

Imunitatea celulară

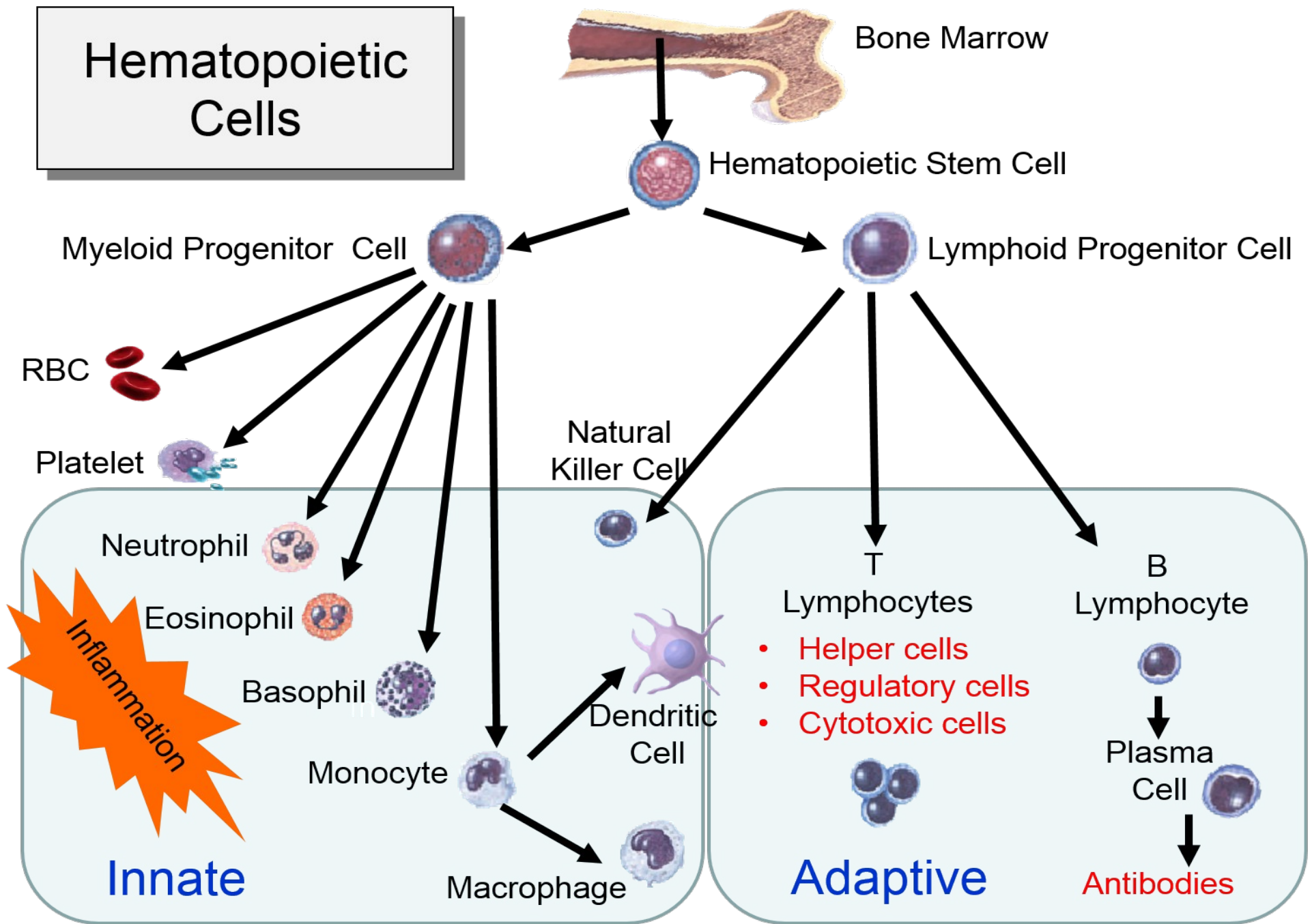
Limfocitele

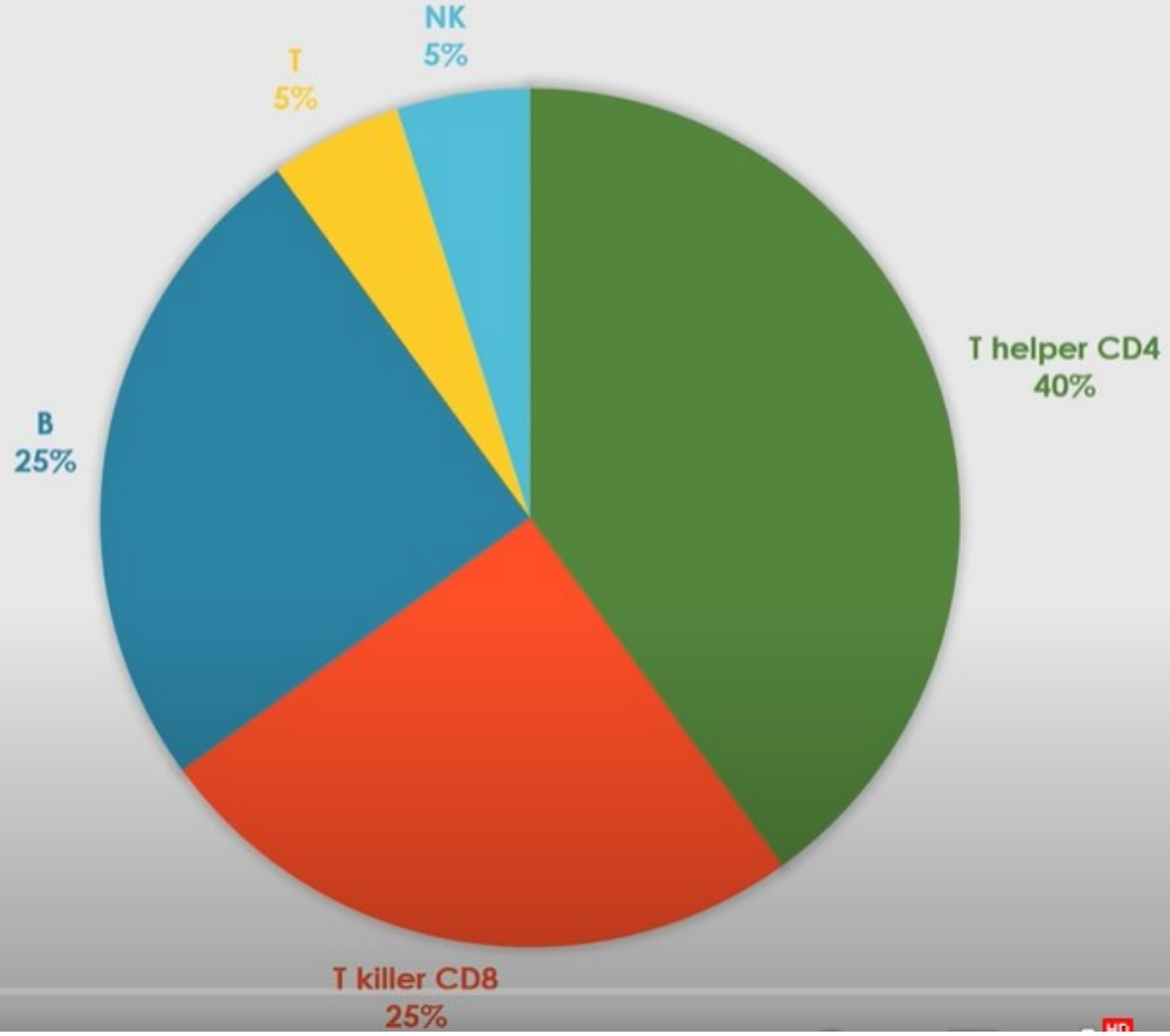
T: CD4, CD8, CD3

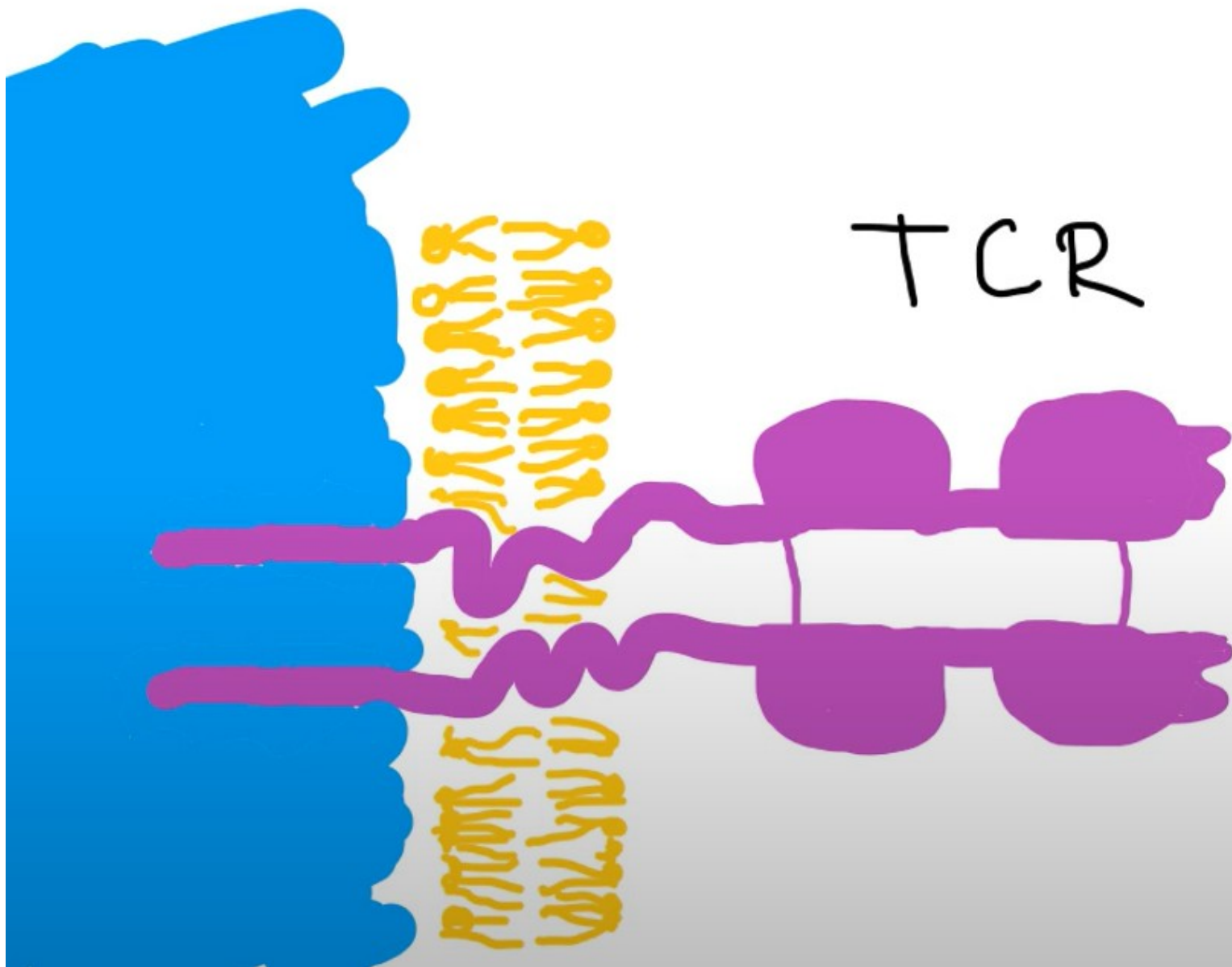
RASPUNSUL IMUN CELULAR

Răspunsul IC este o componentă a imunității dobândite responsabilă de eliminarea microbilor care pot supraviețui în vacuole fagocitare (facultativ intracelulari) sau în citoplasma celulelor infectate (obligator intracelulari).

Acest tip de imunitate este realizat **predilect** de **Limfocitele T**.







95% T- $\alpha\beta$

5% T- $\gamma\delta$

- Precursorii **limfocitelor T** (LT) migrează în timus, unde sub influența celulelor stromale (IL-7) și a corpusculilor Hassal se diferențiază în limfocite T mature.
- Migrația LT din cortex spre medula timică este însoțită de achiziția unor proteine de suprafață specifice (receptori: TCR, CD2, CD3, CD4, CD8, etc).
- La o etapa precoce de selectie doar limfocitele cu TCR functional vor supraviețui.

▶ Dezvoltarea ulterioară a LT impune o selecție a celulelor dependentă de capacitatea de recunoaștere a moleculelor Complexului Major de Histocompatibilitate (CMH): CMH I și CMH II de către CD4 și CD8, precum și de receptorul LT – selecție pozitivă și selecție negativă – 2 procese independente.

