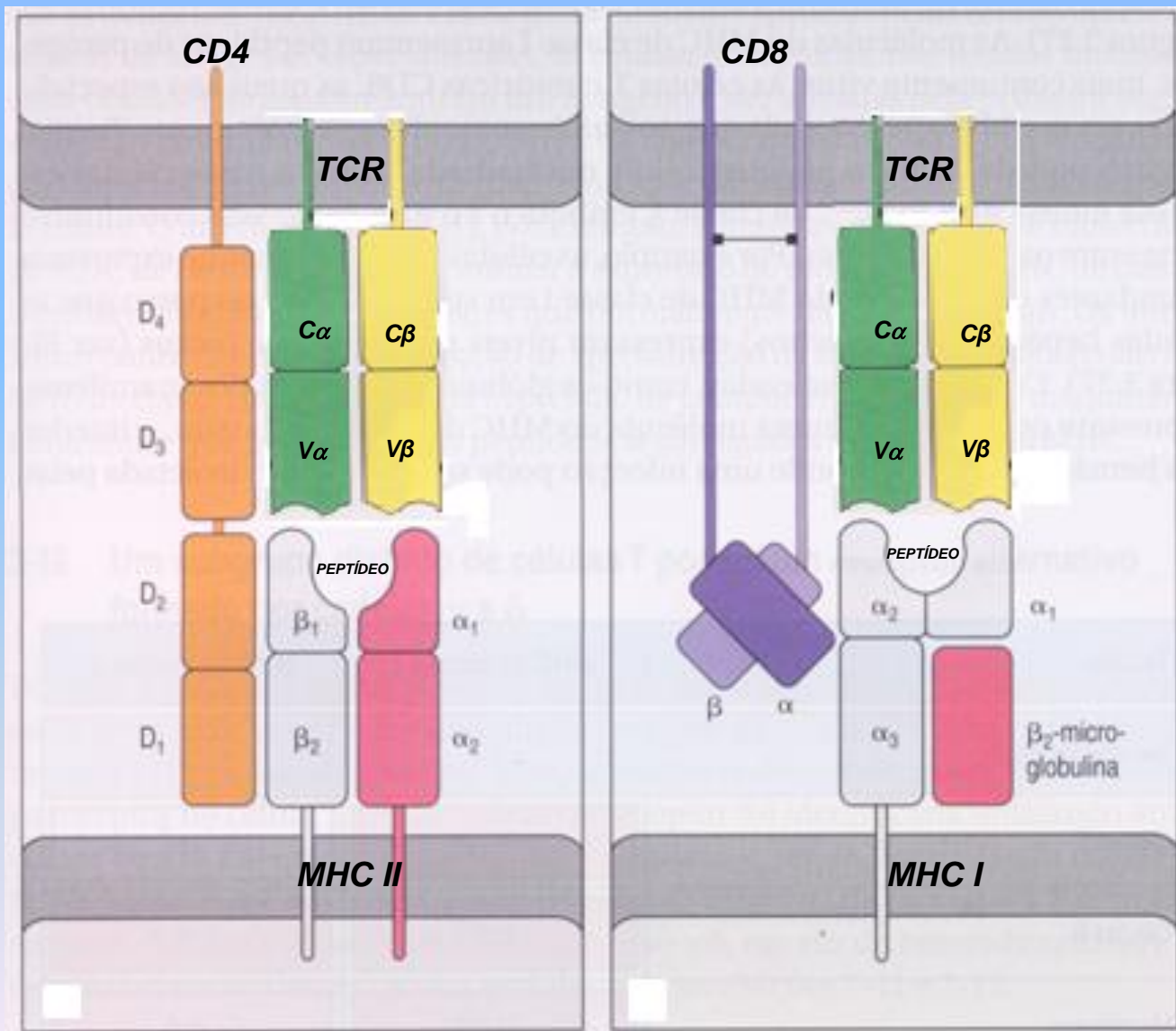
# Ativação dos Linfócitos T nos Linfonodos



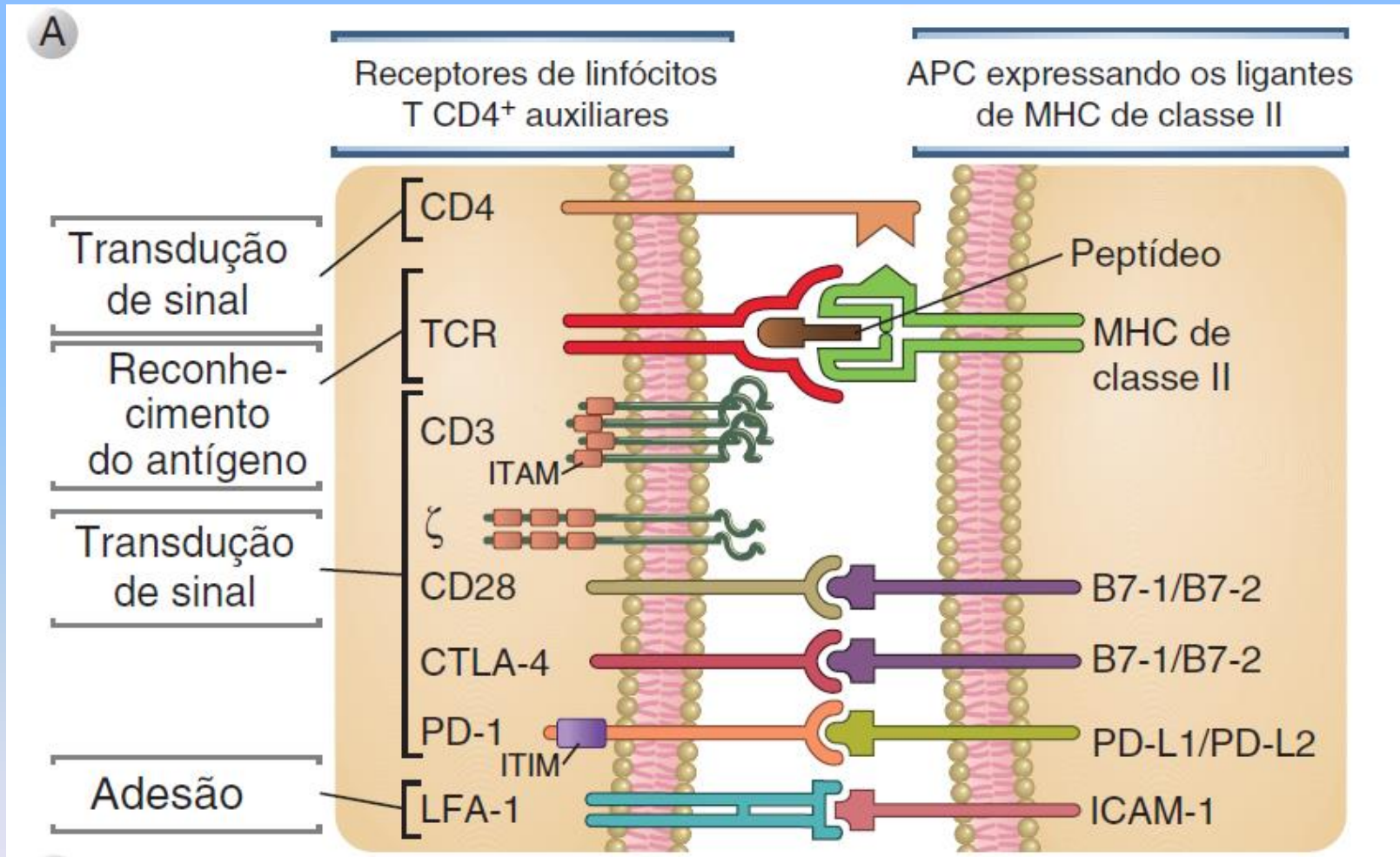
# Sequência de eventos nas respostas de células T



# Ligação MHC-peptídeos / TCR-CD4 ou CD8



# TCR e Moléculas Acessórias



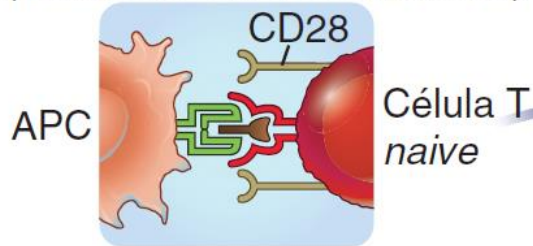


# Moléculas Co-Estimuladoras: 2º sinal

## Reconhecimento do antígeno

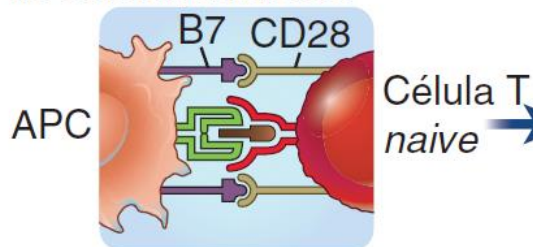
## Resposta da célula T

- A APC não ativada  
(deficiente em coestimulador)



Ausência de resposta  
ou tolerância

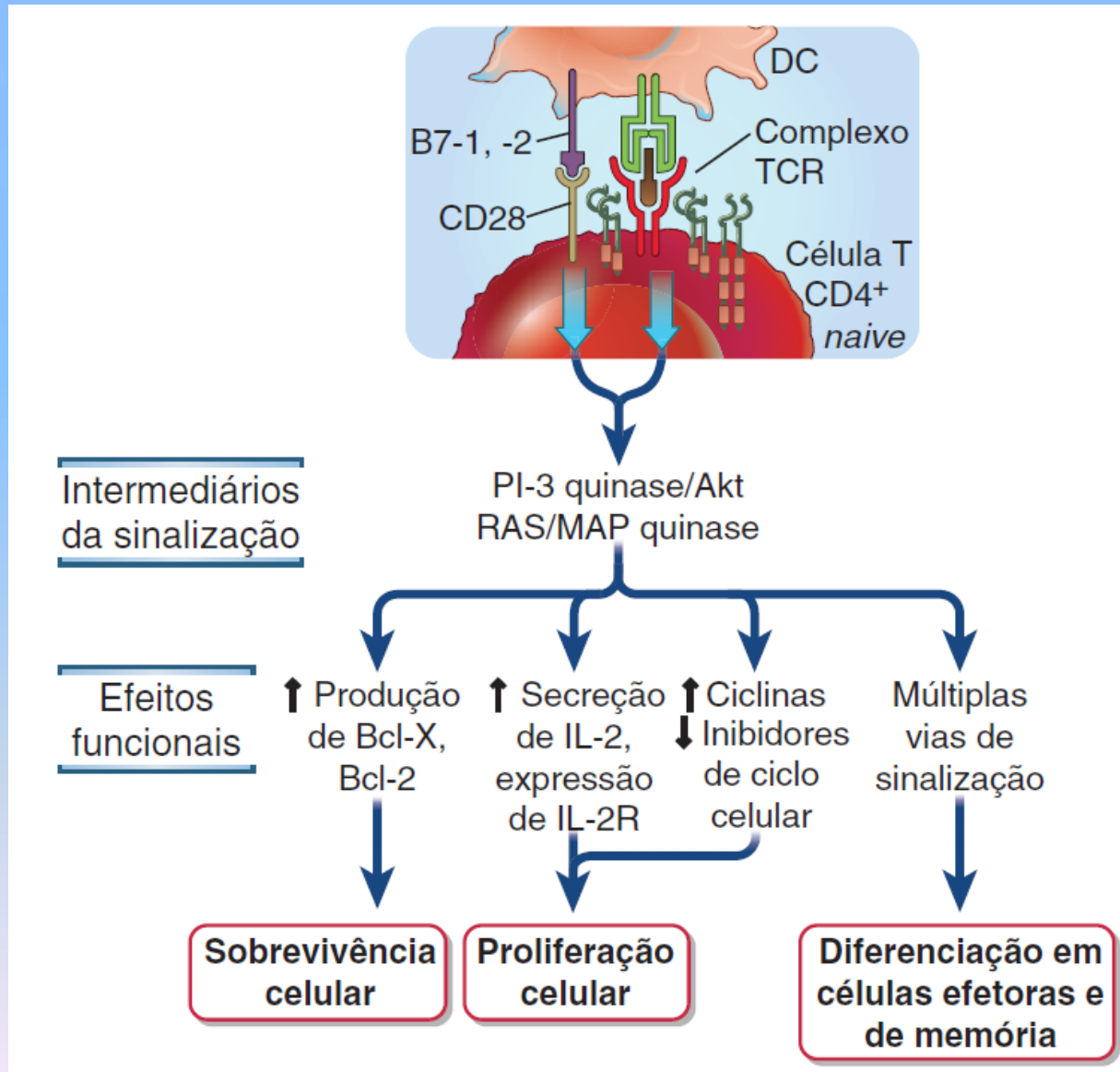
- B APC ativada por microrganismos,  
respostas imunes inatas:  
expressão aumentada  
de coestimuladores



Células T  
efetoras

Sobrevivência da  
célula T, proliferação  
e diferenciação

# Mecanismos de coestimulação pelo CD28

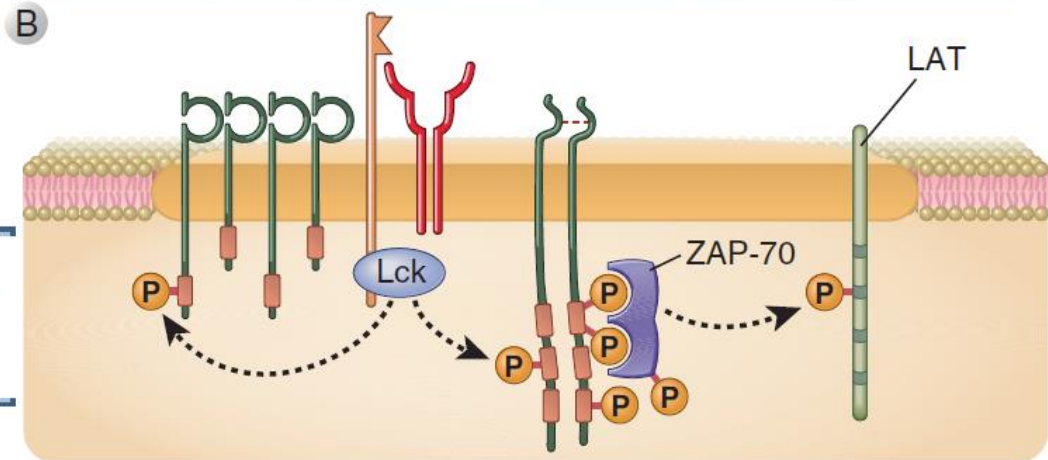
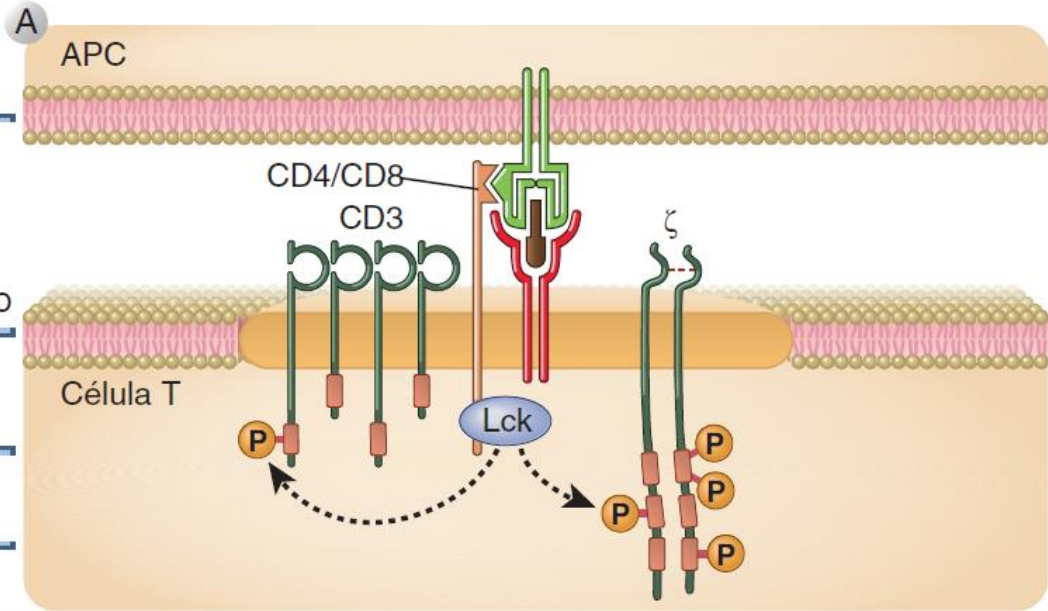