◆ **Selecția pozitivă –**

etapa 1 a examenului limfocitelor în timus: testarea CD4 și CD8

Sunt testate limfocitele T în vederea recunoașterii de către CD4 și CD8 expresate inițial pe același limfocit a moleculelor CMH I și CMH II expresate de celulele prezentatoare de antigen.

Dacă recunoașterea este concludentă, atunci limfocitele au susținut examenul și vor fi admise la examenul următor. Limfocitele care nu se impun prin recunoașterea completă a CMH I și CMH II, vor pieri prin apoptoză.

Selecția negativă – examenul 2

Este testat receptorul LT în vederea recunoașterii antigenelor proprii expresate de CMH I și CMH II.

Limfocitele T, care în medula timusului recunosc cu **afinitate înaltă peptide proprii asociate cu CMH I și CHM II (celulele dendrite și celulele epitelale)**, sunt expuse unui semnal apoptotic pozitiv și vor pieri prin apoptoză.

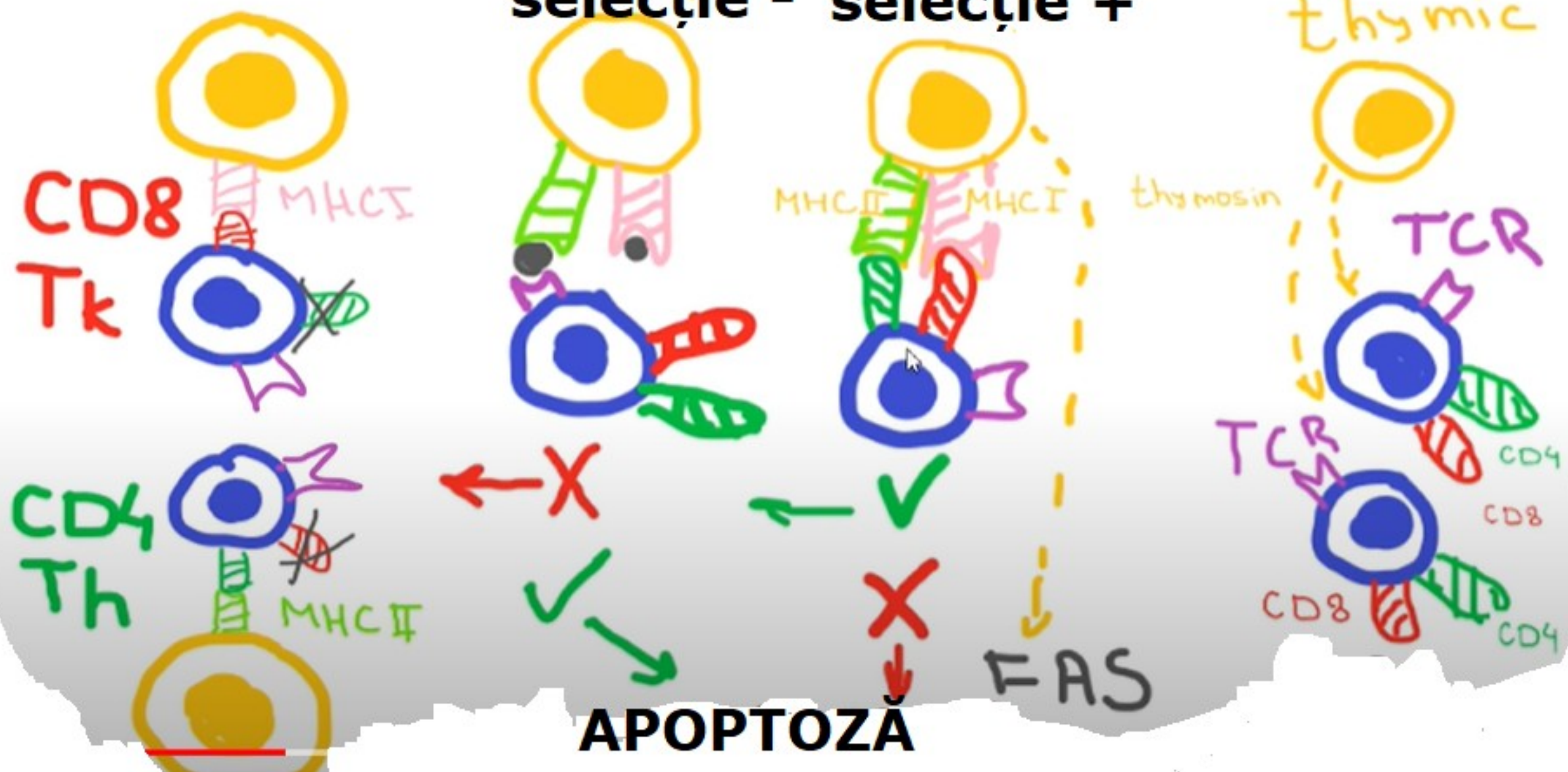
Astfel, se evită riscul formării unor clonuri de limfocite super-reactive, capabile să atace structurile antigenice proprii.

Etapa finală a instruirii LT în timus:

- Celulele capabile să recunoască **mai activ** peptide în asociere cu moleculele **CMH I** pierd markerul CD4 și devin celule **T-CD8+ - limfocite citotoxice sau limfocite killer. (40%)**
- Celulele, care recunosc **mai activ** **CMH II** - pierd markerul CD8 și, respectiv, devin celule **T-CD4+ - limfocite helper. (25%)**

Celulele CD8 naive vor fi activate de CMH I.
Celulele CD4 și CD8 naive vor fi activate de CMH II.

selecție - selecție +



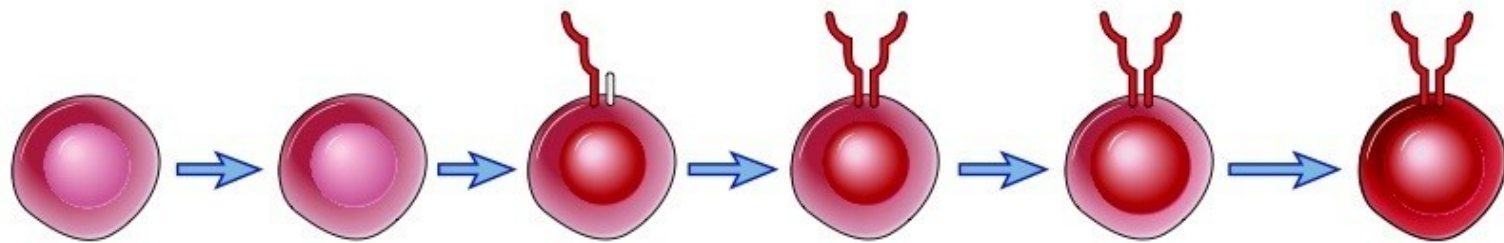
◆ Selecția pozitivă – selecție timus-dependentă sau generală?:

Limfocitele T care au supraviețuit în timus prin selecția pozitivă recunosc peptidele expresate de CPA din timocite.

Important:

poate fi un pericol, ca aceste limfocite, părăsind timusul, să nu recunoască drept proteine-self proteinele din alte organe???

■ Acest fenomen în mod normal nu are loc din cauza prezenței unei proteine, numită proteină-regulator-autoimun, care induce expresia mai multor proteine, iminente și altor organe (pulmon, rinichi, etc.).



Stage of maturation	Stem cell	Pro-T	Pre-T	Double positive	Single positive (immature T cell)	Naive mature T cell
Proliferation	█		█			
RAG expression			█	█		
TdT expression		█				
TCR DNA, RNA	Unrecombined (germline) DNA	Unrecombined (germline) DNA	Recombined β chain gene [V(D)J-C]; β chain mRNA	Recombined β , α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA	Recombined β , α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA	Recombined β , α chain genes [V(D)J-C]; β and α chain mRNA
TCR expression	None	None	Pre-T receptor (β chain/pre-T α)	Membrane $\alpha\beta$ TCR	Membrane $\alpha\beta$ TCR	Membrane $\alpha\beta$ TCR
Surface markers	$c-kit^+$ CD44 ⁺ CD25 ⁻	$c-kit^+$ CD44 ⁺ CD25 ⁺	$c-kit^+$ CD44 ⁻ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{lo}	CD4 ⁺ CD8 ⁻ or CD4 ⁻ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{hi}	CD4 ⁺ CD8 ⁻ or CD4 ⁻ CD8 ⁺ TCR/CD3 ^{hi}
Anatomic site	Bone marrow	Thymus				Periphery
Response to antigen	None	None	None	Positive and negative selection		Activation (proliferation and differentiation)

Limfocitele B și T naive sunt celulele care încă nu s-au întâlnit cu Ag. Populează organele limfoide periferice, ies pe timp scurt în circuitul sangvin în recunoașterea Ag.

După interacțiunea cu Ag urmează activarea lor, proliferarea și diferențierea în **celule efectoare**:

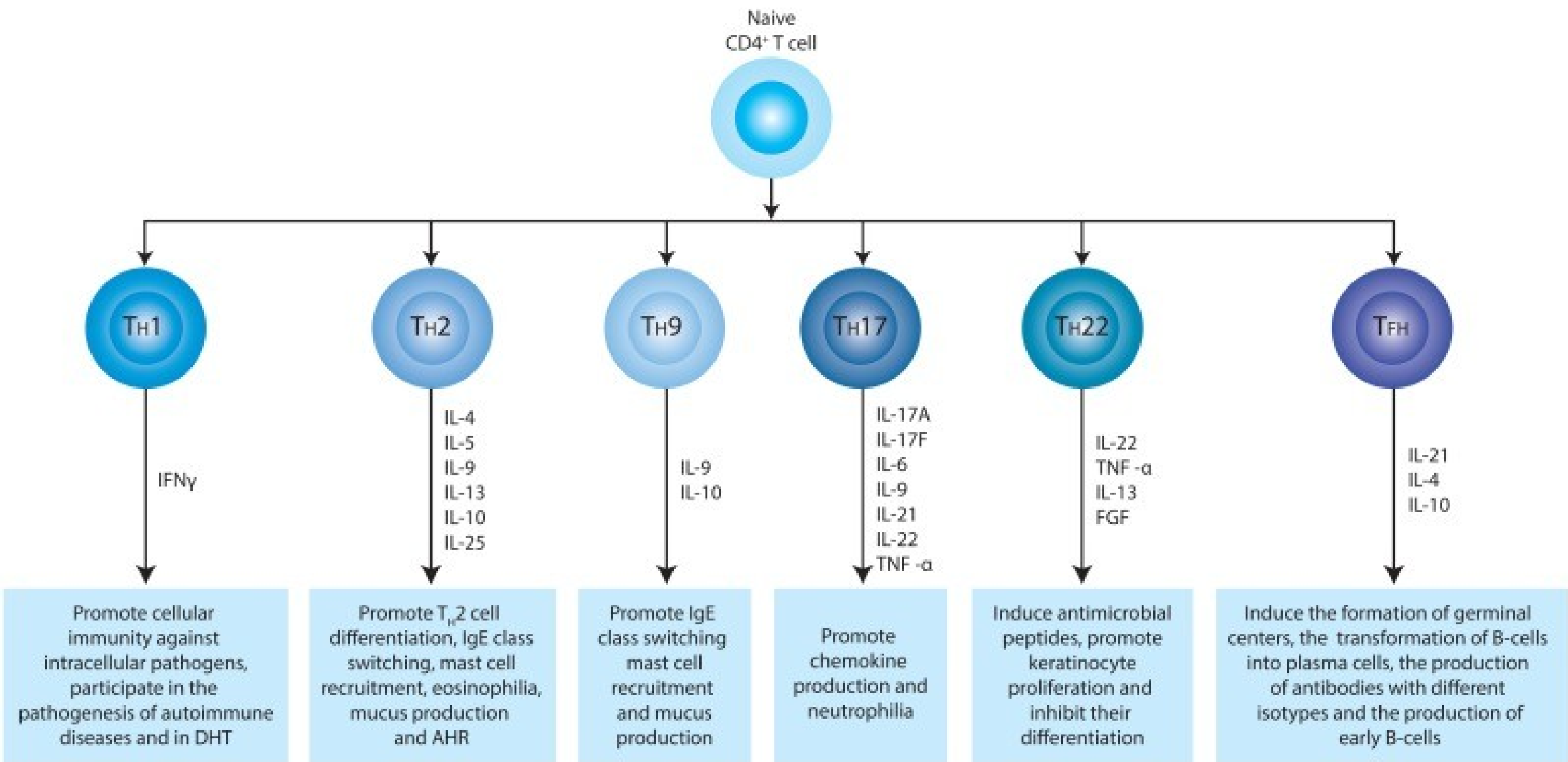
Limfocitele B – plasmocite producătoare de Ac.