# Eventos Iniciais da Ativação dos Linfócitos

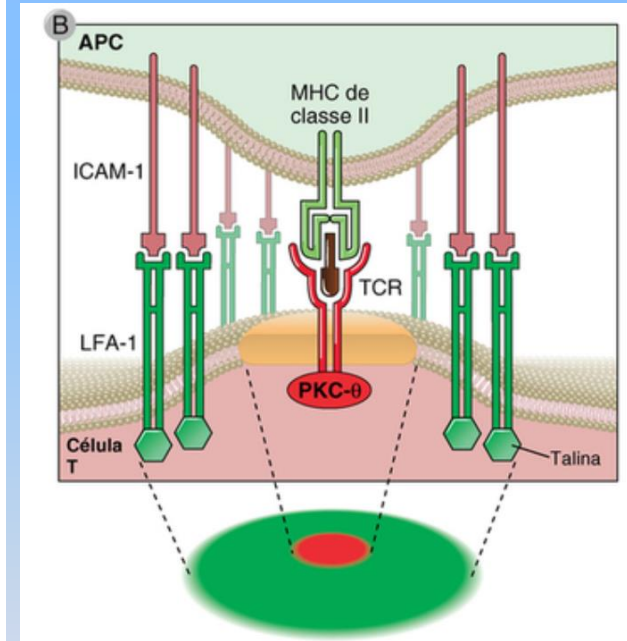
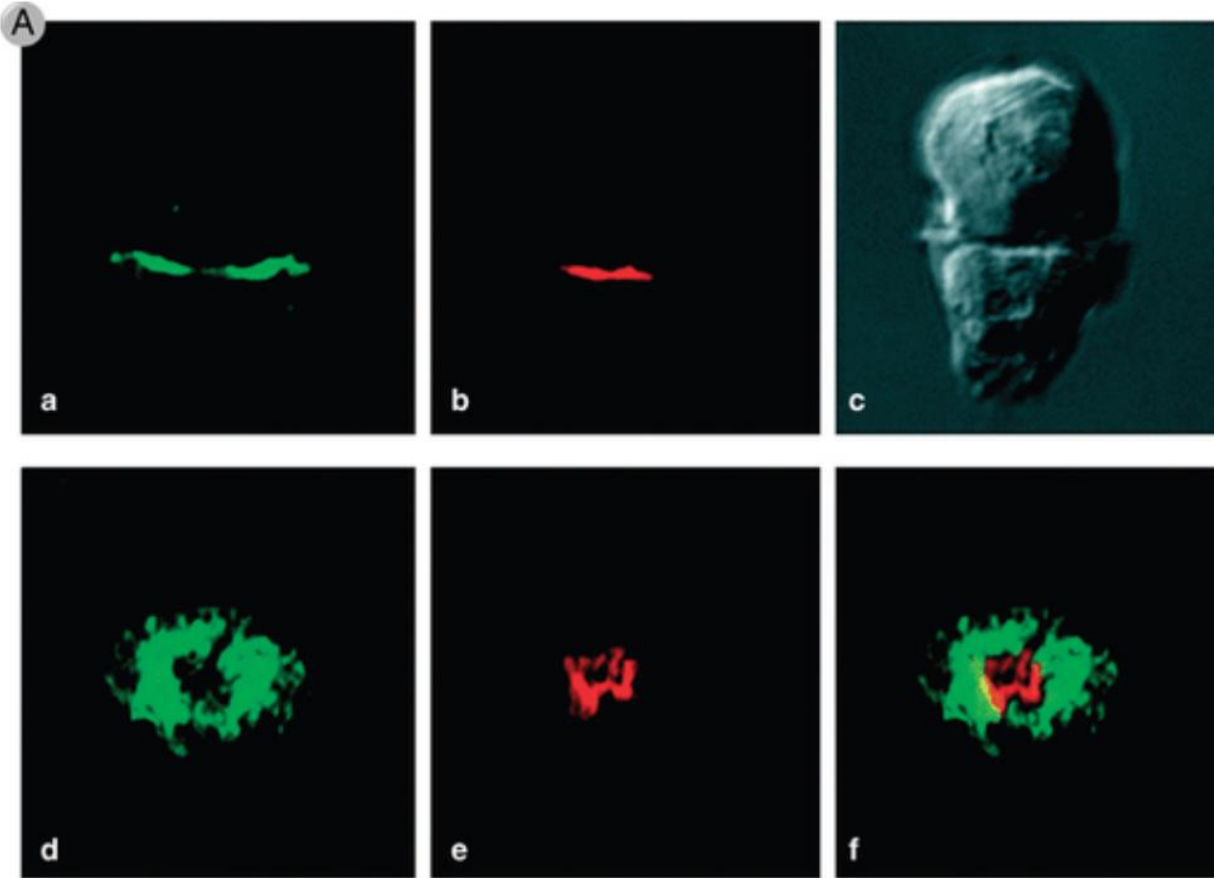
Complexo TCR e correceptores são agrupados no interior das balsas lipídicas pelo reconhecimento antigênico

Lck fosforila tirosinas nos ITAMs

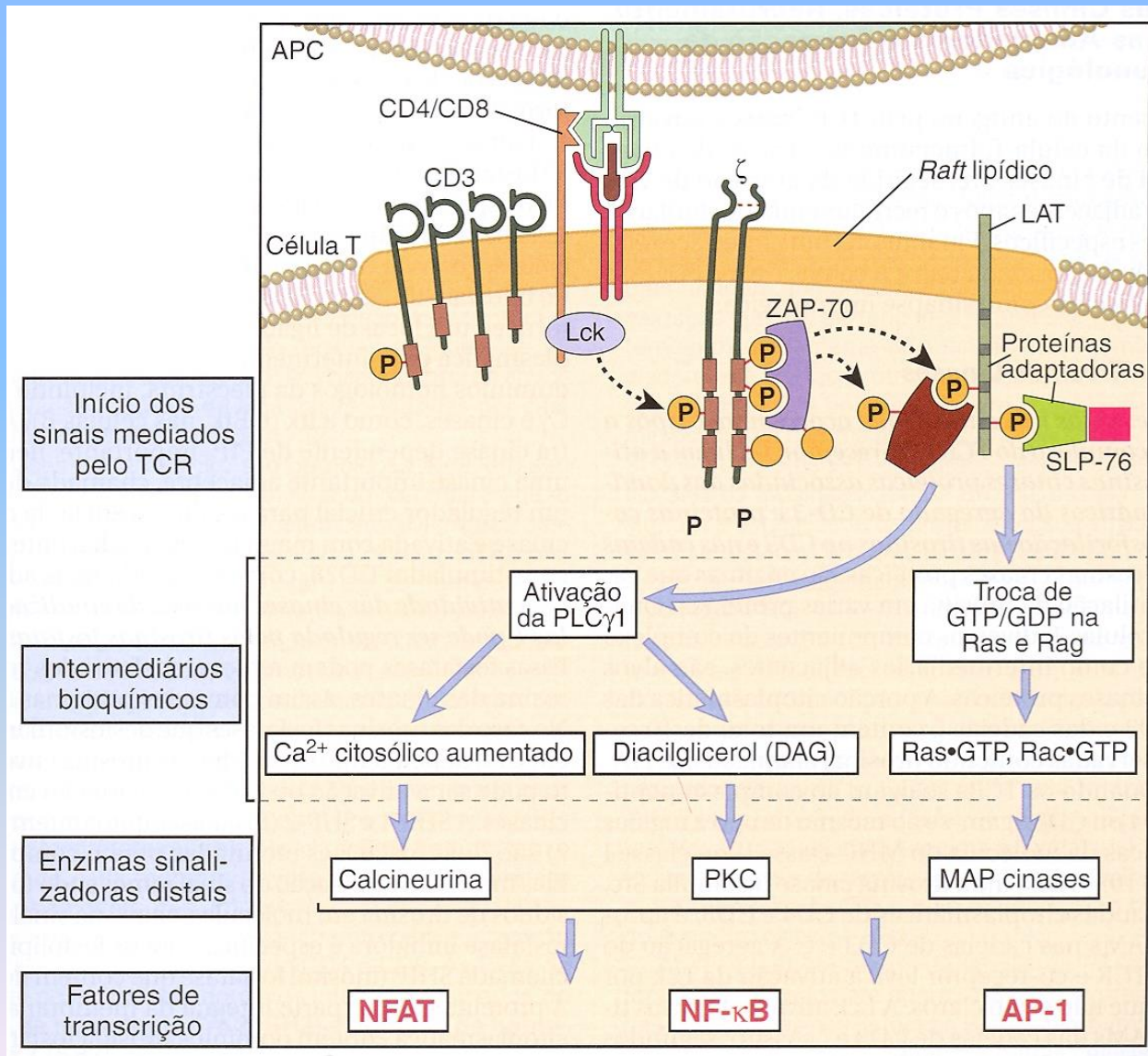
ZAP-70 se liga a fosfotirosinas e fosforila proteínas adaptadoras, incluindo LAT



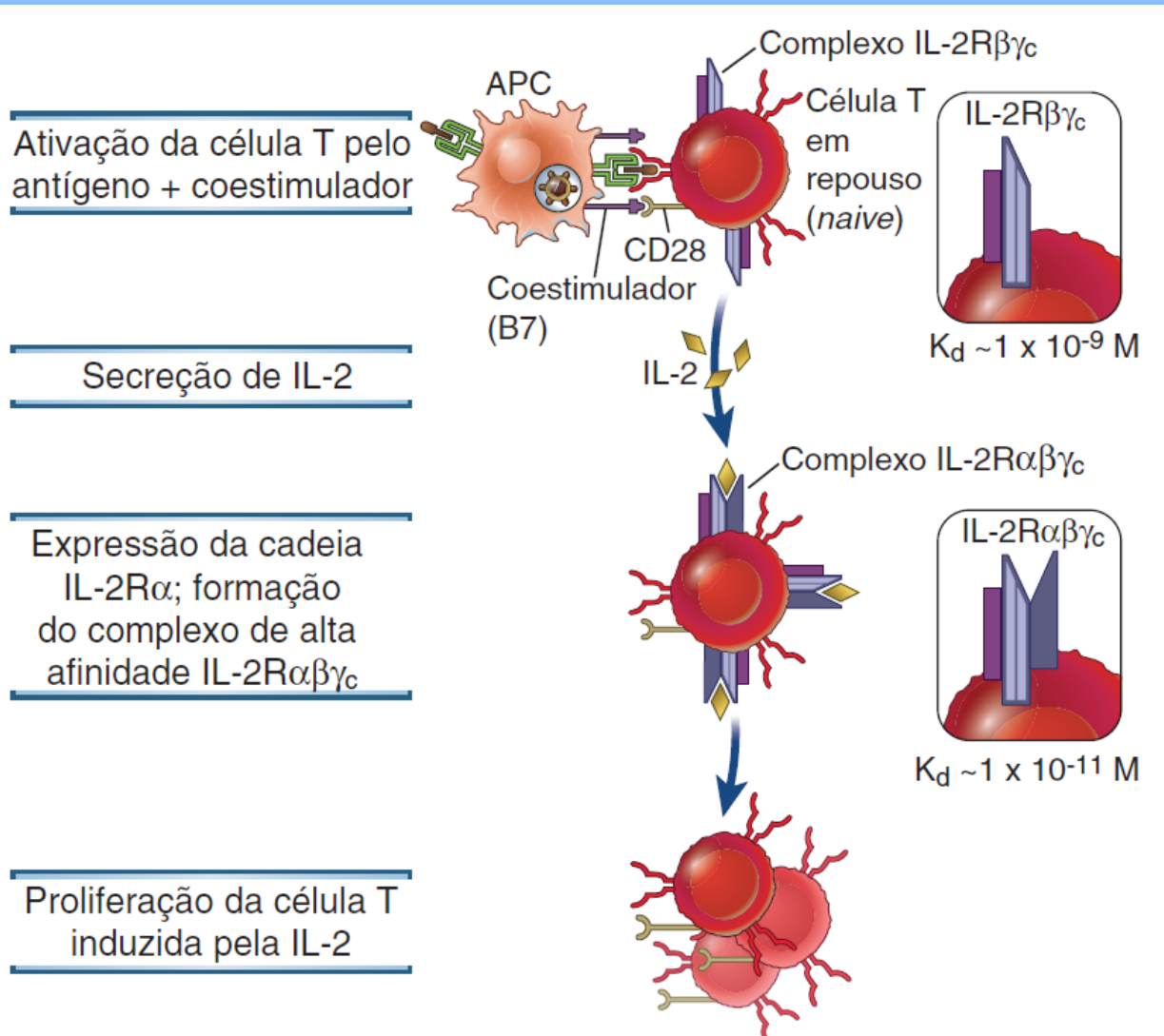
# *Sinapse Imunológica* *(Agregado de Ativação Supramolecular)*



# Ativação de Fatores de Transcrição

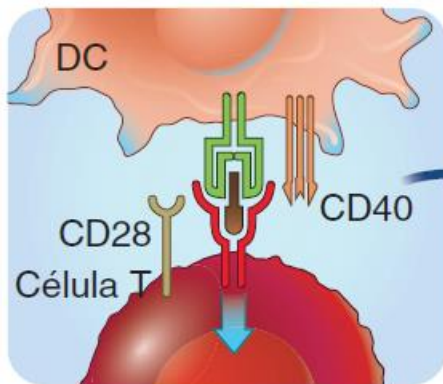


# IL-2: citocina responsável pela proliferação

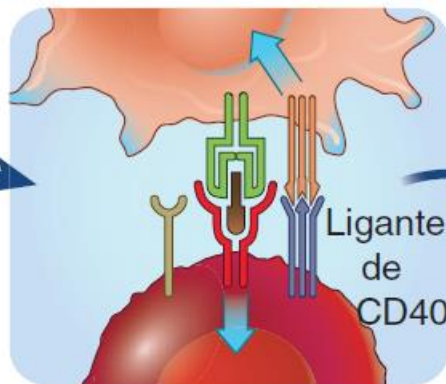


# Expressão de CD40: licenciamento

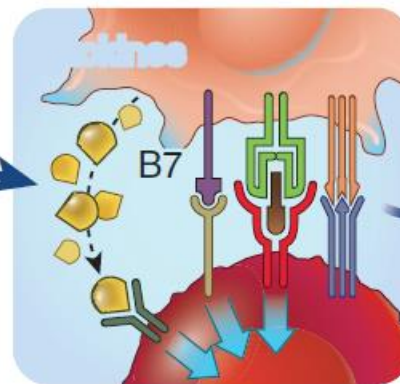
Células T reconhecem o antígeno (com ou sem coestimuladores B7)



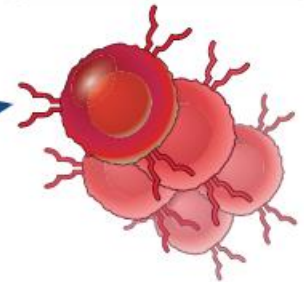
CD40L é expresso em células T e se liga ao CD40 na DC; leva à ativação da DC



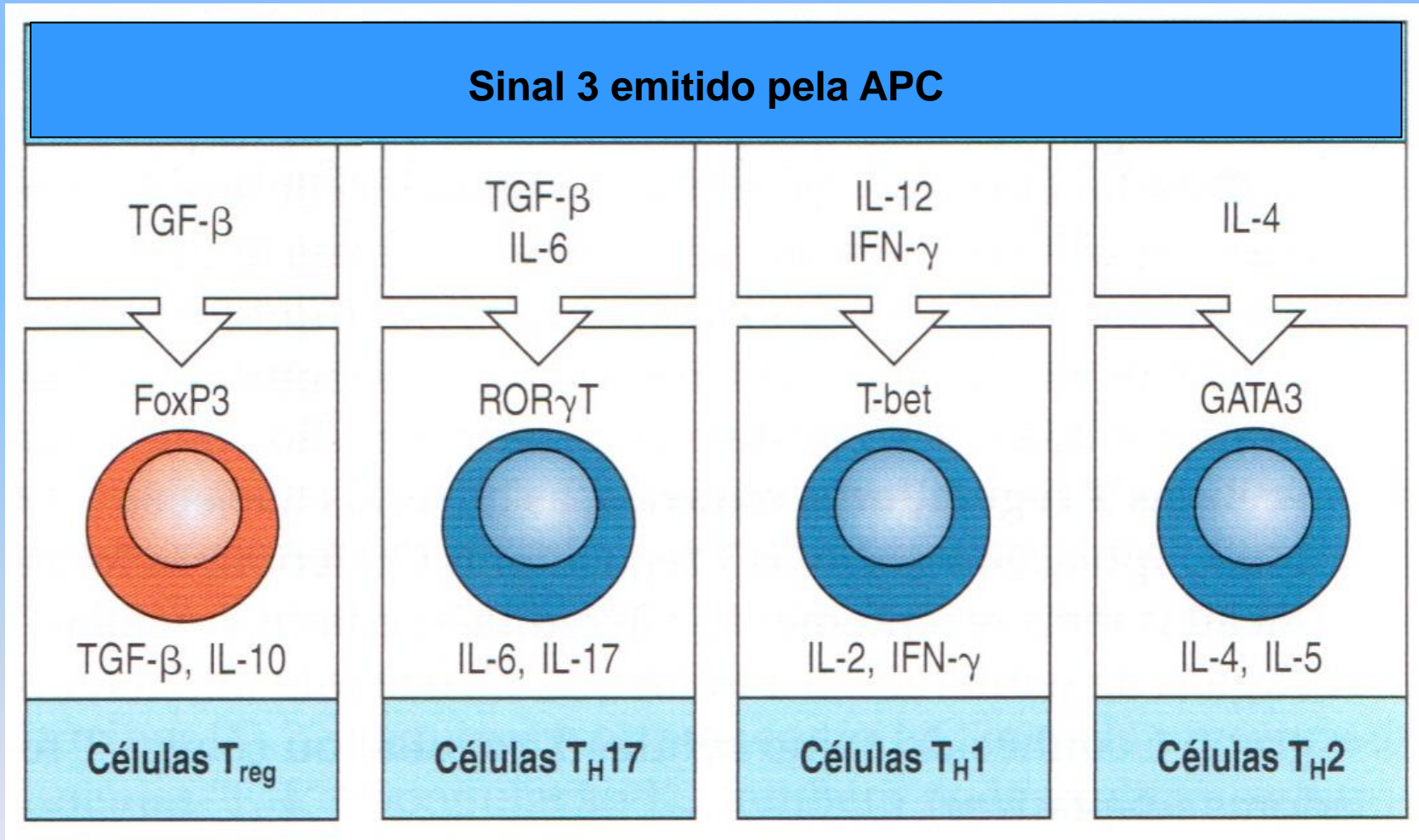
DC expressa B7 e secreta citocinas, as quais aumentam a ativação da célula T