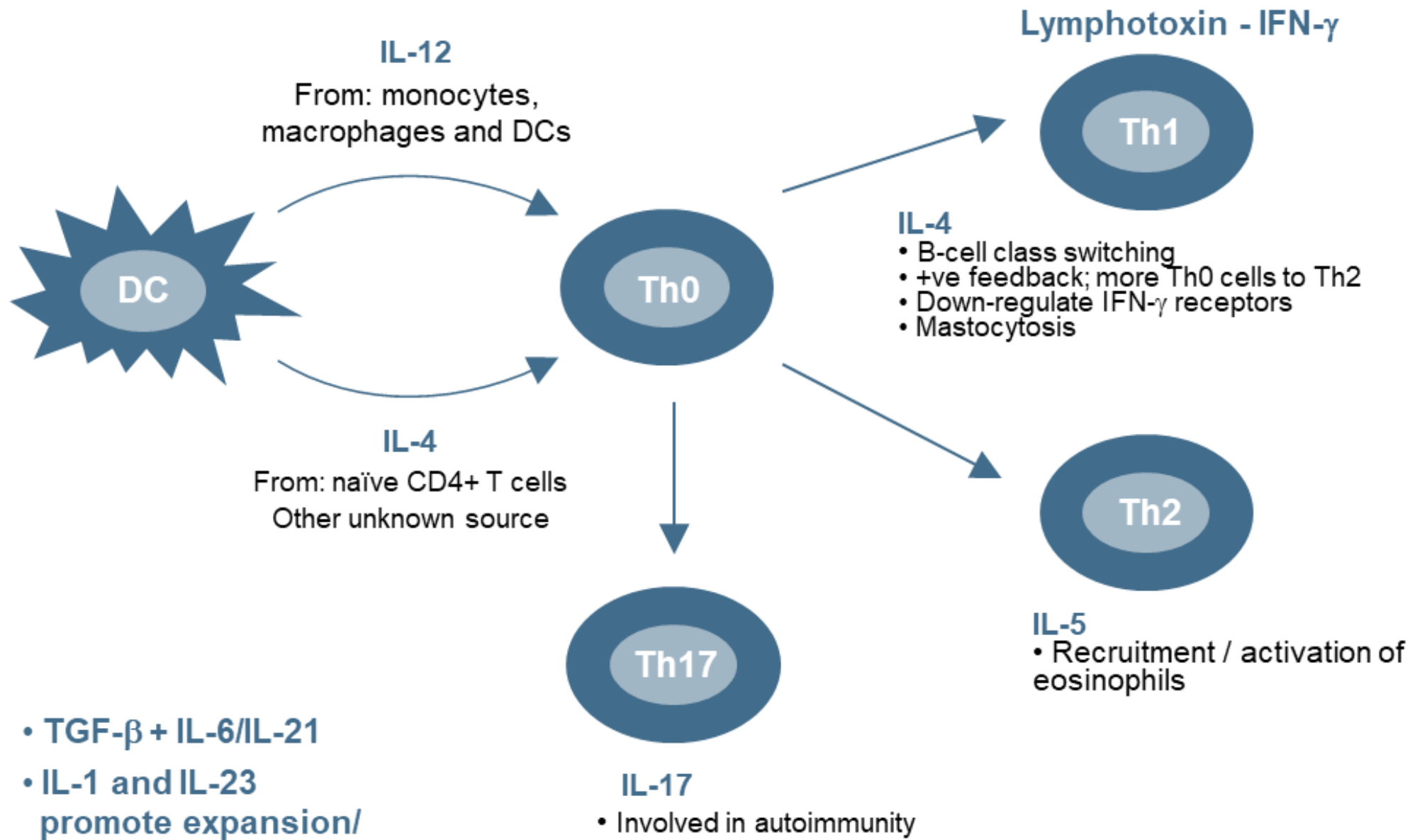
Limfocitele T – T-helper (CD4) și T-citotoxice (CD8)

Limfocitele B reprezintă o cotă medie 15% din toate limfocitele, cu o durată de viață scurtă, de 3-5 zile.

Limfocitele T constituie 65-70% cu o durată de viață lungă (luni, ani).

Raportul limfocitelor CD4/CD8 este de 3:2.





LIMFOCITELE T-helper:

Celule care ajută alte celule imune să elimine patogenii din organism:

Th1, Th2, Th9, Th17, Tfh, Treg

Criteriile de subclasare:

- 1. Citokinele care asigură diferențierea CD4 în subtipuri**
- 2. Factorii de transcripție ce participă în diferențierea limfocitelor**
- 3. Citokinele care sunt produse și eliberate de aceste subclase de T-helper**

De ce atâtea subclase de limfocite T-helper sunt necesare:

1. Diverse tipuri de patogeni și infecții.
2. Diferite celule țintă.
3. Patogeni cu rezistență deosebit de mare față de puterea de nimicire a lor de către macrofage prin fagocitoză.
4. Patogeni prea mari în dimensiune ca să fie eficient fagocitați (eg, paraziții).

Un patern comun:

T-helper eliberează diferite citokine, care comunică și ajută alte celule imune să distrugă și să elimine din organism Ag.

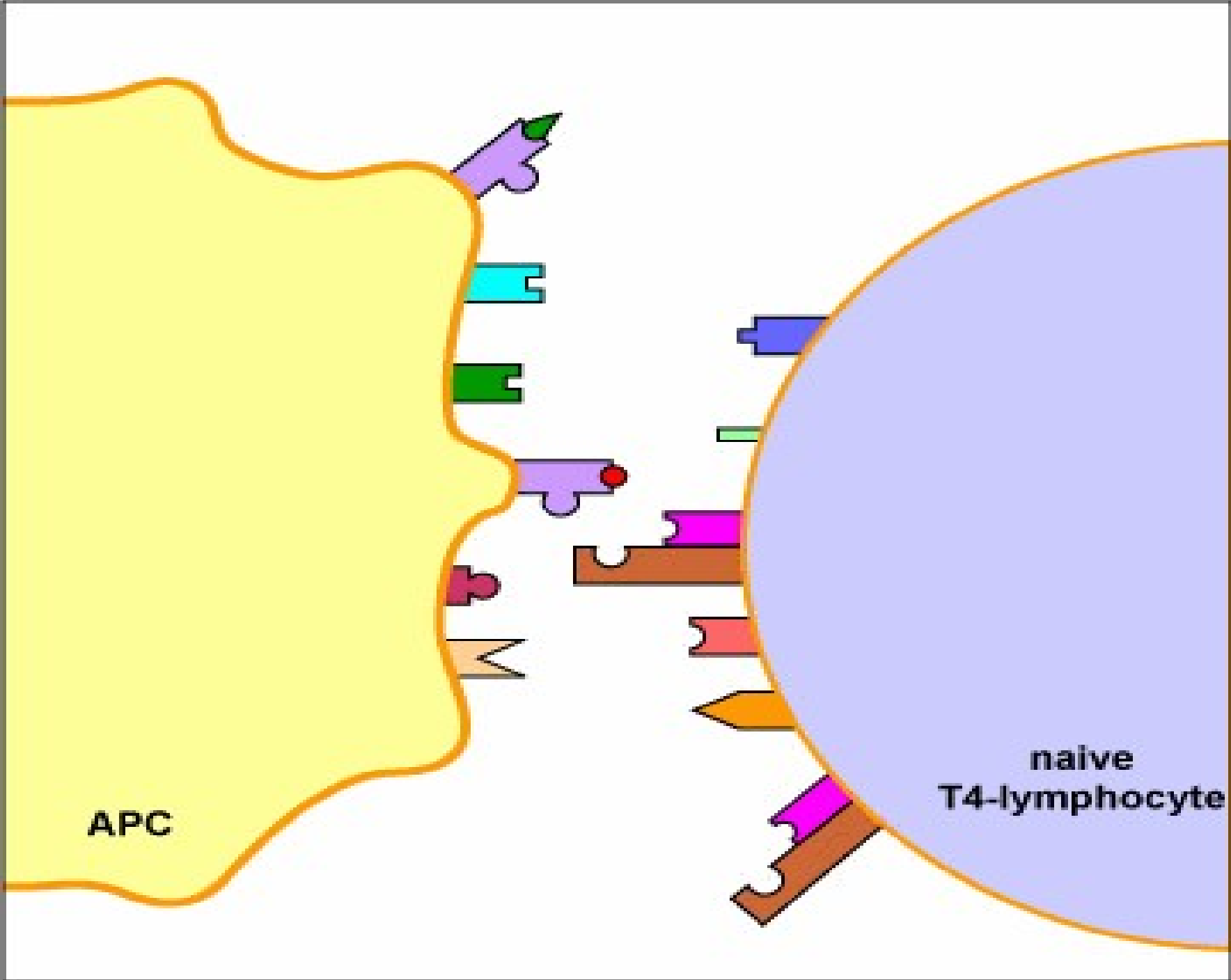
Th1

Celulele dendritice (CD) și macrofagele activate de patogenii intracelulari înglobați activează limfocitul Th-naiv și asigură diferențierea lui în Th1 prin intermediul **IL-12, IL-18** și **tipul 1 de INF (gamma și beta)**.

IL-18 potențează acțiunea IL-12.

Factorul de transcripție STAT4 are rol important în procesul de diferențiere. STAT - Transductorul de semnal și activatorul transcripției 4 – factor de transcripție aparținând familiei de proteine STAT.

Costimulatori: **CD40L-CD40R, CD28-B7, CD2 - LFA3** (Lymphocyte function associated antigen-3), **LFA1 – ICAM1**.



Th1

Odată ce T-naiv este diferențiat în Th1, acesta din urmă secretă **INF-gamma**, care activează macrofagele și facilitează astfel, fagocitoza patogenului.

INF-gamma stimulează de asemenea și producția de anticorpi de către plasmocite.

IL-2 (factorul de creștere al limfocitelor T) eliberat de Th1 are rol notabil în proliferarea limfocitelor Th1 prin acțiunea sa **autocrină**.

Th1 produce și TNF-beta, citokină implicată în inflamația legată cu procesul de fagocitoză.

Th2

mediază atacul patogenilor extracelulari și al alergenilor

În atacul cu paraziți, CPA (celula dendritică) eliberează IL-4, care asigură diferențierea **Th-naiv în Th2**.

Th2> eliberează citokinele IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13.

IL-4> stimulează limfocitele B în vederea producției de IgE.

IL-5 și IL-9> stimulează mastocitele și euzinofilele.

IL-13> stimulează producția de mucus în tractul intestinal.

IgE eliberată leagă parazitul. Ulterior mastocitele și euzinofilele se leagă de fragmentul Fc al IgE ce acoperă parazitul. Enzimele eliberate prin degranularea acestor celule vor ucide parazitul.

Răspunsurile dominate de **Th1** sunt implicate în patogeneza afecțiunilor autoimune specifice ale organelor, a bolii Crohn, a sarcoidozei, a respingerii acute a alogrefei de rinichi și a unor avorturi recurente inexplicabile.

În schimb, răspunsurile **Th2** specifice sunt responsabile pentru tulburările atipice la indivizii susceptibili genetic. În plus, răspunsurile dominate de Th2 au un rol patogenetic în scleroza sistemică progresivă și alveolita fibroasă.

Th17

Numele derivă din IL-17 produsă de aceste limfocite

În atacul cu bacterii extracelulare și fungi CD (celulele dendritice) vor produce diferențierea **Th-naiv în Th17** sub acțiunea IL-6 și TGF-beta (factorul de transformare a creșterii).

Th-17 eliberează IL-17 și IL-22.

IL-17 participă în recrutarea neutrofilelor (potențial pro-inflamator). Neutrofilele trebuie să distrugă bacteriile extracelulare și fungii, inclusiv prin fenomenul de NEToză (moartea neutrofilelor și formarea capcanelor din proteaze).

IL-22 stimulează celulele epiteliale în vederea producției de proteine antimicrobiene.

Th17

Răspunsul inflamator mediat de celulele Th17 este asociat cu boli care au o componentă inflamatorie importantă, cum ar fi:

artrita reumatoidă

lupusul eritematos sistemic (LES)

astmul bronșic

respingerea transplantului.

IL-17 acționează în sinergism cu **TNF-alpha** conducând la activarea genelor de control al factorilor pro-inflamatori.

IL-17 se leagă cu receptorii fibroblastelor, epitelocitelor și endotelocitelor, determinând eliberarea de IL-8 și MCP-1 (proteina chemoattractantă a monocit.).

Important: **IL-17** și **IL-22** stimulează expresia defensinelor (proteine din epidermă cu efect antibacterian).

Th22

Th-22 derivă din celulele dendritice plasmoidice (un set de CD circulante în plasmă și limfă) sub acțiunea IL-6 și care produc cantități mari de INF-tipul 1.

Profilul transcripcional al **Th-22** include, de asemenea, gene care codifică FGF (factor de creștere a fibroblastelor), IL-13 și chemokine implicate în angiogeneză și fibroză.

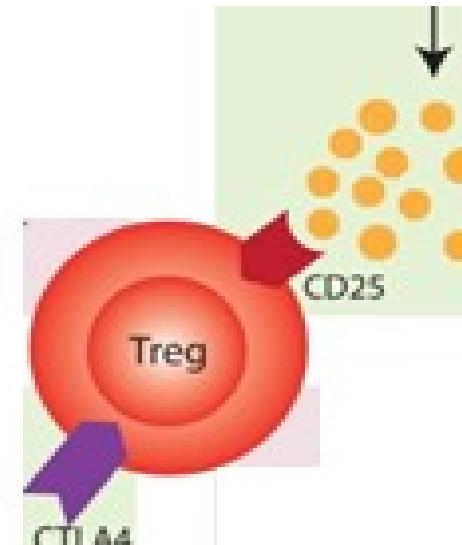
Th-22 stimulează proliferarea keratinocitelor și are rol patogenetic în evoluția psoriazisului.

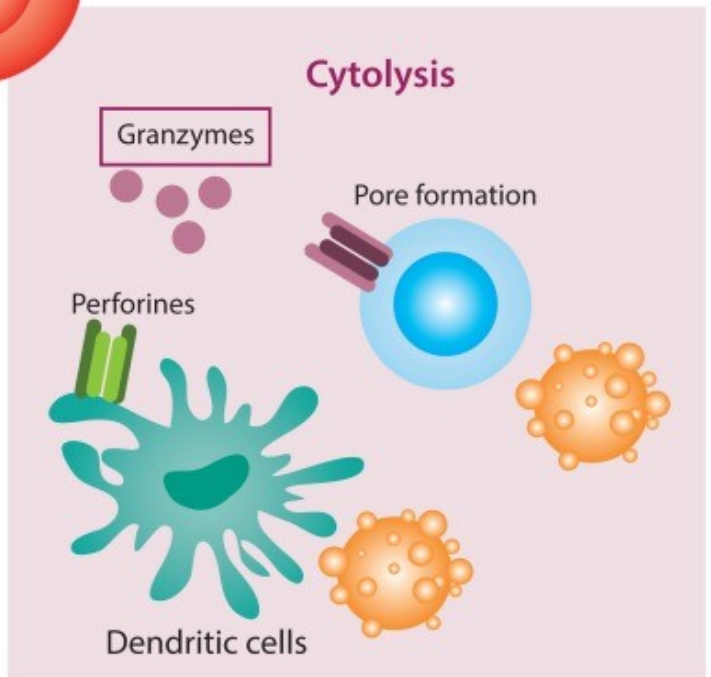
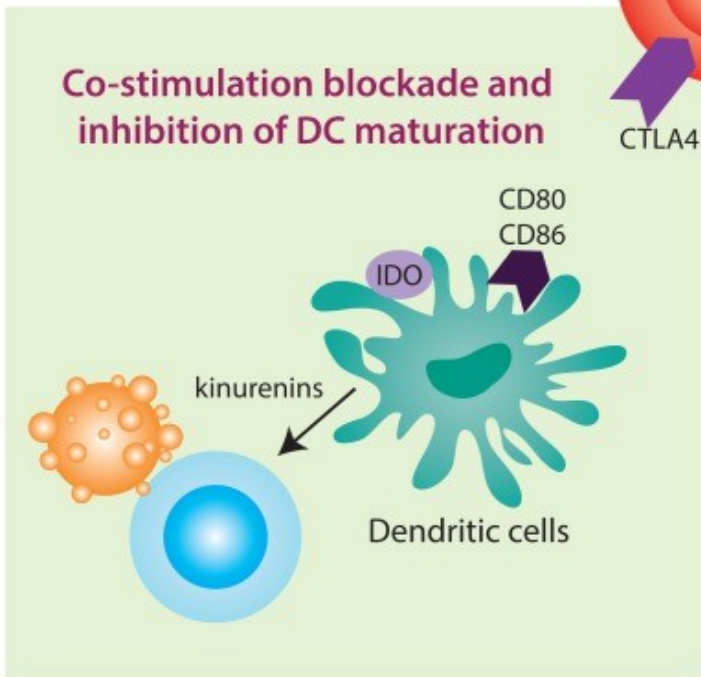
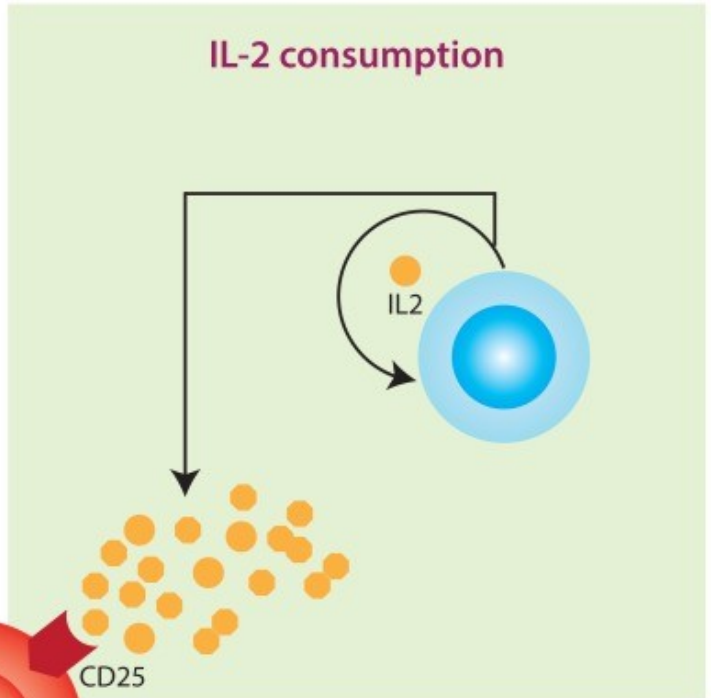
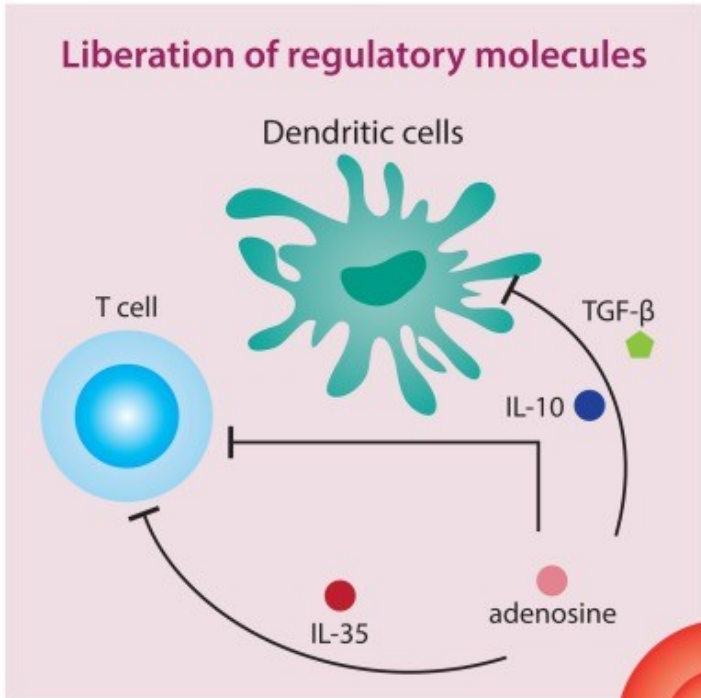
Threg (limfocitele reglatoare) cunoscute ca limfocite supresoare: 5-15% din T-CD4