**Aumento da proliferação e diferenciação das células T**

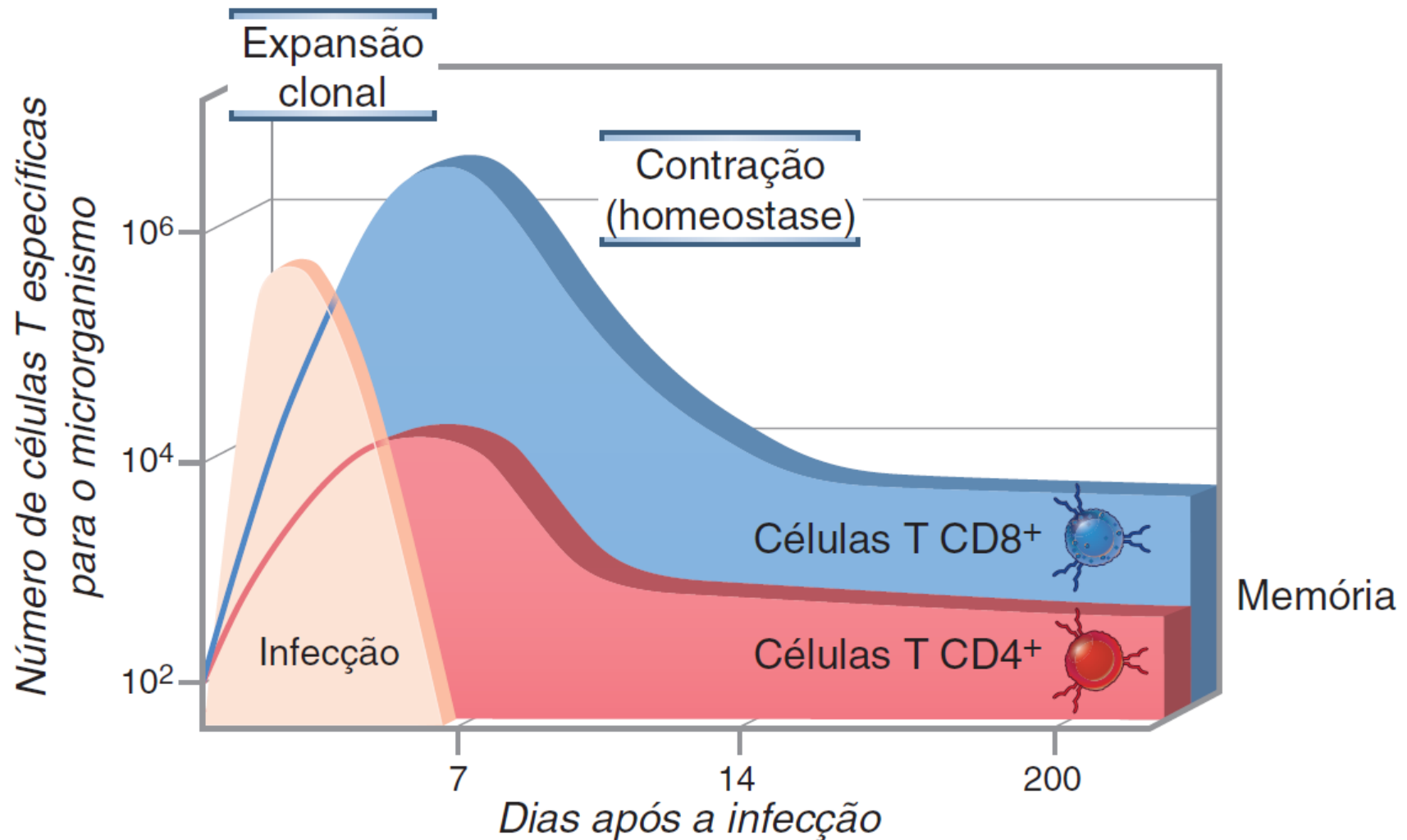


# Citocinas: “3<sup>o</sup> sinal”

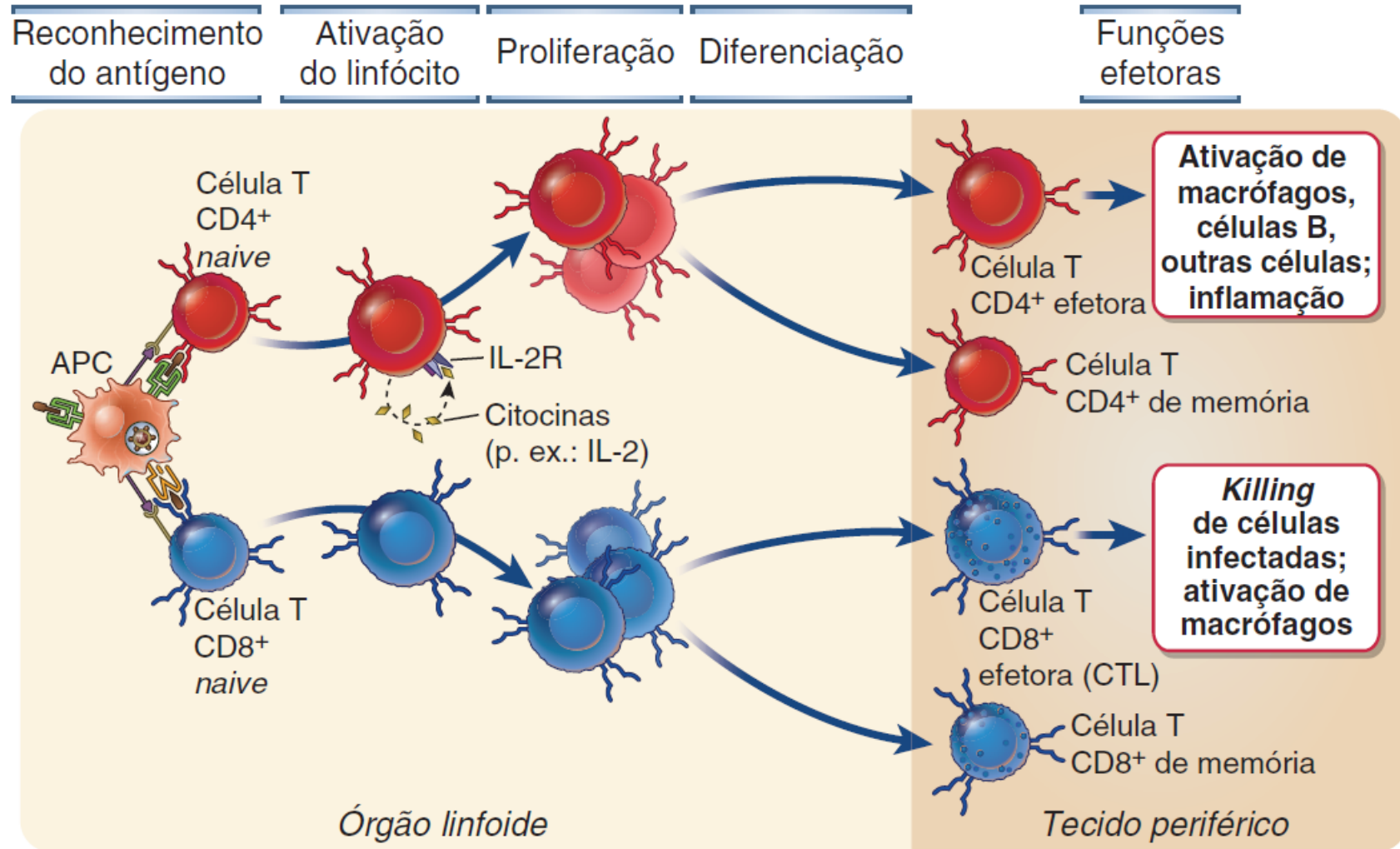




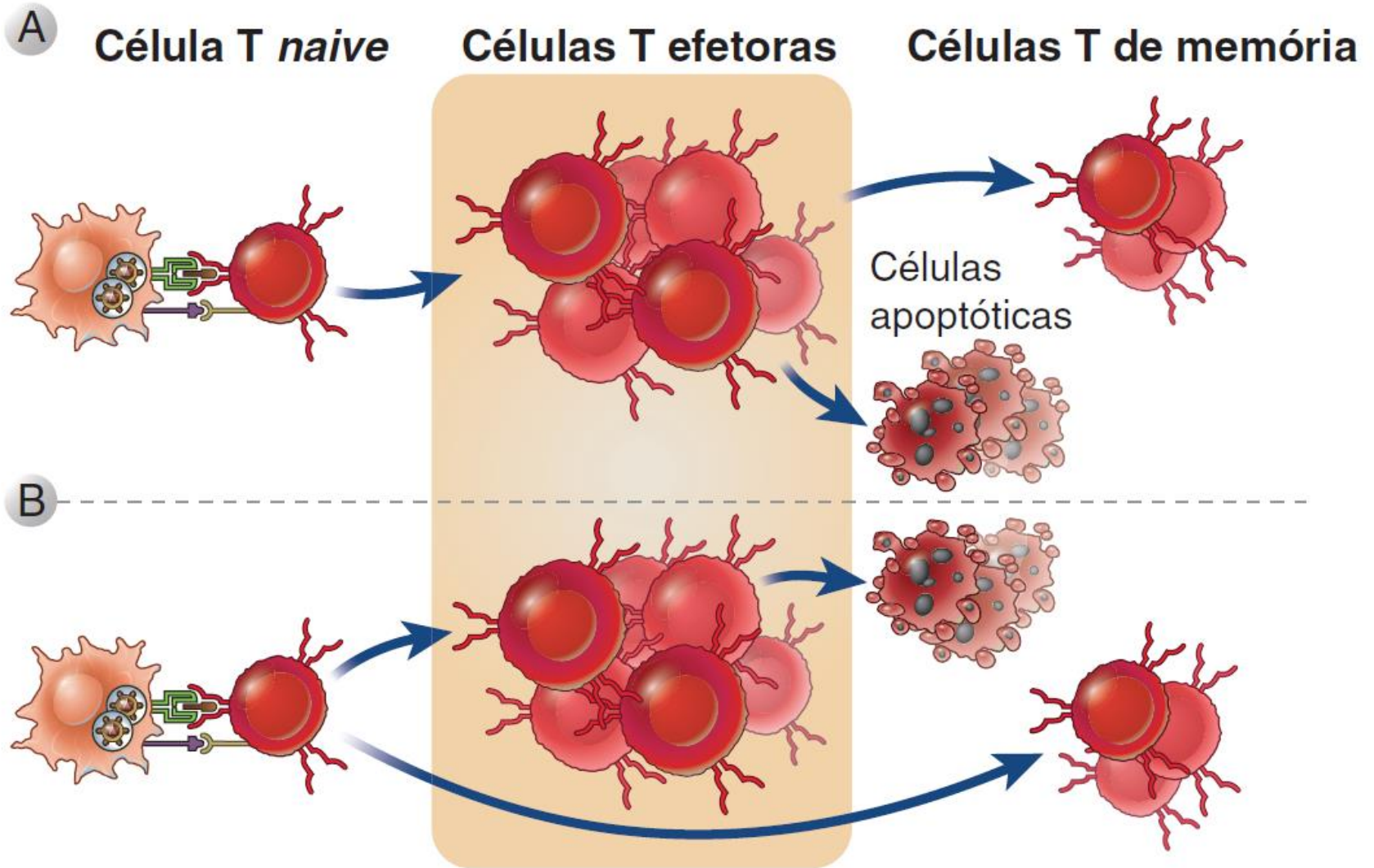
# Dinâmica das Respostas de Células T



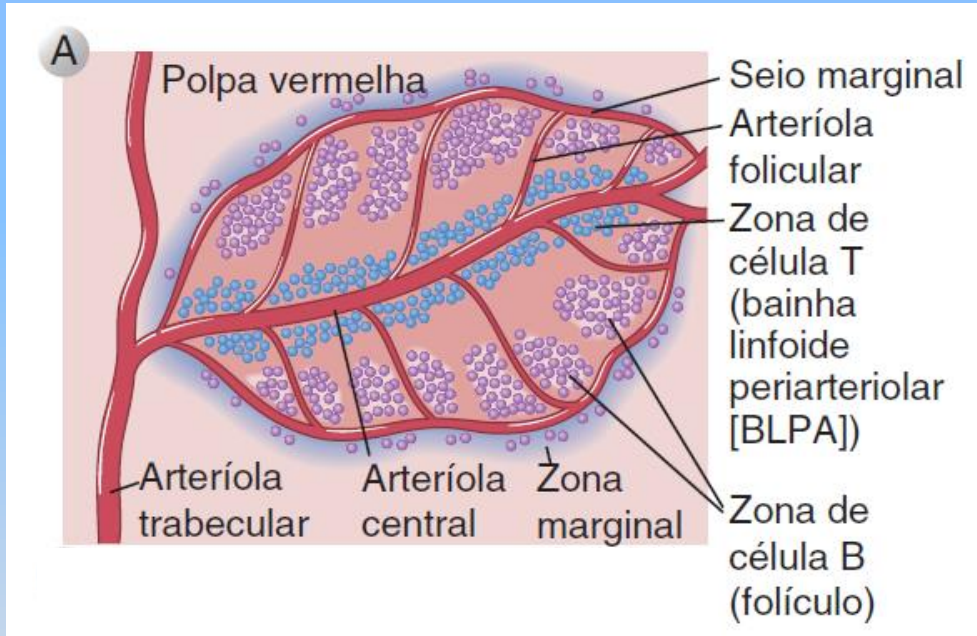
# Sequência de eventos nas respostas de células T