Odată ce patogenul este eradicat, **Threg** temperează activitatea sistemului imun. Astfel, **Threg** previne patologia autoimună.

Mecanisme:

1. **Threg** produce TGF-beta și IL-10, care asigură atenuarea răspunsului imun:
2. IL-10 are efect supresor asupra macrofagelor.
3. TGF-beta crește populația de Threg.
4. IL-10, TGF, IL-35 și adenzina inhibă secreția de citokine specifice fenotipurilor Th1, Th2 și Th17.
5. CD25 – receptorul către IL-2. Are efect competitor cu IL-2 față de celulele imune efectoare.





**CTLA4 –
cytotoxic T-
lymphocyte
antigen 4.**

**Reduce expresia
moleculor
costimulatoare ale
CPA, cum ar fi
CD80 și CD86.**

**Granzimele și
perforina vor
distruge celulele
imune efectoare.**

Tfh: T- follicular helper cells

Tfh excelează prin capacitatea de a expresa la cel mai înalt nivel molecule costimulatoare, cum ar fi CD40 și ICOSL (inducible T cell costimulator molecule-ligand).

Tfh: T- follicular helper cells

Tfh stimulează producția de anticorpi de către limfocitele B prin intermediul eliberării:

- **Factorului de transcripție BCL-6 (B-cell lymphoma 6), o proteină codificată de gene BCL-6 din cromozomul 3 și care participă în controlul proliferării celulelor dendritice splenice nemature. Expresia majorată a genei BCL-6 poate conduce la riscul dezvoltării limfomului non-Hodgkin.**
- **IL-4**
- **IL-10**
- **IL-21**

Limfocitele T-CD8 (citotoxice)

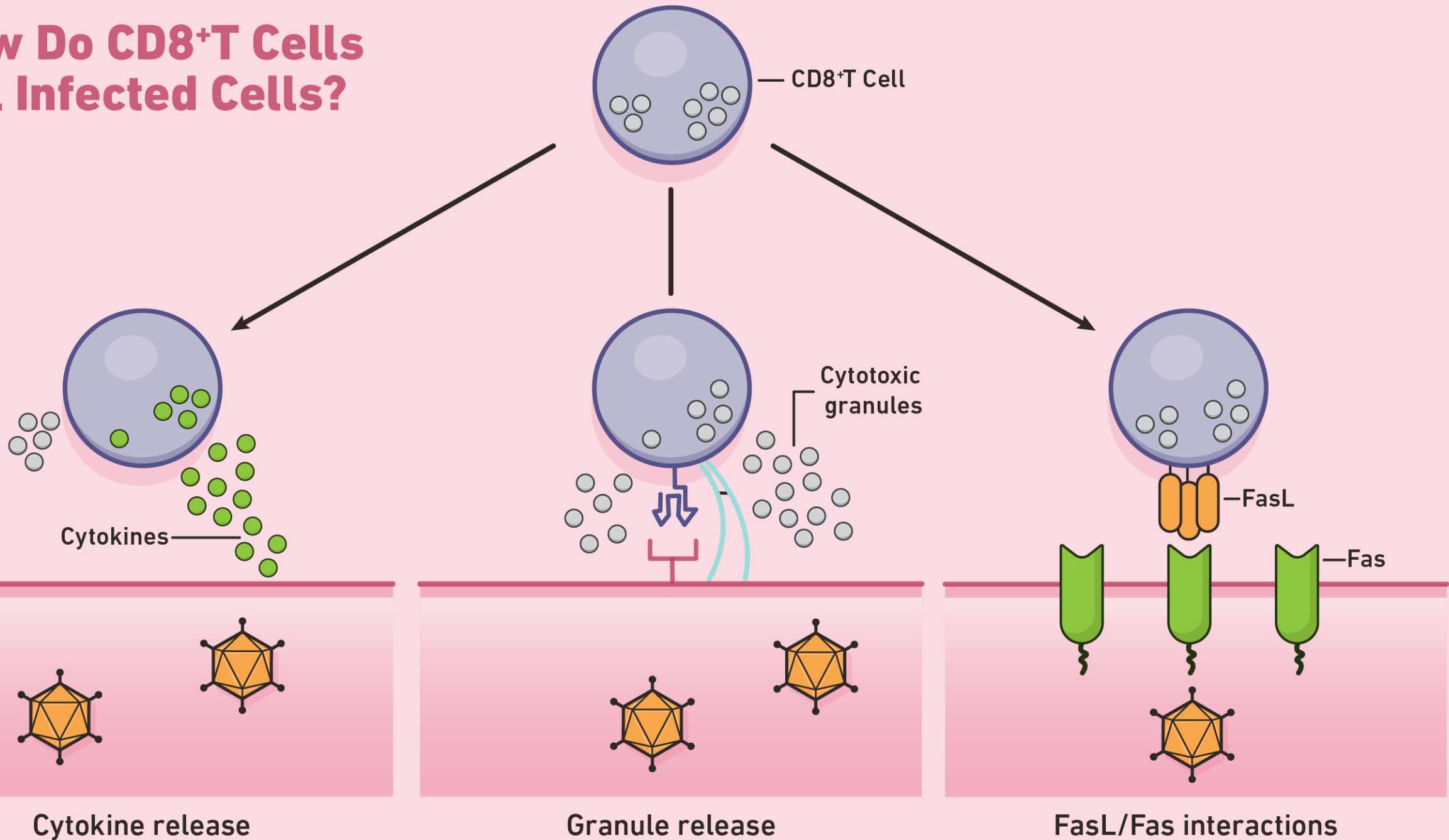
Se impun în cadrul imunității adaptive prin capacitatea de a distruge celulele cancerogene și infectate cu virus care au expresat prin intermediul CMH I antigenul non-self, recunoscut de receptorii TLR și CD8.