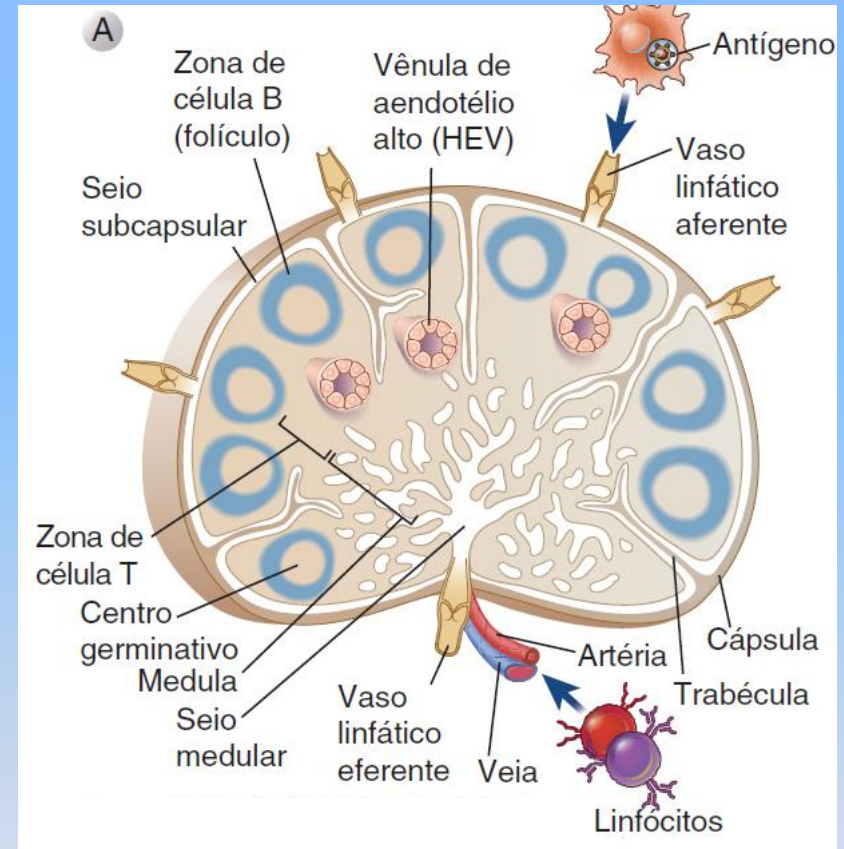
# Memória Imunológica: hipóteses



# Órgãos Linfóides secundários (periféricos)

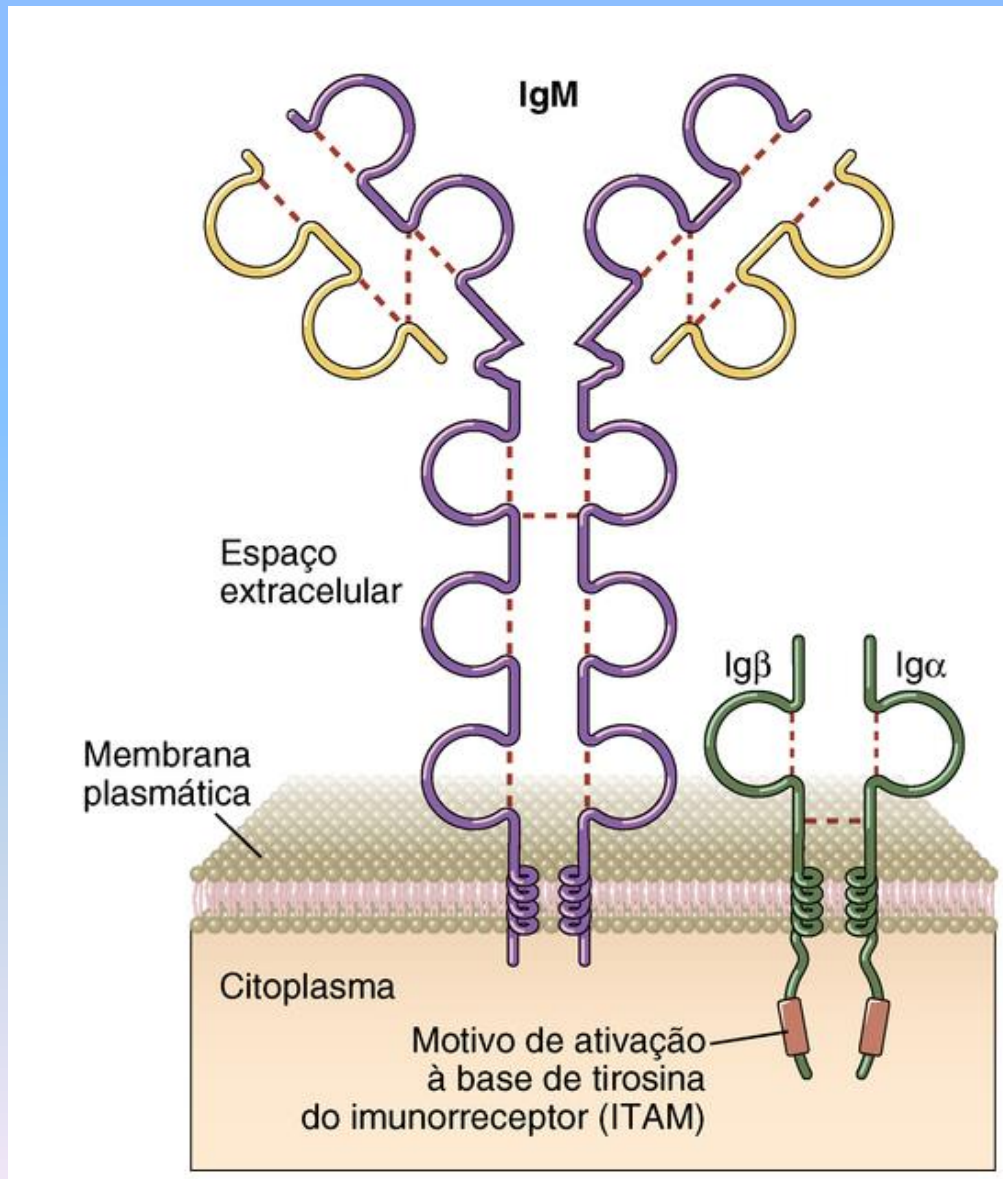


**Polpa branca do baço**

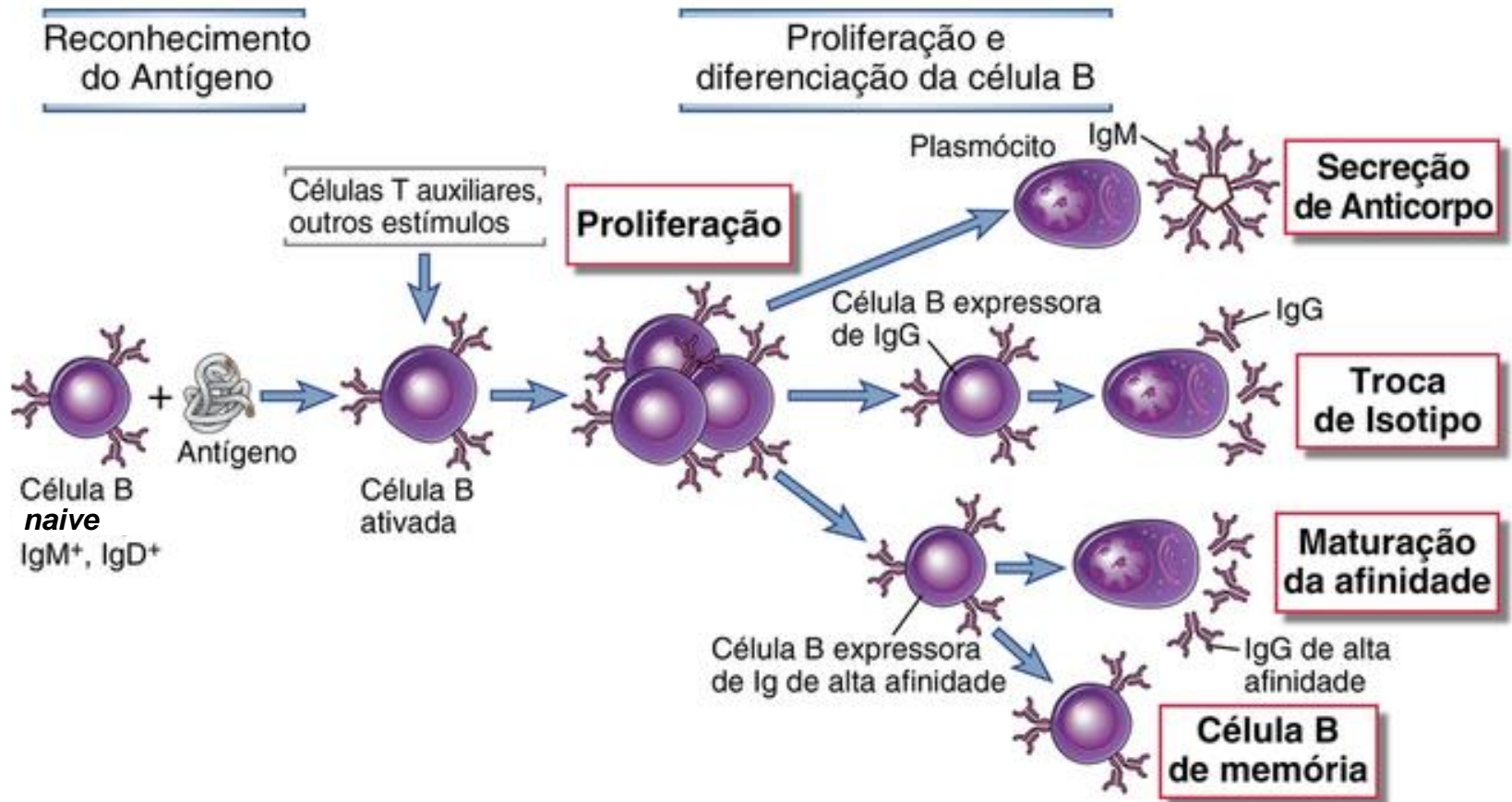


**Linfonodos**

# **Linfócitos B : complexo BCR / $Ig\alpha$ / $Ig\beta$**

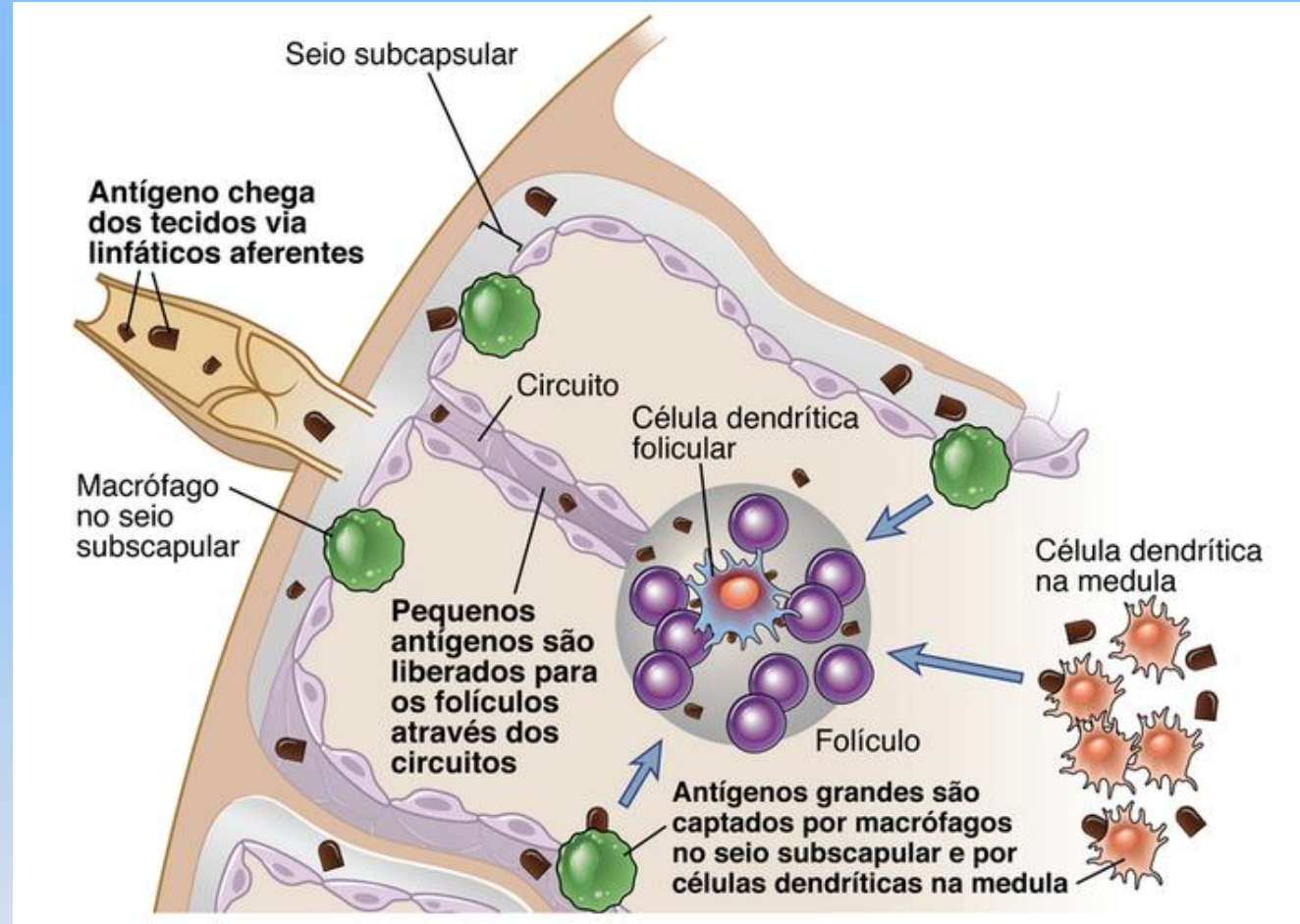
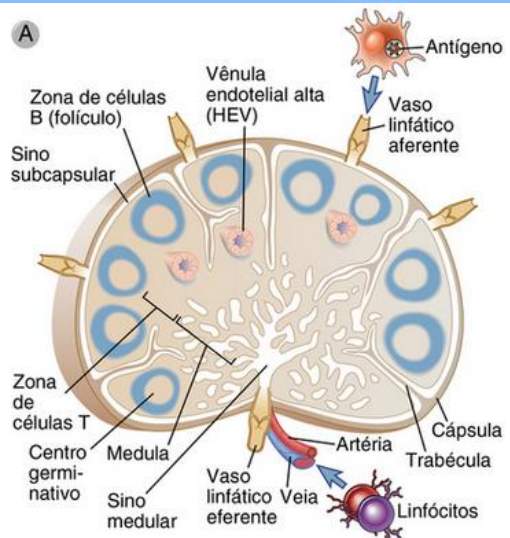


# Fases da Resposta de Linfócitos B



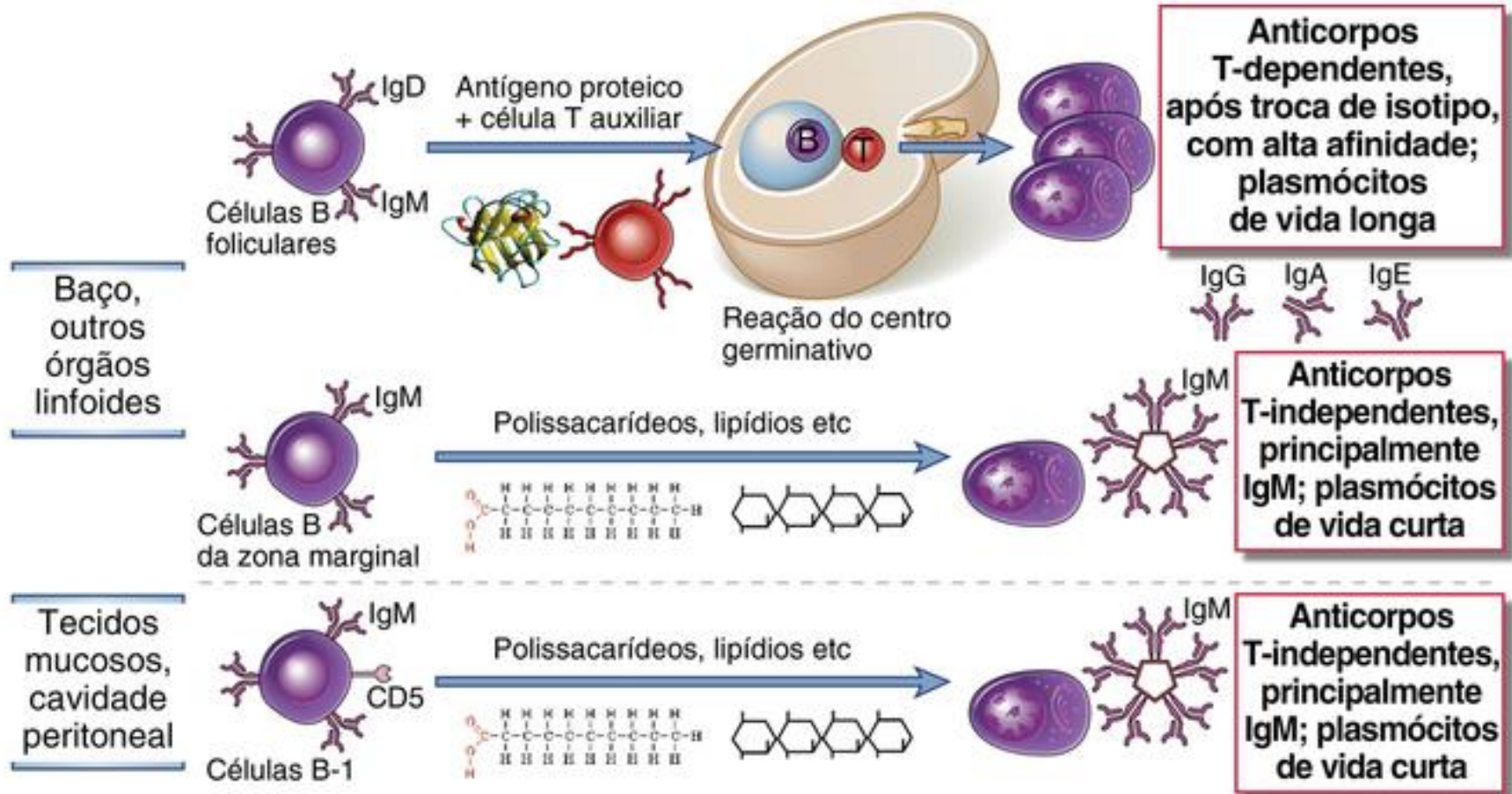
- **1 único linfócito B gera 5000 clones em 1 semana**
- **Esses clones produzem  $10^{12}$  moléculas de anticorpos por dia**

# Vias de acesso do antígeno a células B foliculares



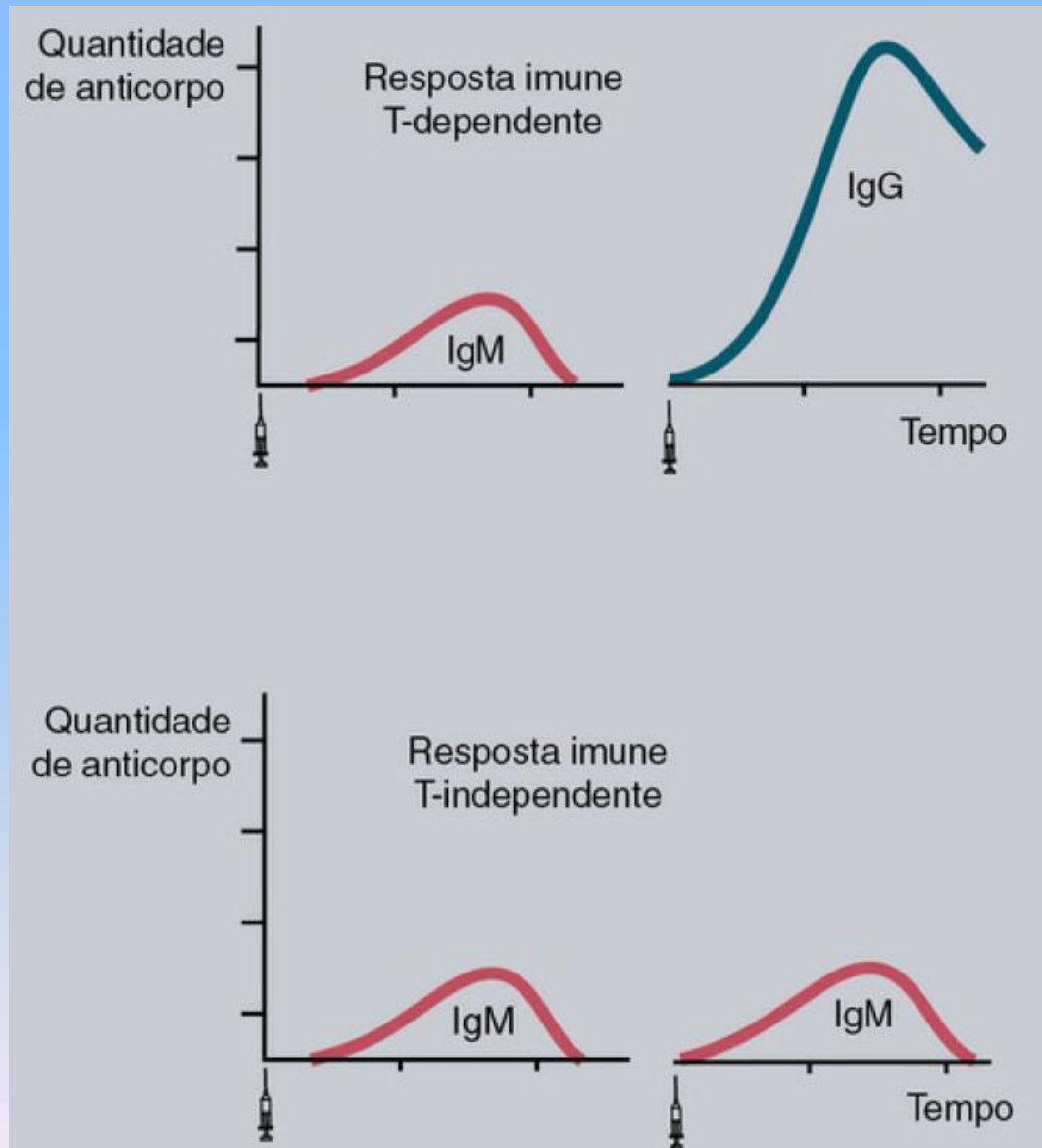
- **Células dendríticas foliculares e estroma folicular produzem CXCL13: liga CXCR5**
- **Antígenos solúveis (menores que 70 kDa): alcançam folículos diretamente**
- **Antígenos grandes ou microorganismos: capturados por outras células**

# Subpopulações de Linfócitos B são Ativadas de Maneiras Diferentes

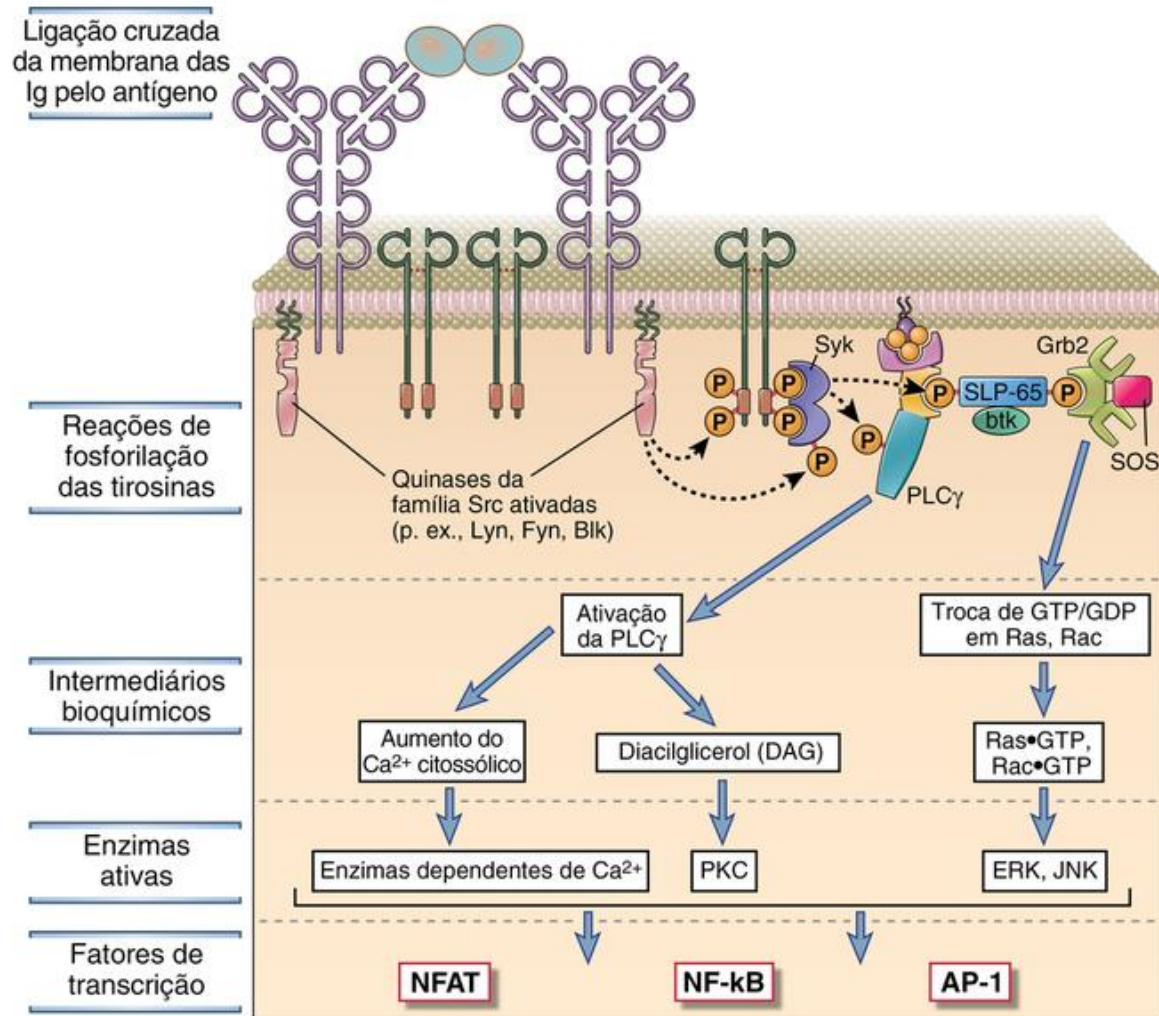




# Ativação T-independente e T-dependente

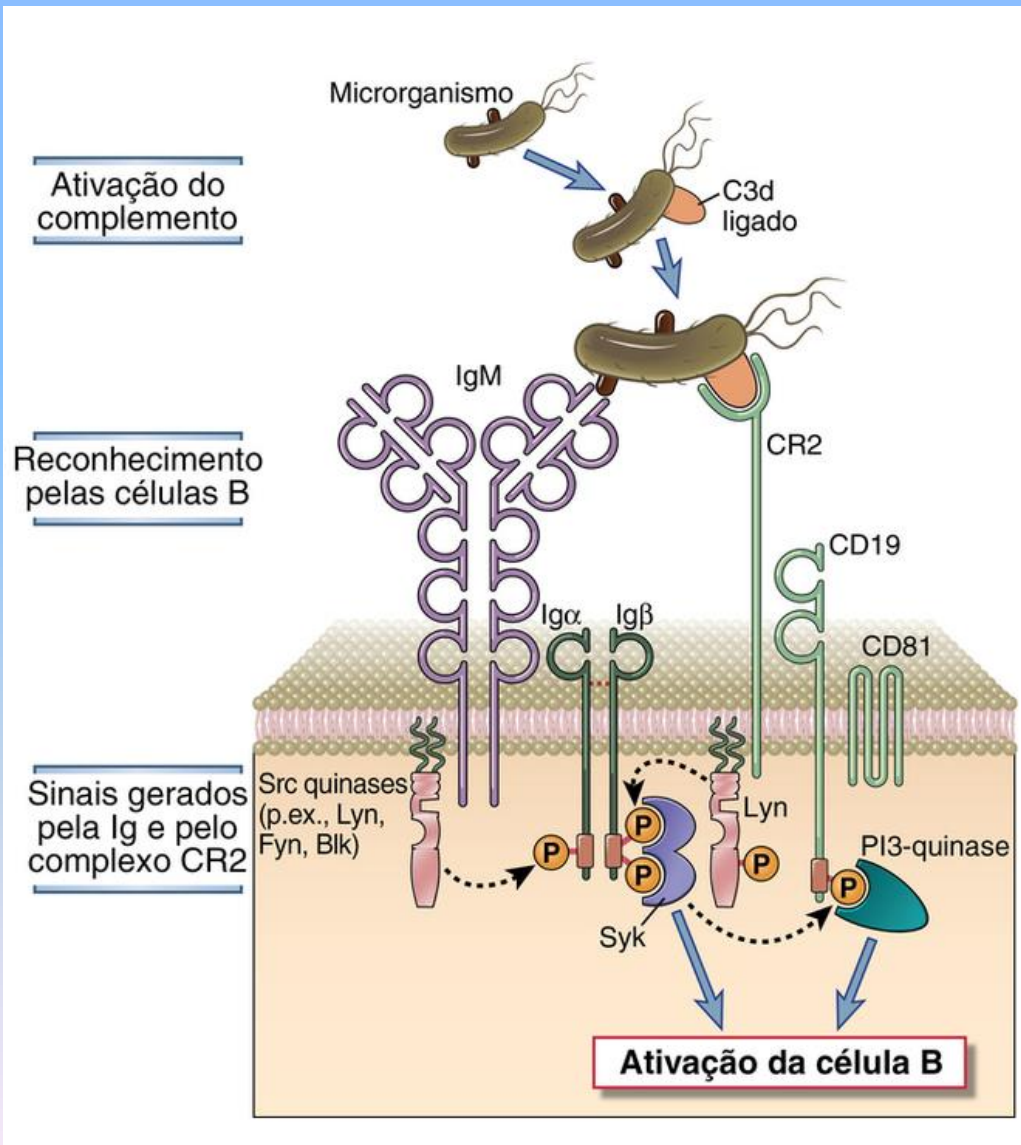


# Ativação T-independente dos Linfócitos B



Ativação de linfócitos B leva a diferentes vias de sinalização intracelular

# Papel do Complemento na Ativação dos Linfócitos B



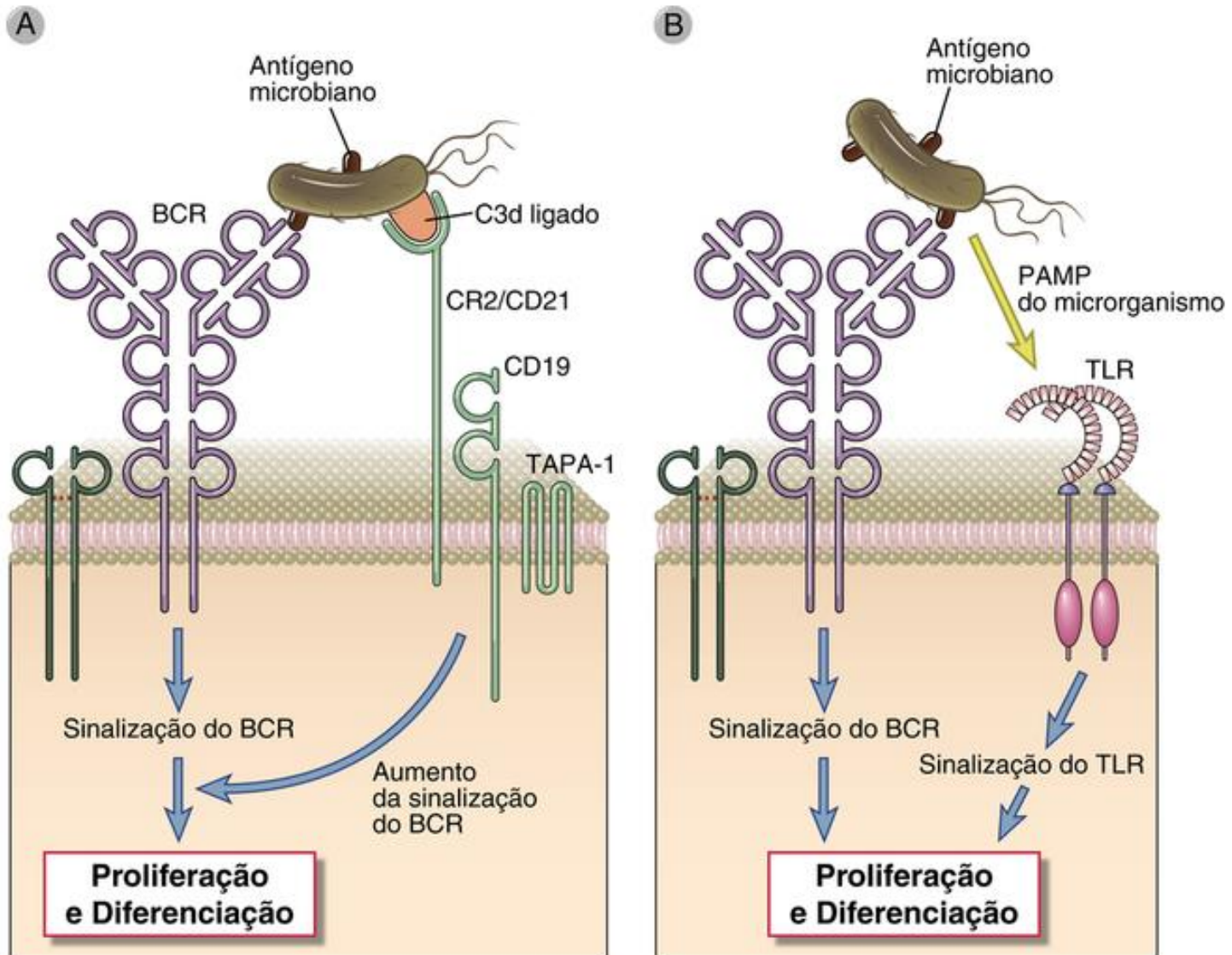
- **CR2 (CD21):** receptor de CD3d

- **Complexo CD19-CD21-CD81:** co-receptor

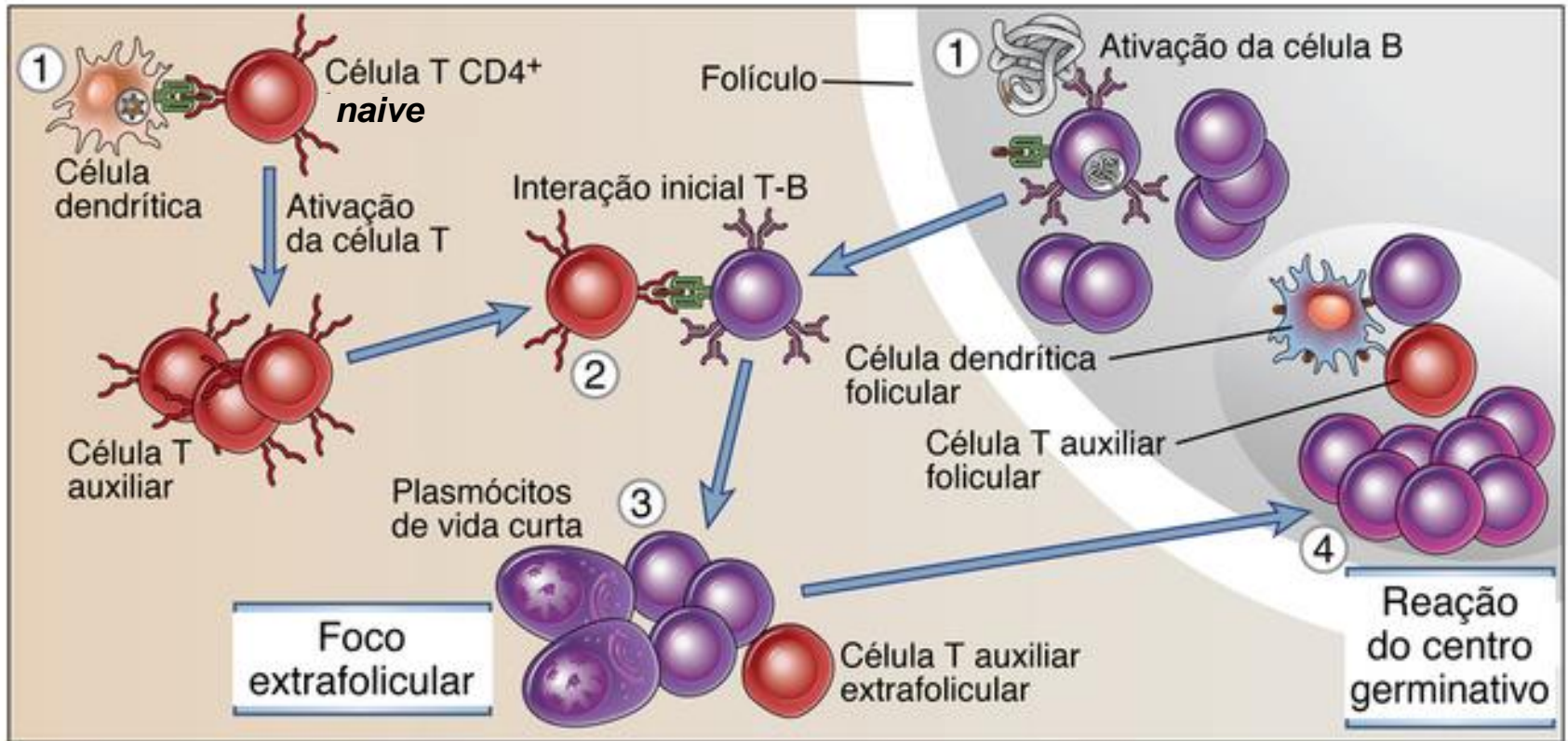
- **Ligação de CD3d ao antígeno aumenta em pelo menos 1000 vezes a imunogenicidade do antígeno**

- **Defeitos em CD21, CD19 ou CD81 resulta em defeitos na produção de anticorpos**

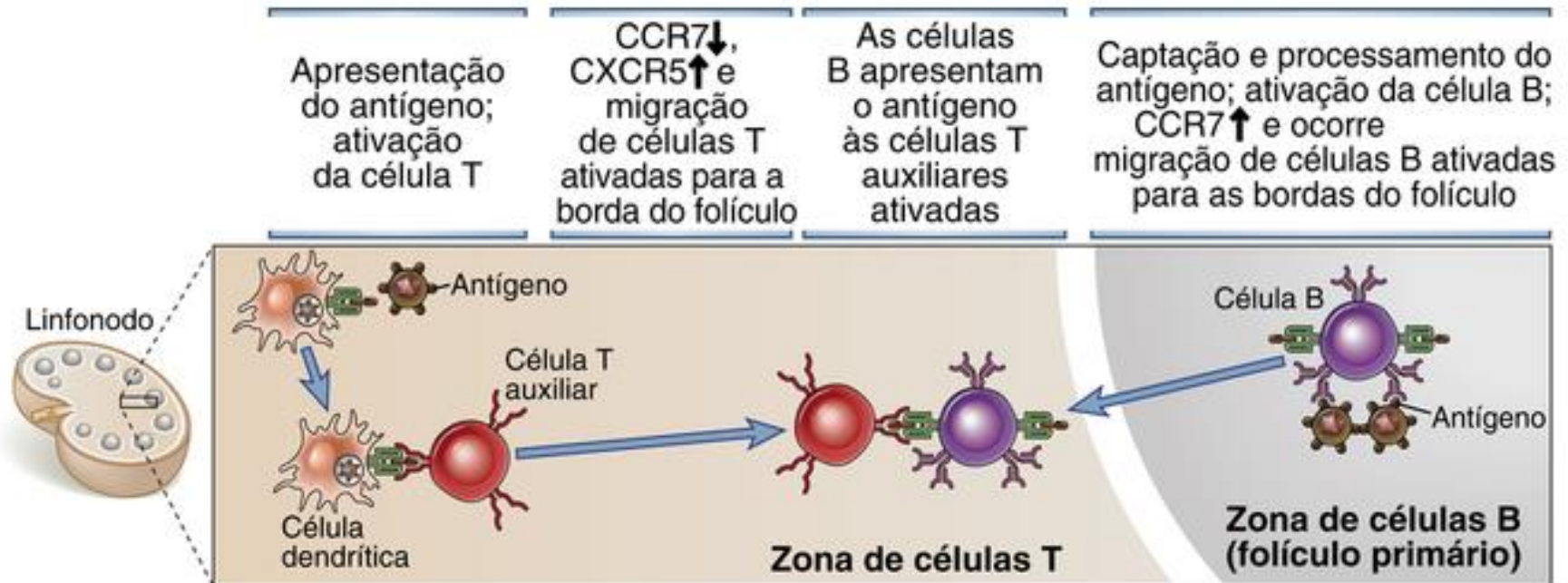
# Papel do TLR na Ativação dos Linfócitos B



# Ativação T-dependente dos Linfócitos B



# Importância das Quimiocinas para as Interações B:T

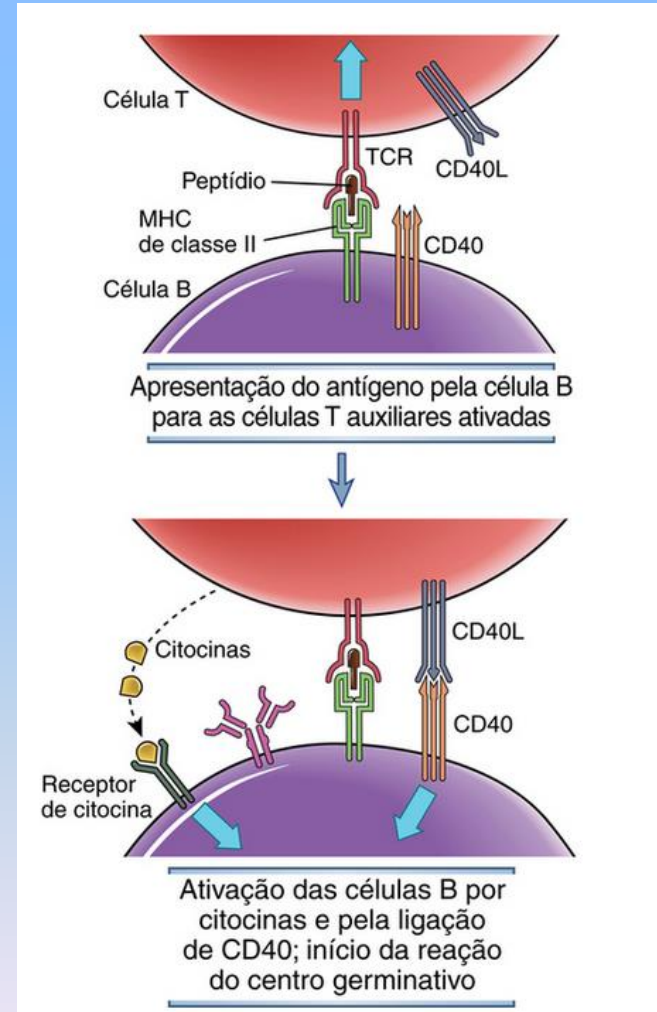
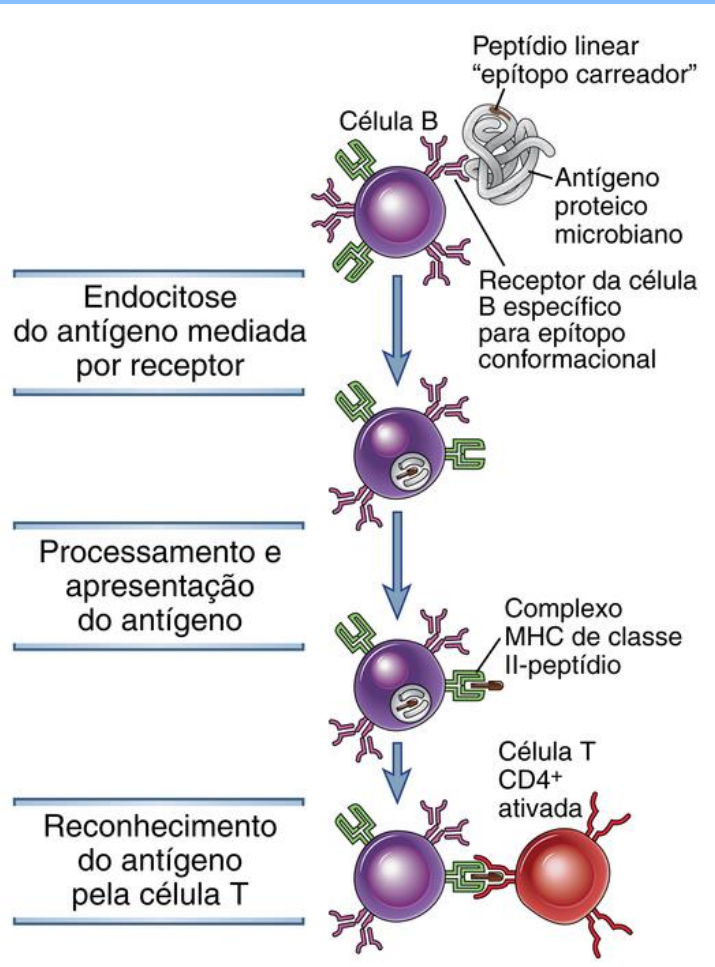