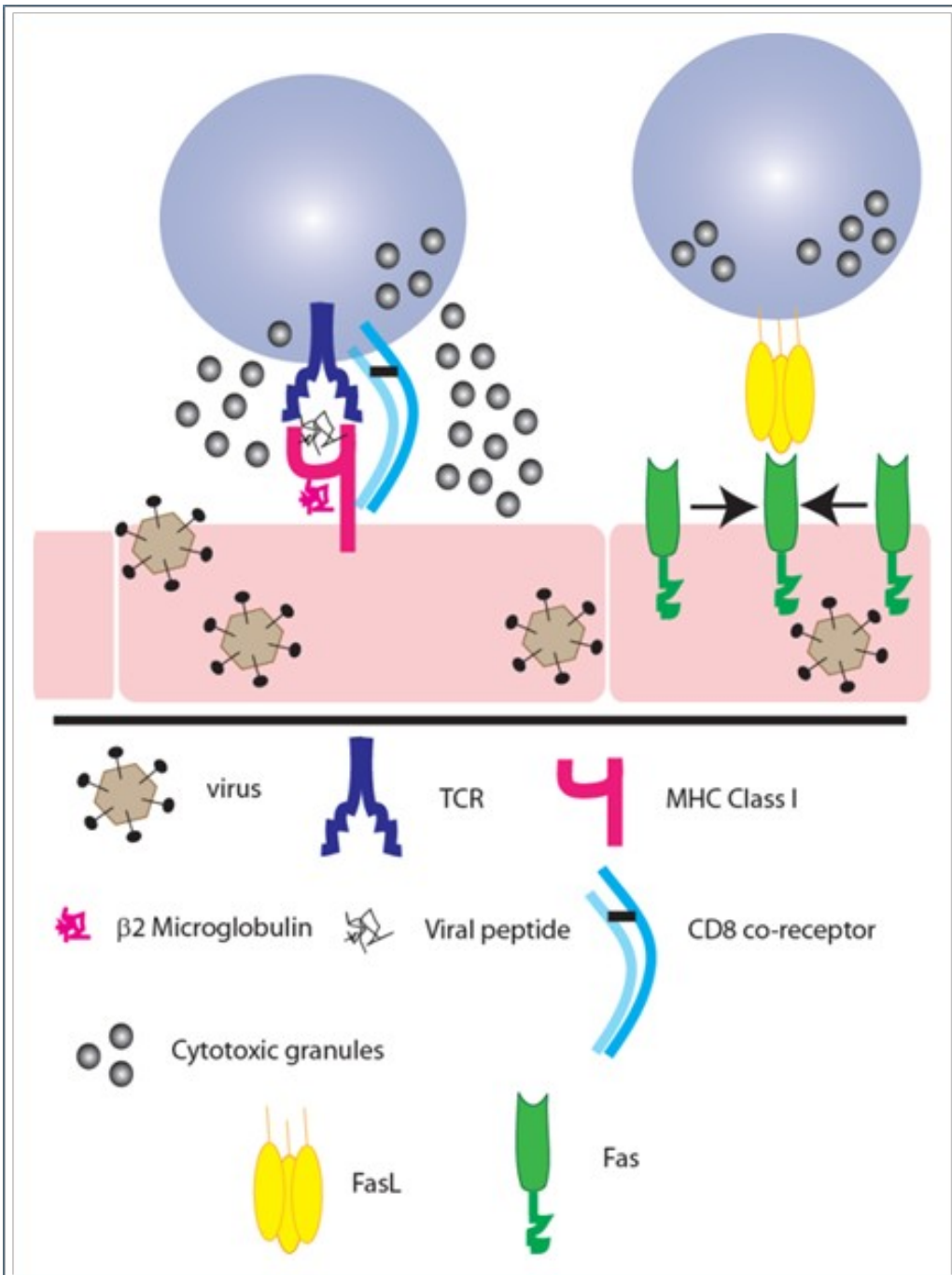
Efectul citotoxic al T-CD8 este realizat prin 3 mecanisme de bază:

1. Eliberarea de perforină și liza celulei.
2. Eliberarea de granzime și apoptoza celulei (granzima B activează caspaza-1).
3. Expresia ligandului pentru receptorul Fas (eg, CD95), interacțiunea cărora va conduce la declanșarea apoptozei pe calea extrinsecă.

T-CD8 pot elibera și TNF-alpha, precum și IFN- γ , citokine importante în defensivă antivirală și controlul proliferării creșterii tumorale.

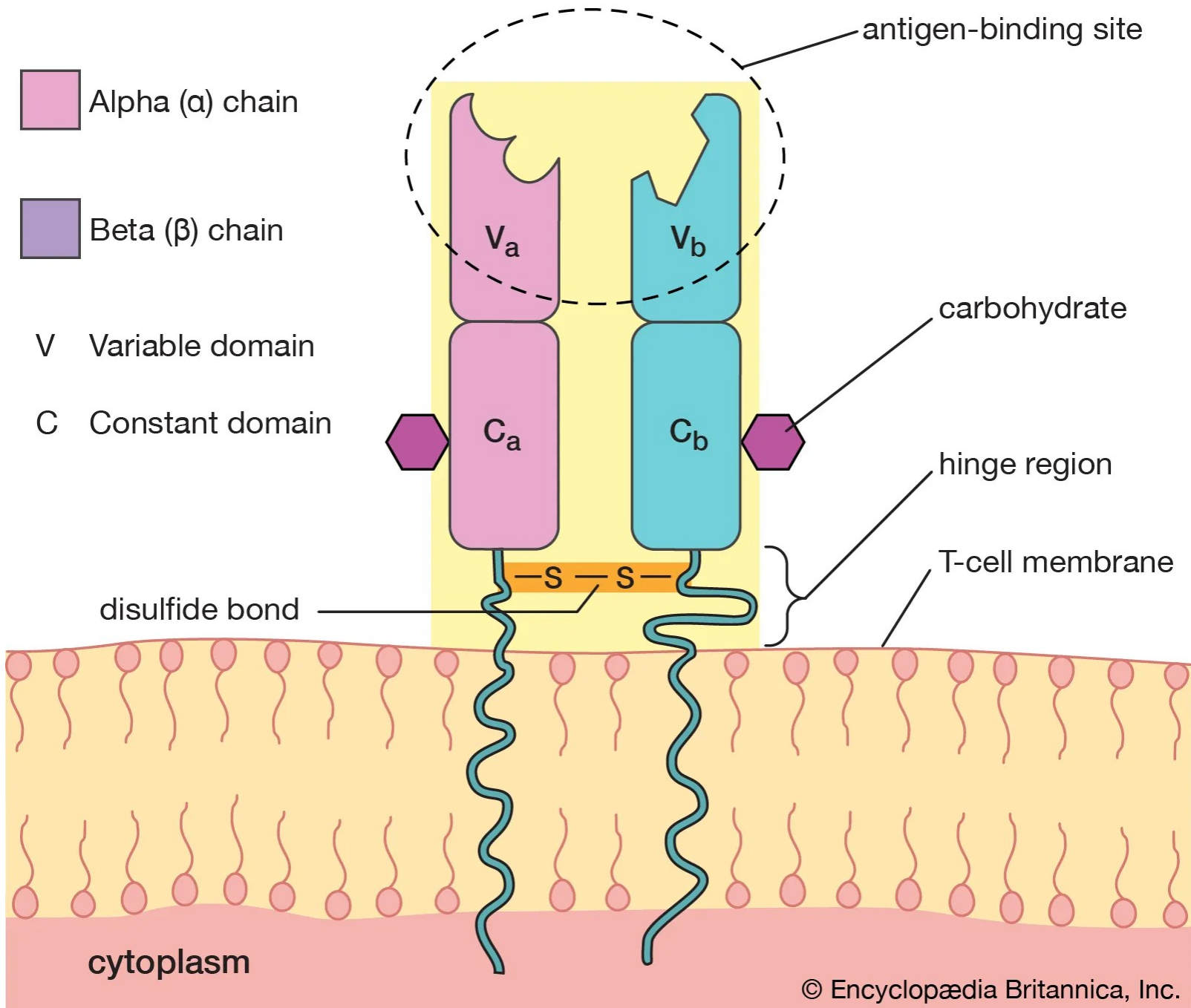
How Do CD8⁺T Cells Kill Infected Cells?





Complexitatea interacțiunii T-CD8 cu celula infectată cu virus, care prin intermediul CMH-I expresează pentru limfocitul T epitopul antigenic.

CD8 este un costimulator dimeric.



Structura receptorului limfocitului T pentru antigen - TCR

Unele celule prezentatoare de antigen profesionale pot fagocita celule infectate sau tumorale moarte sau epave de celule, iar în urma procesării Ag, acesta să fie expresat cu ajutorul CMH I limfocitelor T-CD8 – fenomenul de cross-prezentare.