- **CXCL13: liga CXCR5**
- **CCL19 e CCL21: ligam CCR7**



IV\_10\_8\_Germinal\_Centers.swf

# Apresentação de Antígenos pelos Linfócitos B



# Troca de isotipo (“switch” de classe)

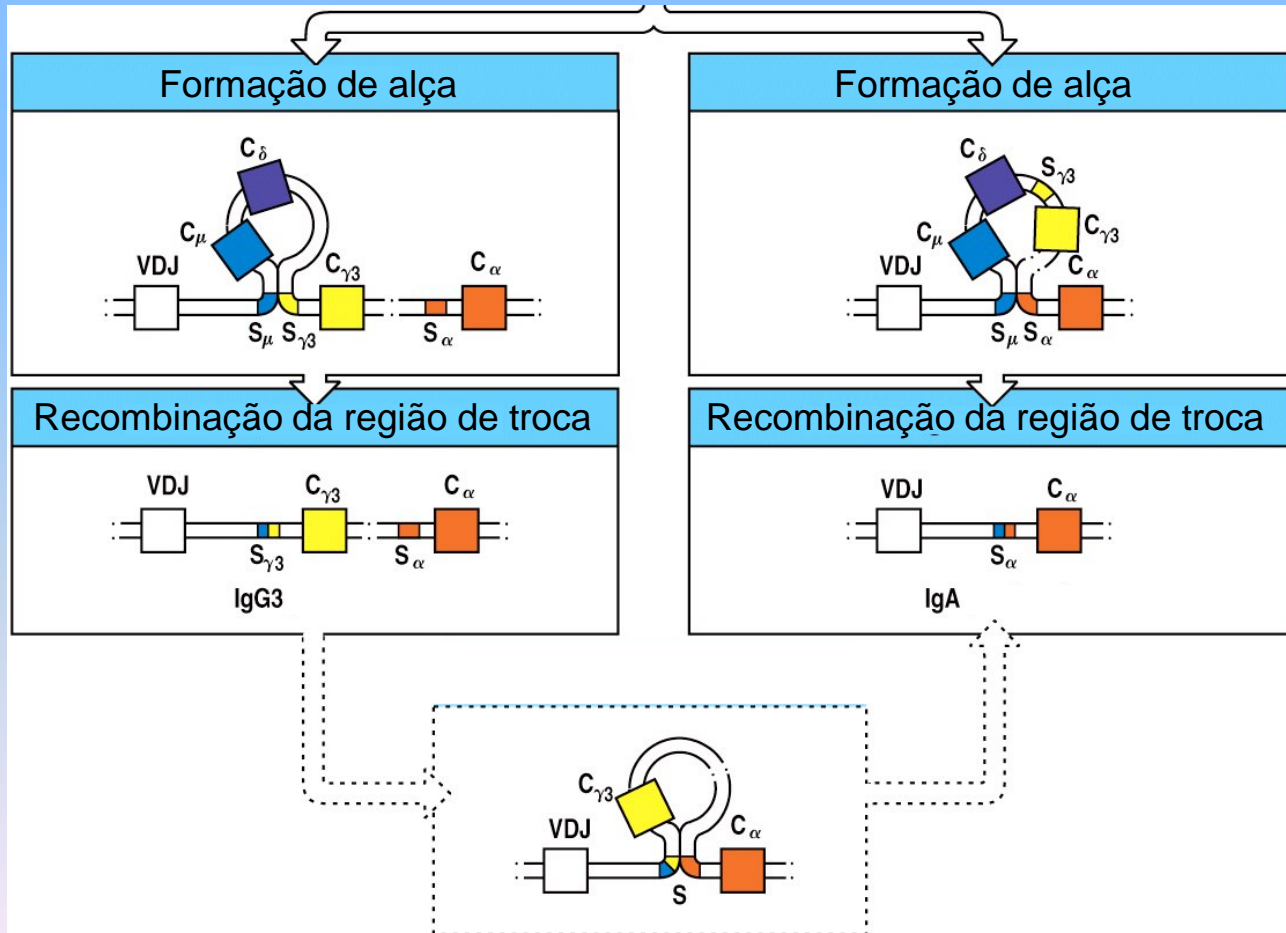
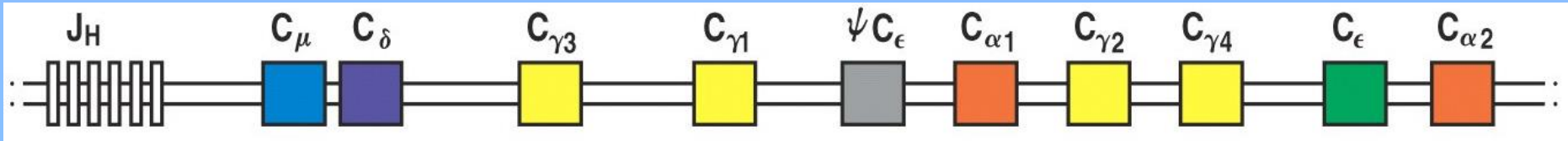
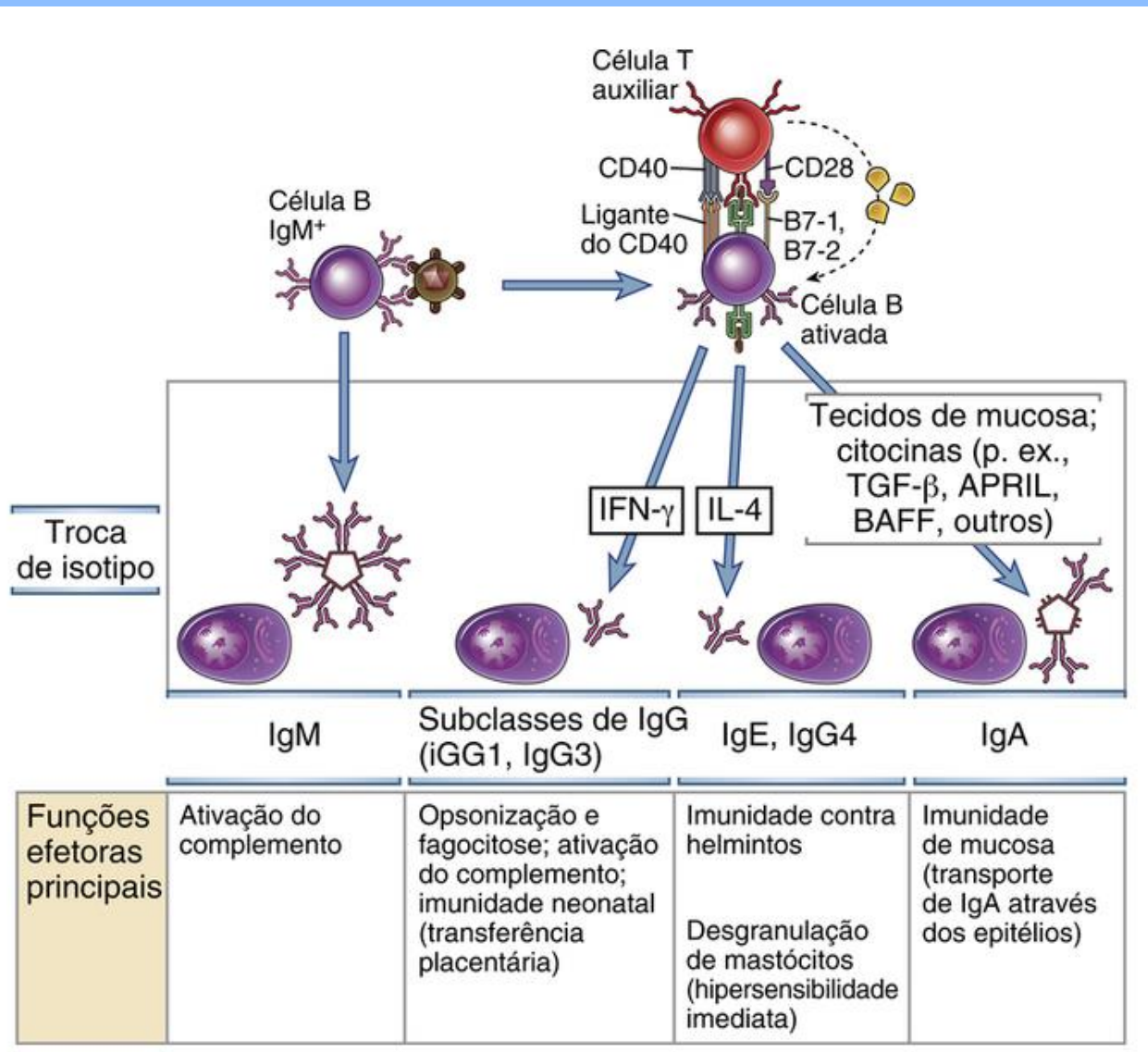


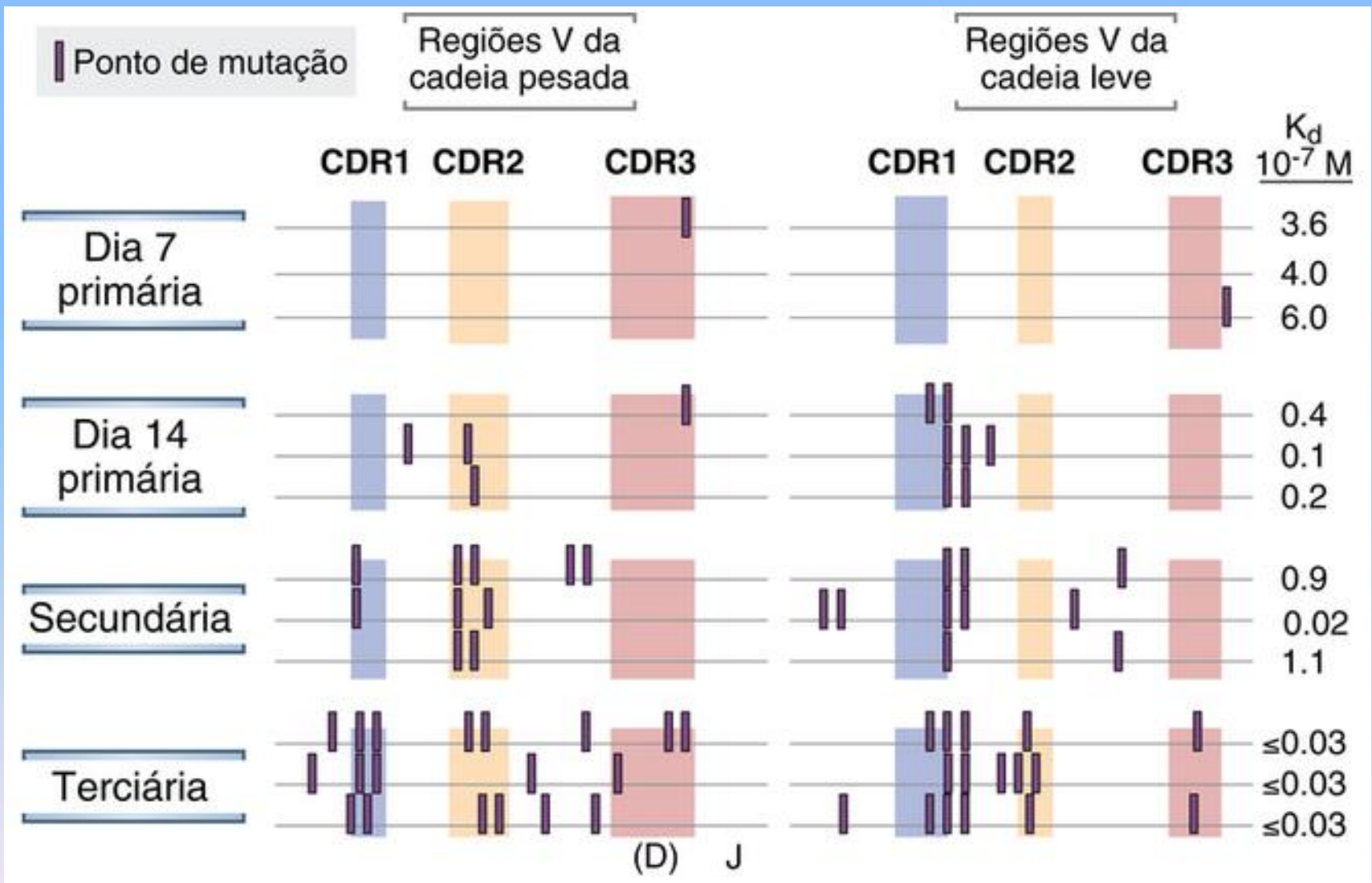
Figure 4-21 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Mudanças de Isotipo da Cadeia Pesada



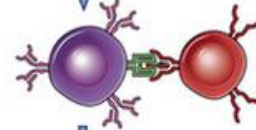
# Hipermutações somáticas



# Seleção de Células B nos Centros Germinativos

Ativação da célula B por antígeno proteico e por células T auxiliares

Célula B imatura Antígeno

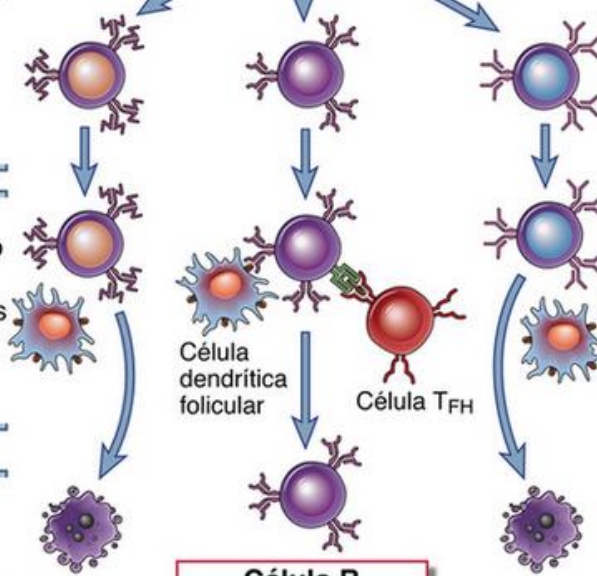


Indução de AID e migração para o centro germinativo

Células B com genes V da Ig somaticamente mutados e Igs com afinidades variadas ao mesmo antígeno

Células B com receptores de antígeno de alta afinidade são melhores no reconhecimento de antígenos apresentados pelas células dendríticas foliculares, ligam-se ao antígeno e o apresentam à célula T<sub>FH</sub>

Apenas as células B com receptores de antígeno de alta afinidade são selecionadas para sobreviver



**Célula B de alta afinidade**

# *Isotipos/Classes de Imunoglobulinas*

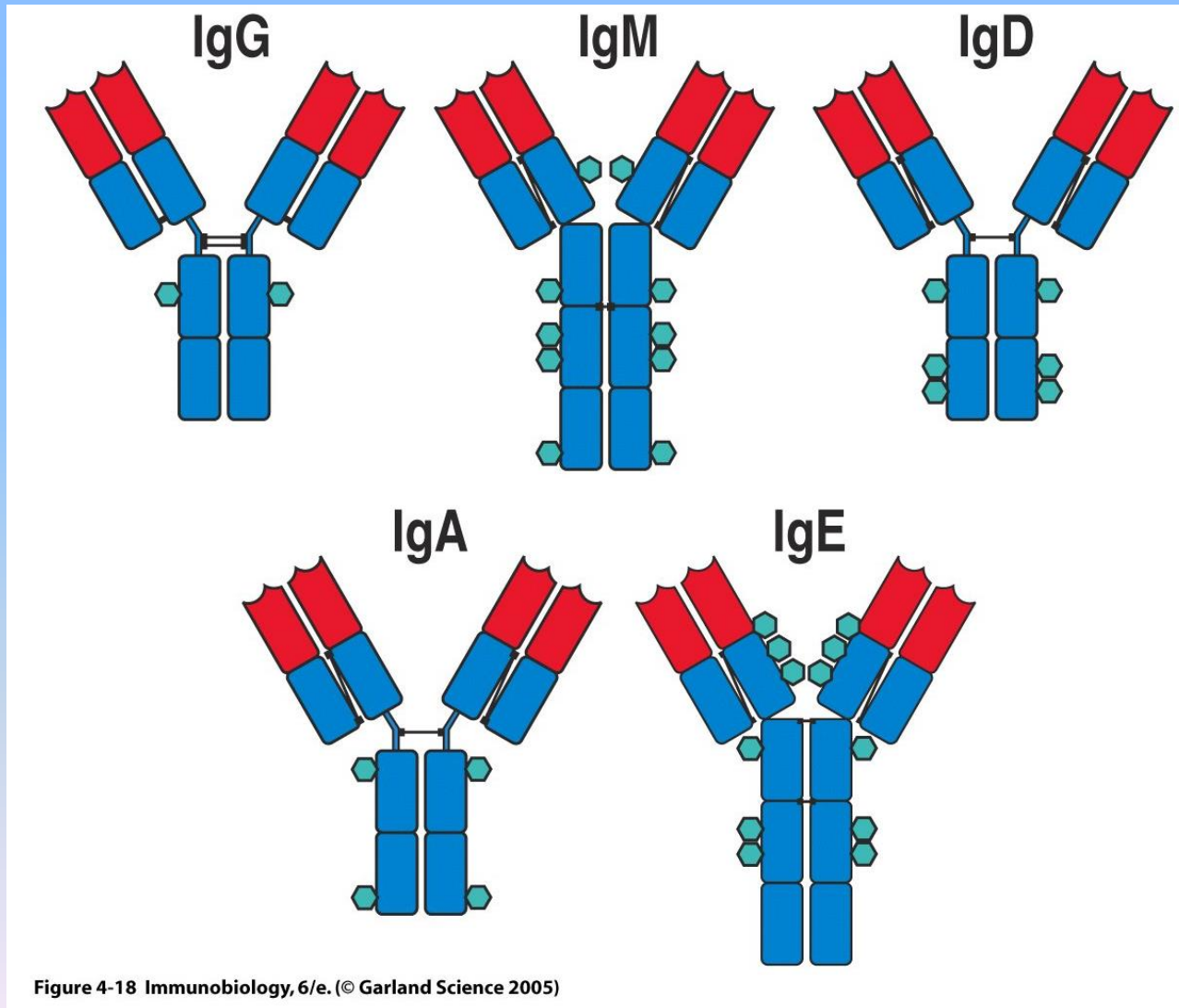


Figure 4-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

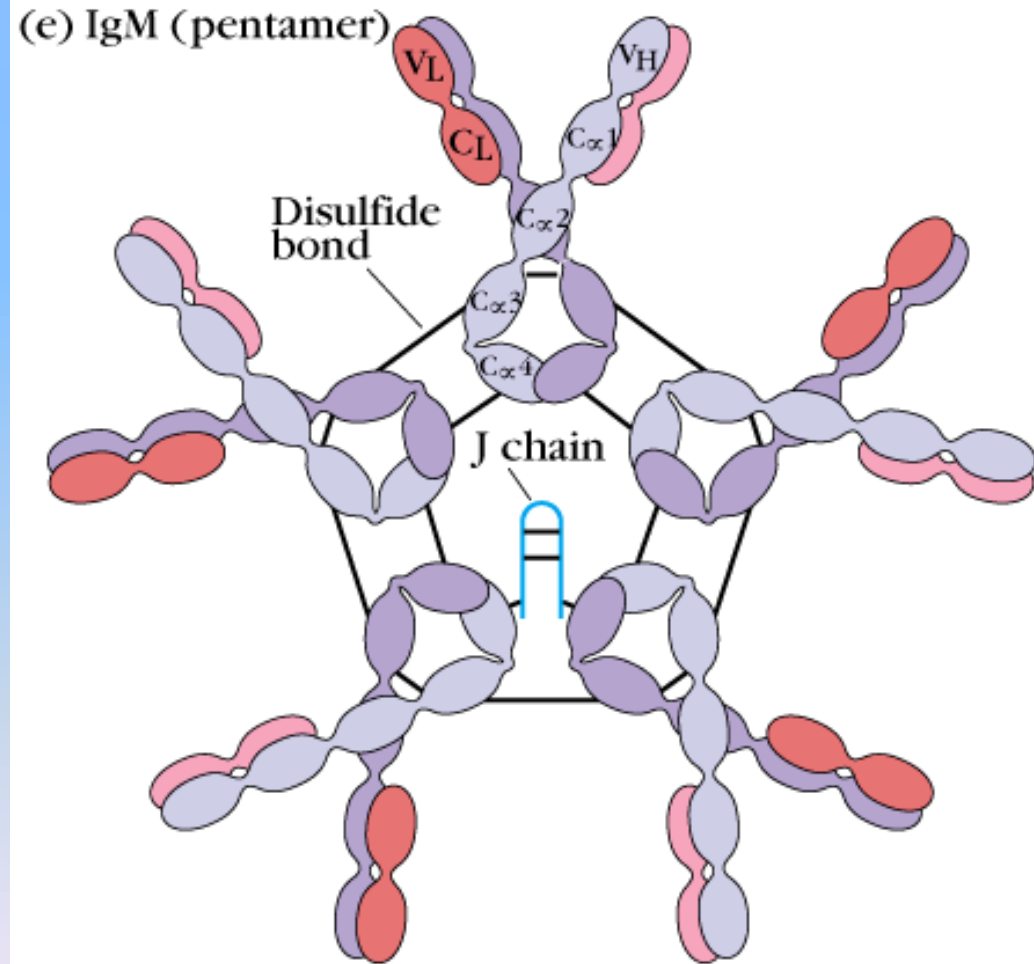
# Anticorpos: isotipos

## IgM

- **Pentâmero e Hexâmero (monômero na membrana)**
- **cadeia pesada  $\mu$**
- **concentração serica: 0,5-2 mg/mL**
- **receptor de células B virgens (naïve)**
- **1º isotipo secretado**

### Funções:

- **neutralização**
- **agregação**
- **ativação do complemento**



# ***Anticorpos: isotipos***

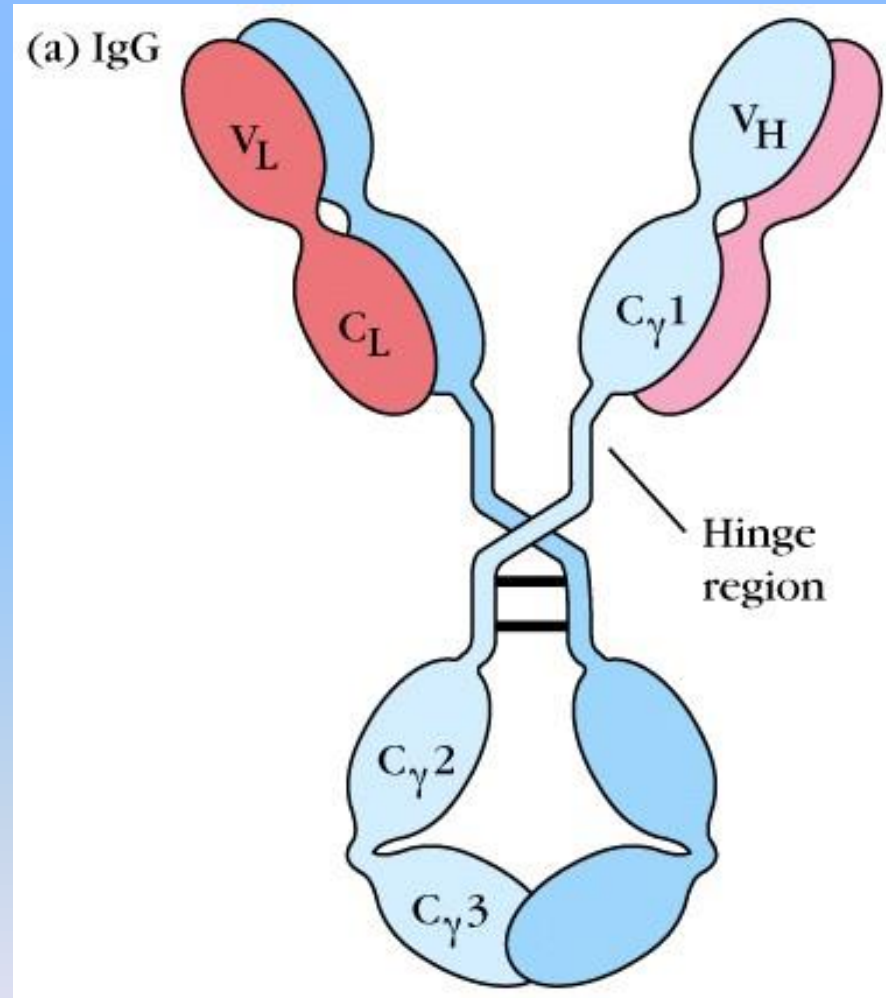
## ***IgD***

- ***monômero não secretado***
- ***cadeia pesada  $\delta$***
- ***concentração sérica: 0-0.4 mg/mL***
- ***receptor de células B virgens (naïve)***

# Anticorpos: isotipos

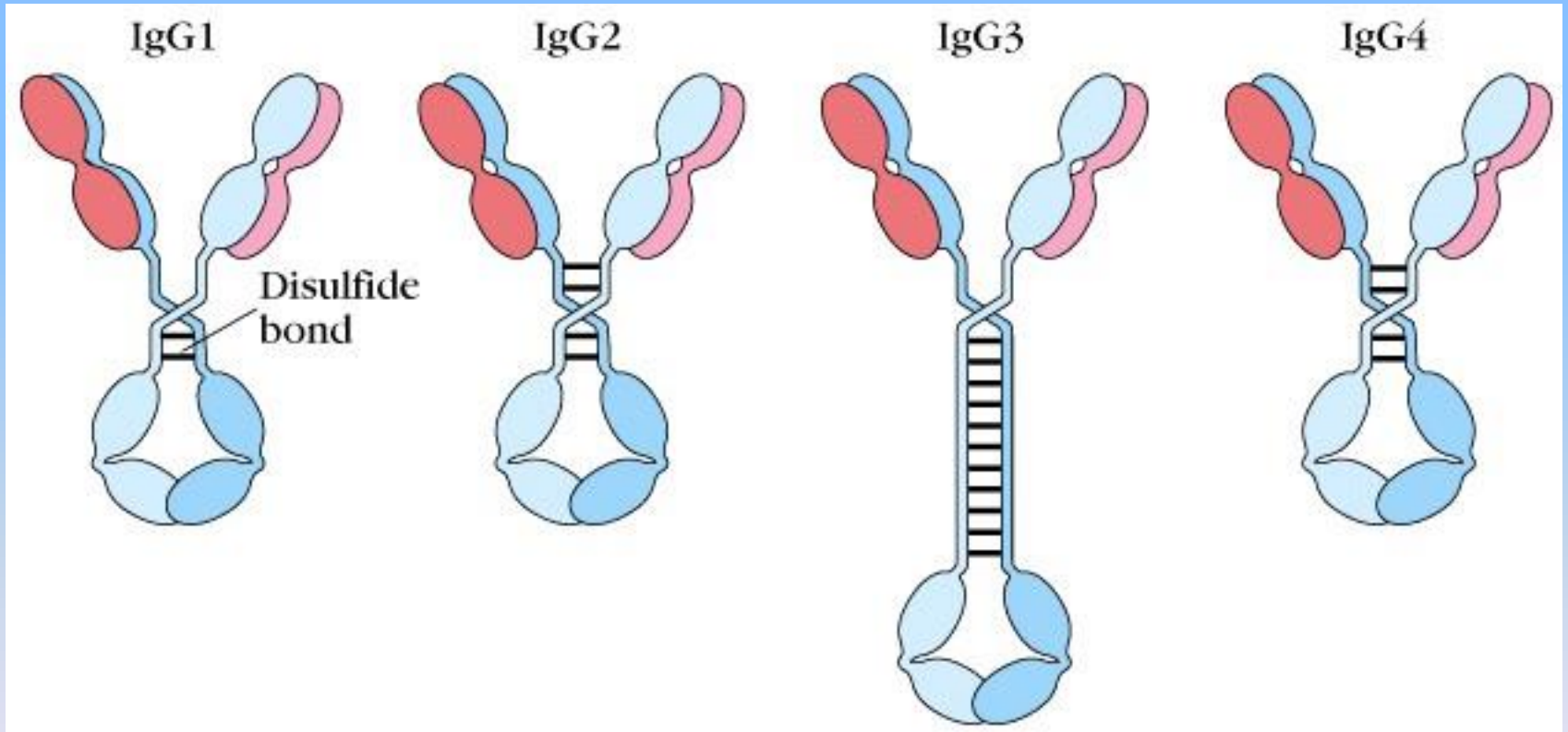
## IgG

- Monômero
- IgG1, IgG2, IgG3, IgG4
- cadeia pesada  $\gamma$  (1 a 4)
- IFN- $\gamma$  e IL-4
- concentração sérica: 8-16 mg/mL
- secretado em respostas secundárias
- Funções:
  - opsonização
  - ativação do complemento
  - citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC)
  - imunidade neonatal
  - inibição por feedback das células B



# ***Anticorpos: isotipos***

## ***Subclasses de IgG***



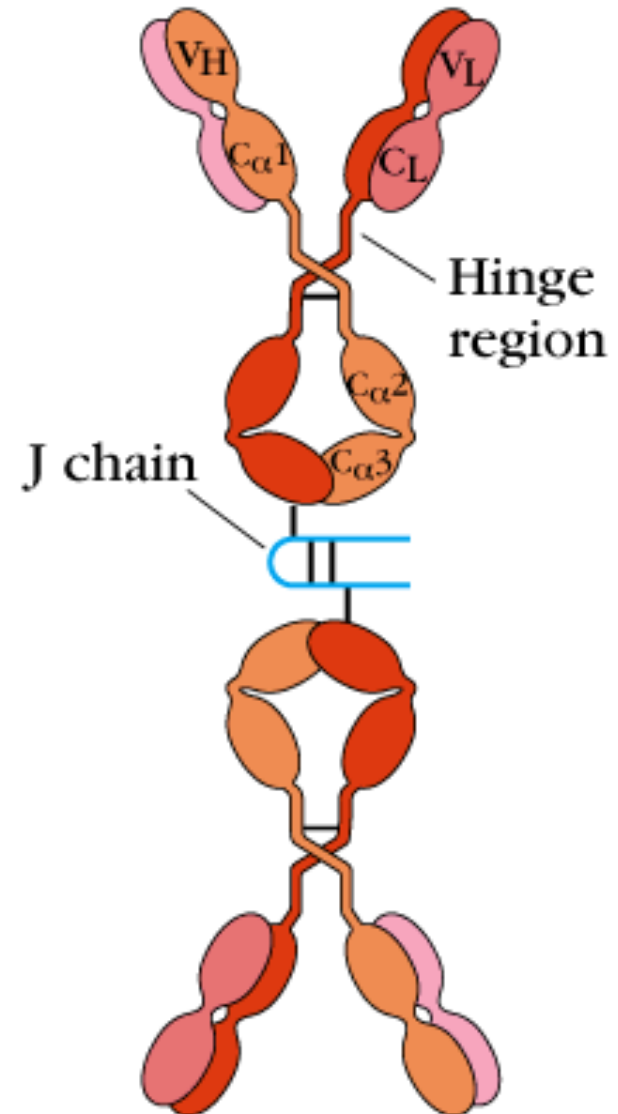


# Anticorpos: isotipos

## IgA

- *monômero, dímero, trímero*
- *IgA1, IgA2*
- *cadeia pesada  $\alpha$  (1 ou 2)*
- *TGF- $\beta$ , BAFF e outras*
- *concentração sérica: 1-4 mg/mL*
- *fluídos biológicos (imunidade mucosa)*

(d) IgA (dímero)



# Secreção de IgA

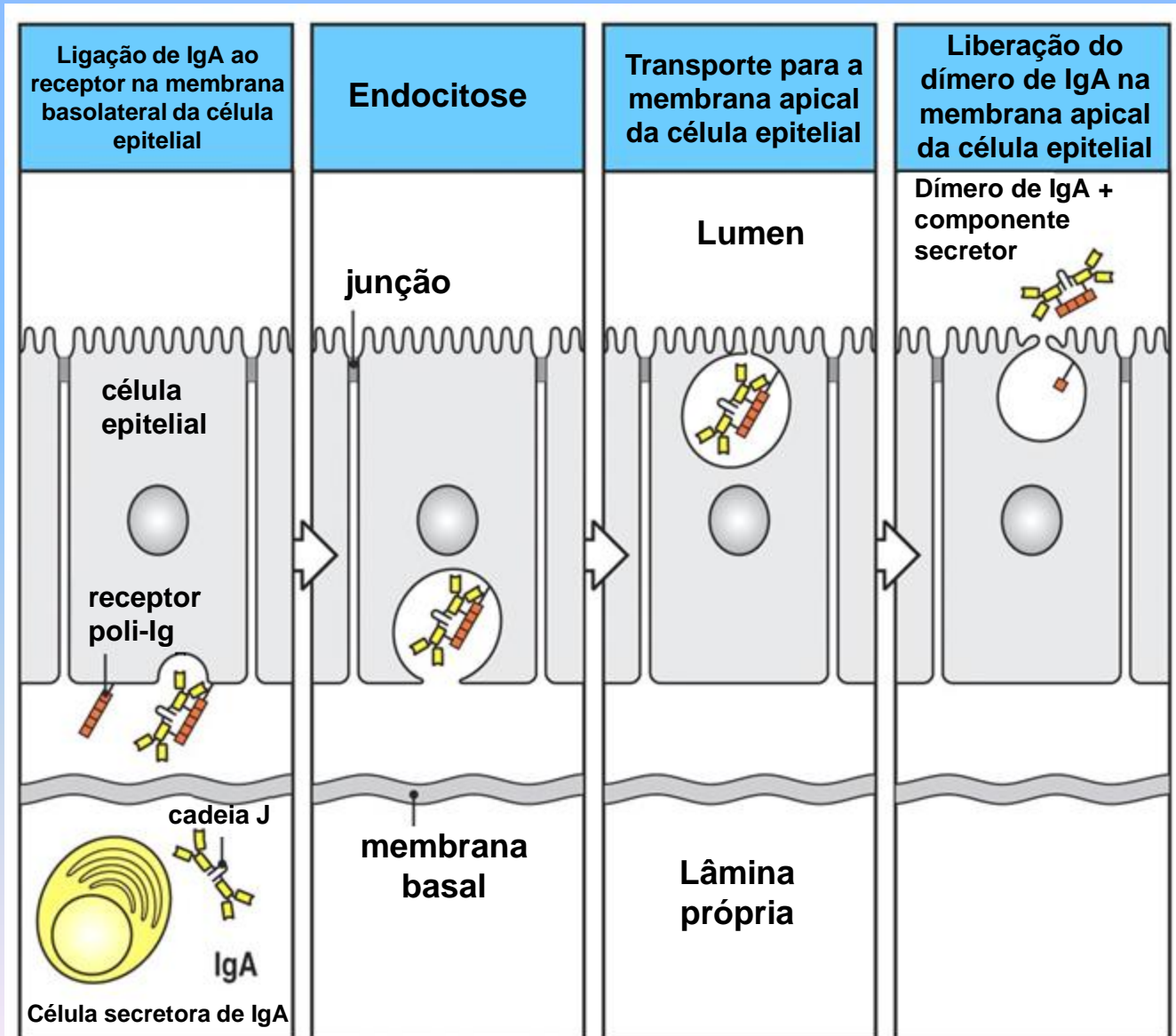
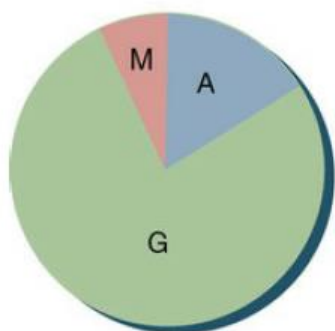
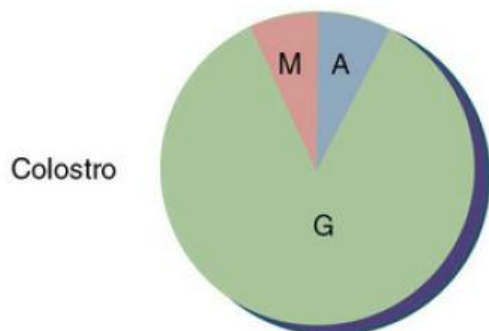
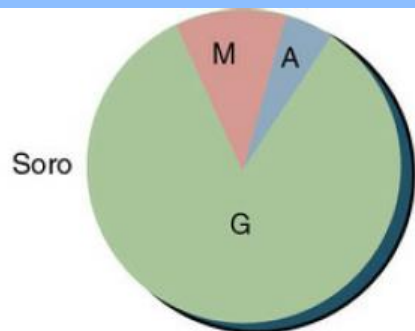
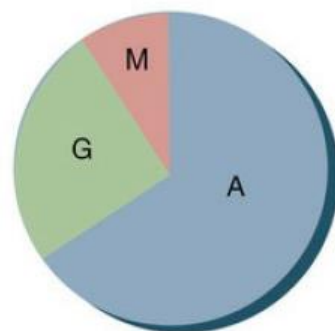