Molecula costimulatoare principală pentru T-CD8 este CD28.

Subsetul de memorie al celulelor T CD8+ poate fi clasificat în trei grupuri distincte:

- 1. celule de memorie centrală,**
- 2. celule de memorie efectoare,**
- 3. celule de memorie rezidente în țesuturi.**

1. Celulele cu memorie centrală sunt limfocite rezidente în țesutul limfoide care răspund de obicei la infecții secundare prin proliferare rapidă. La om, acestea sunt caracterizate fenotipic prin co-exprimarea markerilor de suprafață CD127, CD27 și CD28.

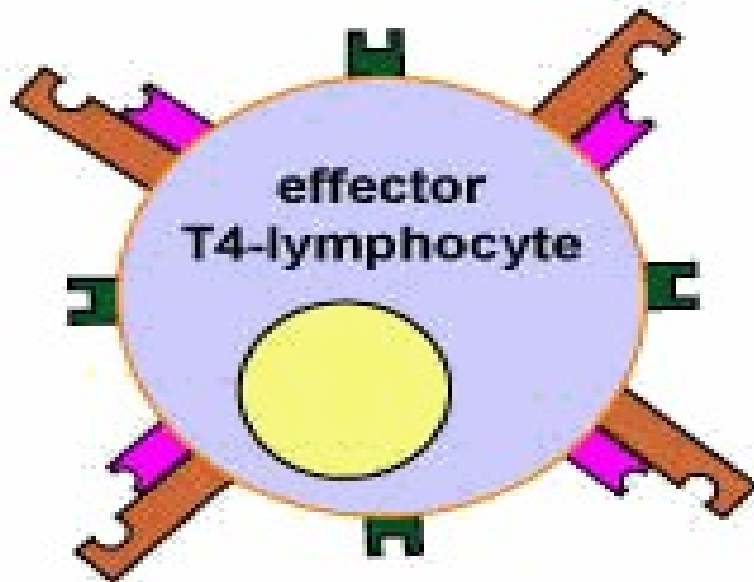
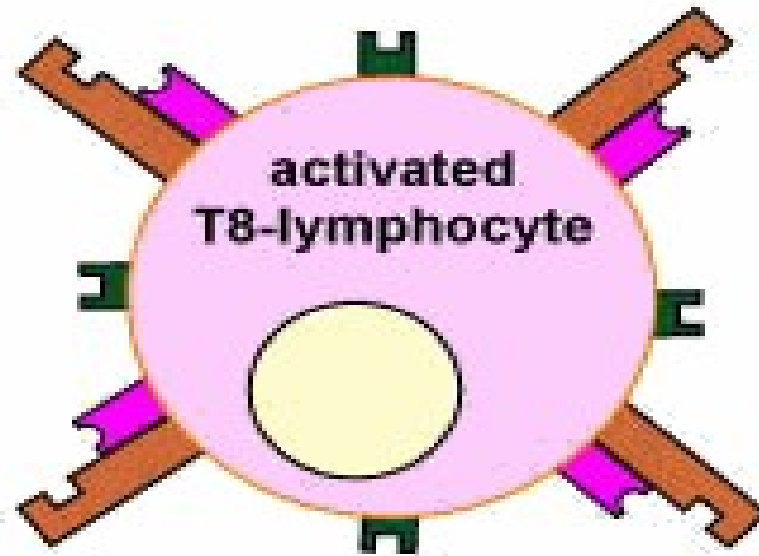
2. Celulele de memorie efectoare circulă în tot corpul gata să caute și să omoare celulele țintă care se potrivesc cu antigenul. Activitatea lor de proliferare și înnoire este joasă.

3. Celulele de memorie rezidente în țesut - celule mature care sunt „în așteptarea” infecțiilor secundare la locul inițial de leziune sau invazie.

Important:

- 1. T-CD8 pot influența supresor replicarea virusului HIV în limfocitul T-CD4 fără liza acestuia din urmă. Se presupune că T-CD8 eliberează un factor de inhibiție a replicării virusului (o proteină ce nu a fost găsită în alte celule, rezistentă la stres termic, acidoză).**
- 2. T-CD8 pot elibera un set de citokine (IFN γ , TNF α , IL-2) și chemokine) și, deci, stimula recrutarea celulelor imune.**
- 3. Activitatea necontrolată a limfocitelor T-CD8 poate contribui la răspunsuri autoimune împotriva celulelor sănătoase.**

INTERLEUKIN-INDUCED PROLIFERATION OF T8-LYMPHOCYTES



Între T-CD8 și T-CD4 poate fi o cooperare importantă, privind creșterea capacității de proliferare a CD8 de către IL-2 eliberată de CD4.

La rândul său eliberarea IL-2 de către celulele CD4 aflate în vecinătate, este stimulată de IL-2 eliberată de CD8.

Important:

Memorie imunologică – Capacitatea sistemului imun de a realiza un răspuns mai rapid, mai intens și mai eficace la întâlniri repetate cu același Ag.

Toleranța – absența răspunsului imun la antigene proprii (self). Este determinată de inactivarea și eliminarea limfocitelor autoreactive în procesul de maturizare a limfocitelor T și B.

Important

Citokine:

■ Citokinele sunt molecule care permit diferitor celule să comunice între ele în producerea unei reacții de răspuns.

◆ Citokinele reunesc un grup eterogen de molecule:
interleukine (IL), limfokine, monokine,
interferoni (IFN),
factori de stimulare a coloniilor (CSF),
factori de necroză a tumorilor (TNF), etc.

Important - Citokine:

- Citokinele permit celulelor imune să se multiplice și să se diferențieze (eg, IL-2 este un factor de creștere al limfocitelor T, iar IL-4 stimulează limfocitele B și diferențierea lor în plasmocite producătoare de Ig).
- Citokinele acționează asupra celulelor prin intermediul receptorilor membranari, care nu sunt întotdeauna activi. Expresia lor poate fi indusă de o altă citokină (eg, IL-1 induce receptorul pentru IL-2 pe limfocitele T și B).
- Receptorii citokinelor sunt prezenți și pe alte celule ale organismului.

Modele patologice privind răspunsul imun celular

- **Imunodeficiență dobândită: reducerea numărului de limfocite T în diferite impacturi (Ex. reducerea T-CD4 în infecția cu HIV)**
- **Imunodeficiență genetic asistată manifestată prin dezvoltarea insuficientă sau chiar absența timusului (Ex. sindromul DiGeorge): deficiența totală a limfocitelor T.**

Modele patologice privind răspunsul imun celular

- Incapacitatea limfocitelor T de a coopera adecvat cu limfocitele B cauzată de afectarea eliberării diferitor tipuri de citokine (Ex. IL-2, IL-4, IL-12), astfel că activarea LB și diferențierea lor în plasmocite sunt compromise.
- Afectarea expresiei CD3 și disfuncția limfocitelor reglatoare, fapt ce conduce la evoluția diferitor stări autoimune (afectarea toleranței imune).

Modele patologice privind răspunsul imun celular

- **Afectarea expresiei Fas-ligand, fapt ce conduce la diminuarea efectului CD-8 (limfocitele killer sau citotoxice).**
- **Incompetența genei AIRE (care expresează proteina reglatoare autoimună), fapt ce conduce la o instruire insuficientă în timus a LT privind dimensiunea recunoașterii antigenelor self. Astfel, crește riscul patologiilor autoimune.**

Modele patologice privind răspunsul imun celular

- **Mutații ale genelor ce expresează IL-2, fapt ce conduce la activitatea proliferativă joasă a LT-CD8 în detrimentul răspunsului imun citotoxic.**
- **Afectarea primară a LT în limfoame. Drept consecință sunt tulburări cantitative și calitative ale CD4 și CD8.**
- **Creșterea limfocitelor Th17 care are efecte ambigue:**
 - (◆) **combaterea infecțiilor repetate și**
 - (◆) **facilitarea și agravarea proceselor autoimune.**

Modele patologice privind răspunsul imun celular

- Mutații genetice ce converg în afectarea aparatului lizozomal și incapacitatea acestuia de a asigura cantități suficiente de catepsine, perforină și granzime necesare pentru acțiunea citotoxică a limfocitelor CD-8.
- Mutații genetice ce converg în expresia joasă a proteinei **scurfin** (factor de transcripție) de către gena Foxp3, fapt ce conduce la pierderea toleranței LT.

Consecințele de bază ale răspunsul imun celular afectat

- 1. Perturbarea efectului citolitic al CD-8 (Ex. vizavi de celulele infectate cu virus).**
- 2. Perturbarea activării și diferențierii limfocitelor B, precum și a sintezei de anticorpi de către plasmocite.**
- 3. Perturbarea acțiunii anti-cancer.**