Figure 9-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Concentrações Relativas de Imunoglobulinas



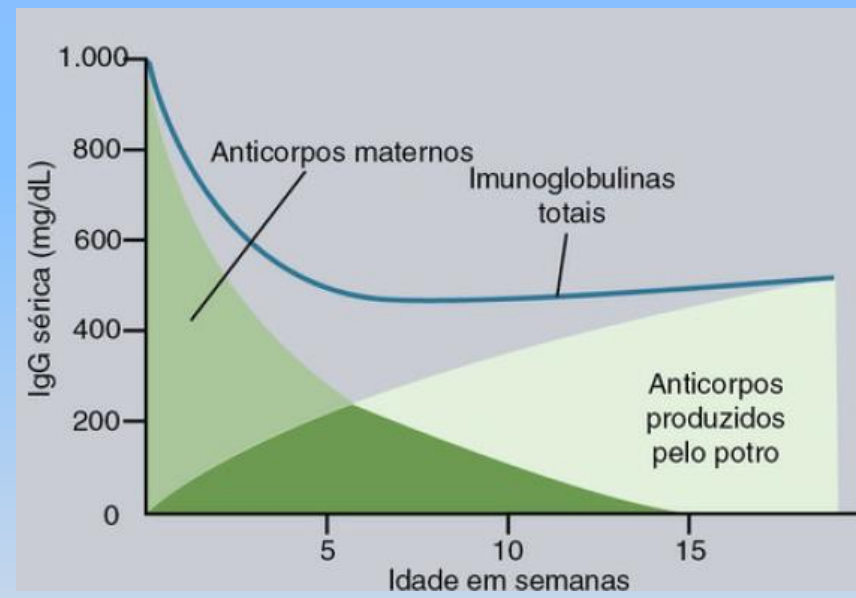
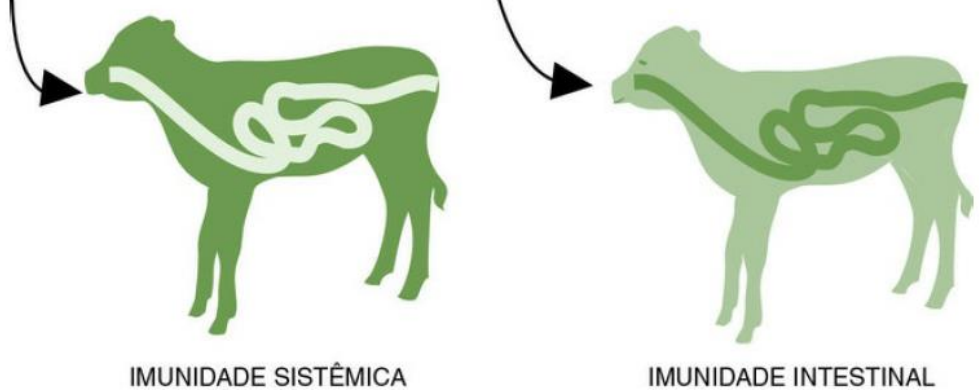
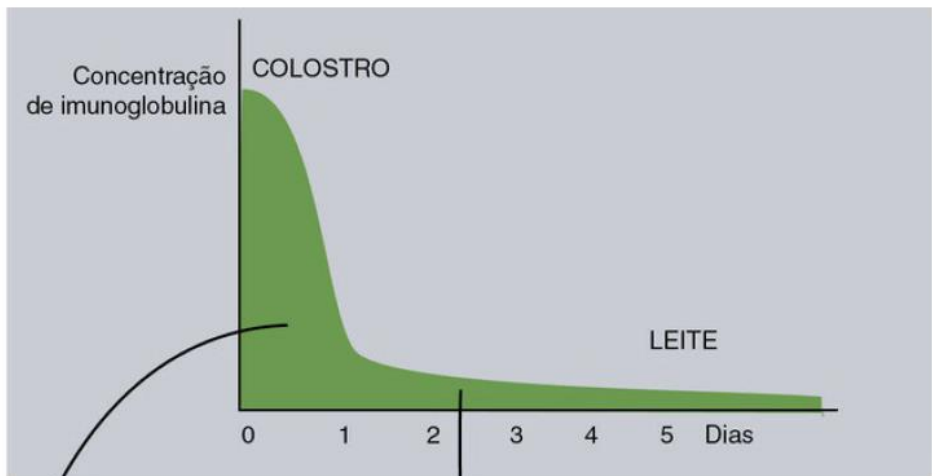
Leite de ruminantes



Leite de não ruminantes

ESPÉCIES FLUIDO		IMUNOGLOBULINAS (mg/dL)				
		IgA	IgM	IgG	IgG3	IgG6
Égua	Colostro	500-1.500	100-350	1.500-5.000	500-2.500	50-150
	Leite	50-100	5-10	20-50	5-20	0
Vaca	Colostro	100-700	300-1.300	2.400-8.000		
	Leite	10-50	10-20	50-750		
Ovelha	Colostro	100-700	400-1.200	4.000-6.000		
	Leite	5-12	0-7	60-100		
Porca	Colostro	950-1.050	250-320	3.000-7.000		
Cadela	Colostro	500-2.200	14-57	120-300		
	Leite	110-620	10-54	1-3		
Gata	Colostro	150-340	47-58	4.400-3.250		
	Leite	240-620	0	100-440		

# Transição de Anticorpos Maternos e Produção Própria



# Anticorpos: isotipos

**IgE**

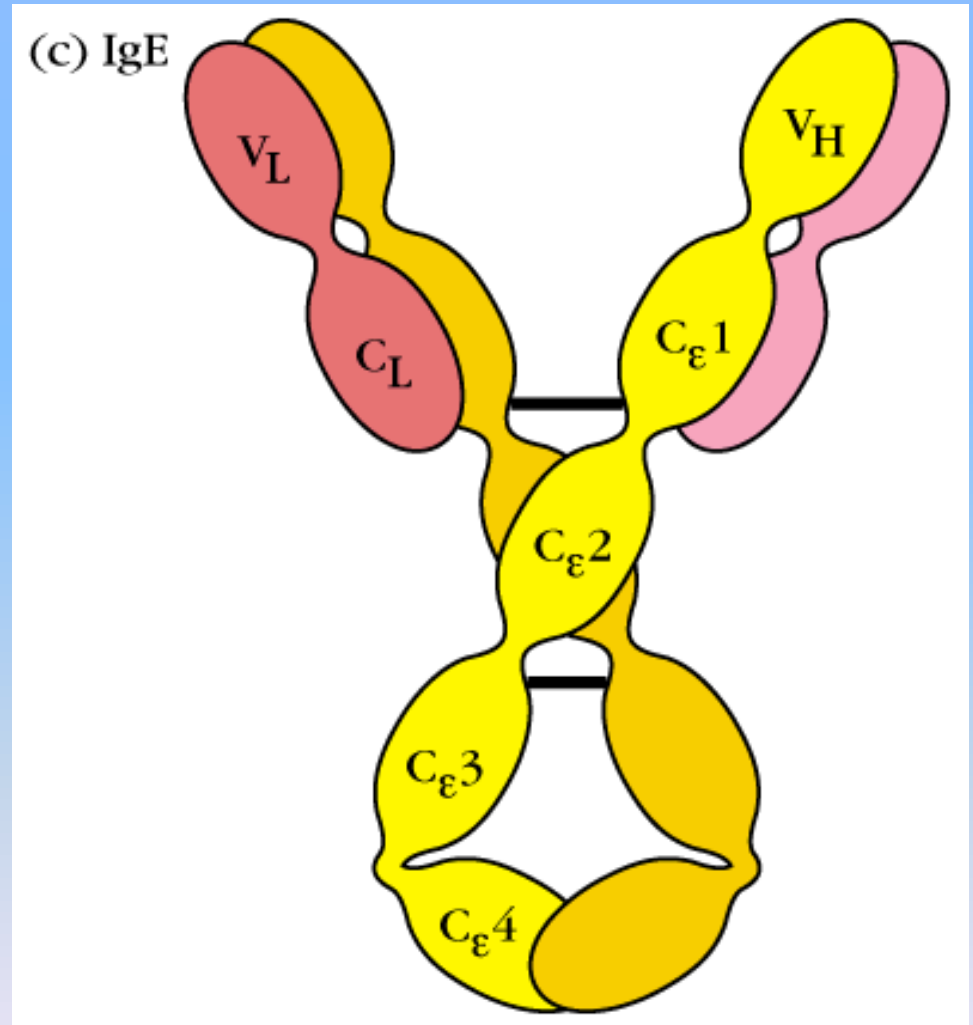
- *monômero*

- *cadeia pesada  $\epsilon$*

- *IL-4*

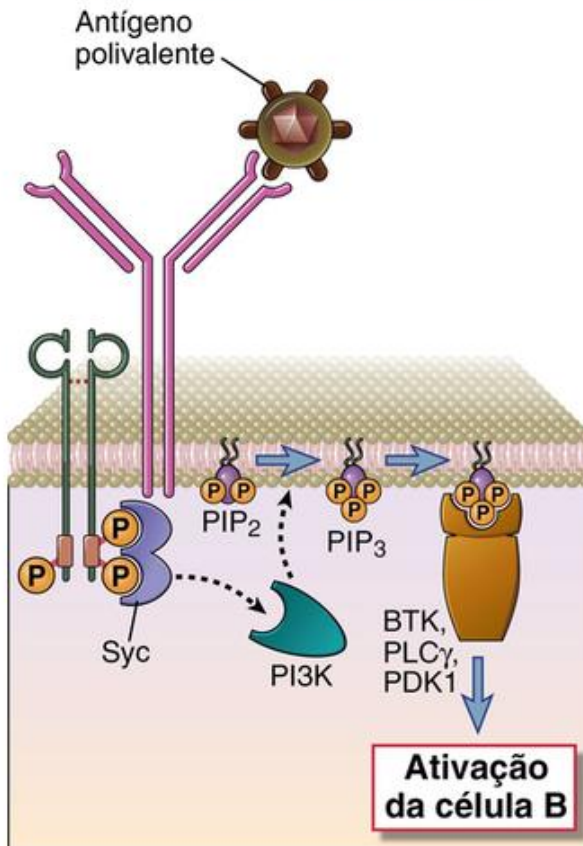
- *concentração sérica: 10-400 ng/mL*

- *imunidade contra parasitas (?),  
hipersensibilidade imediata*

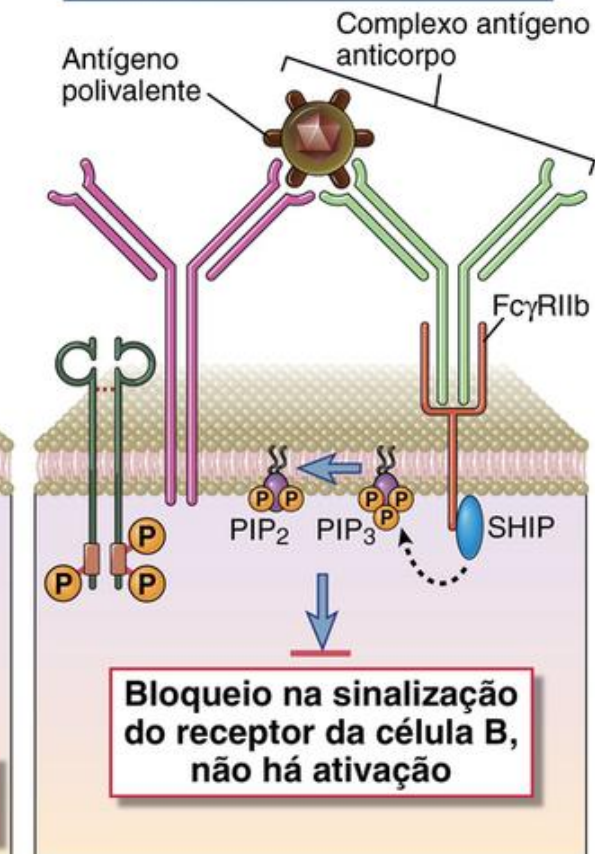


# Regulação da ativação pelo $Fc\gamma RIIb$

**A** A sinalização do BCR leva à formação de  $PIP_3$ , que se liga a outras moléculas sinalizadoras, levando à ativação



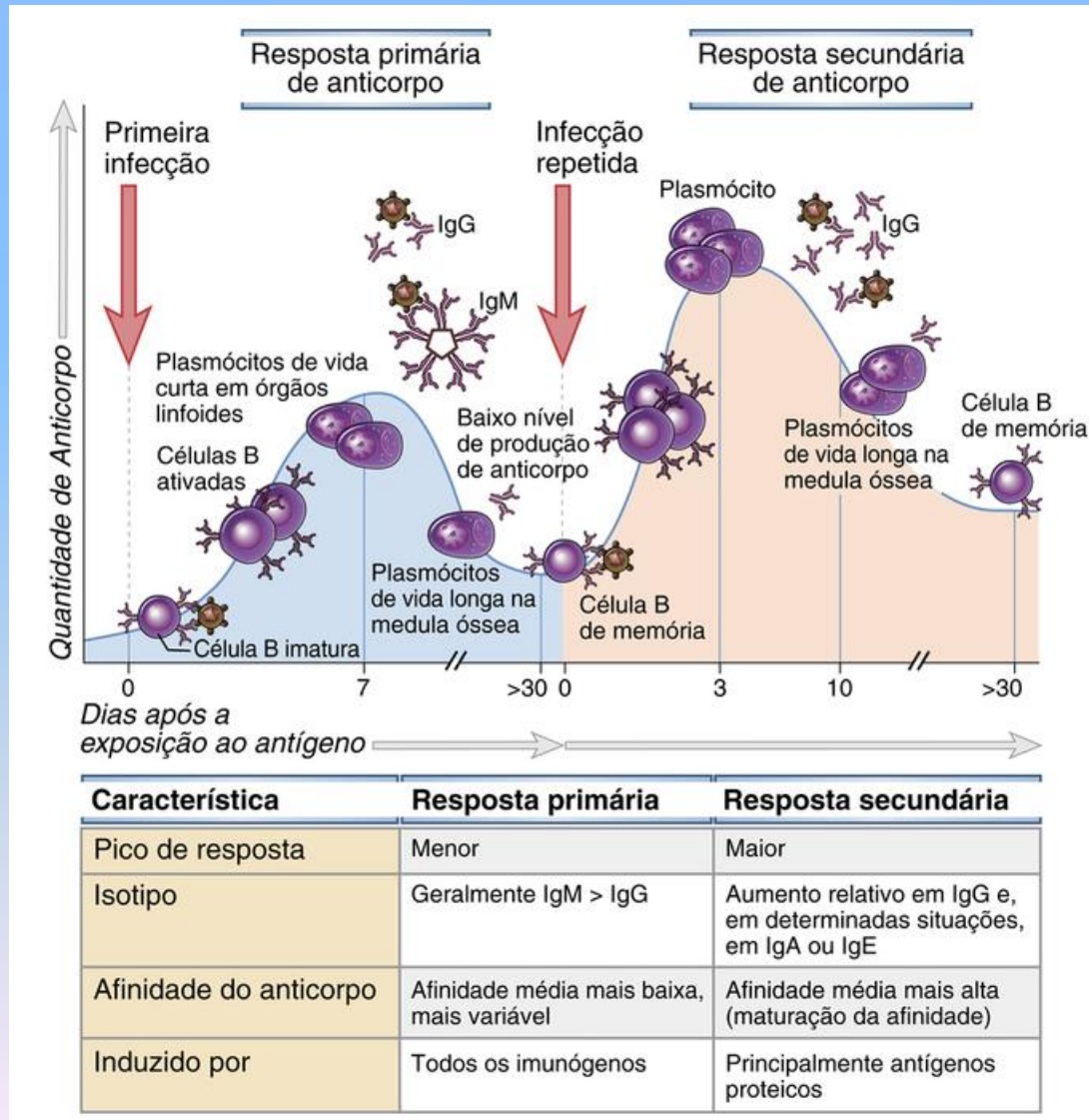
**B** A fosfatase associada ao receptor de Fc, SHIP, converte  $PIP_3$  a  $PIP_2$  no complexo célula B-receptor, bloqueando a sinalização posterior



# ***Propriedades dos Antígenos Timo-Dependentes e Timo-Independentes***

	<b>Respostas Timo-Independentes</b>	<b>Respostas Timo-Dependentes</b>
Natureza química do antígeno	<i>Antígenos poliméricos, especialmente polissacarídeos, também glicolipídeos e ácidos nucleicos</i>	<i>Proteínas</i>
Troca de isotipo do anticorpo	<i>Pouca ou nenhuma</i>	<i>Sim (IgG, IgE e IgA)</i>
Maturação de afinidade do anticorpo	<i>Não</i>	<i>Sim</i>
Resposta de memória de células B	<i>Pouca ou nenhuma (observada apenas com alguns antígenos polissacarídicos)</i>	<i>Sim</i>

# Dinâmica das Respostas Primárias e Secundárias nos Linfócitos B





# Frequência de Linfócitos durante a Resposta

“... a frequência de linfócitos naíve específicos para qualquer antígeno é estimado entre 1 em 10.000 e 1 em 1.000.000 ...”

Exemplo: Frequência de linfócitos B de camundongos que produzem anticorpos anti-hemácias de carneiro

Animais não-imunizados:

- 1 em cada 26.300 linfócitos B produzem IgM
- linfócitos B que produzem IgG: não detectáveis (<1 em um milhão)

Animais imunizados:

- 1 em 219 linfócitos B produzem IgM (5 dias p.i.)
- 1 em 112 linfócitos B produzem IgG (12 dias p.i.)
- 1 em 3.030 linfócitos B produzem IgG (180 dias p.i.)

