

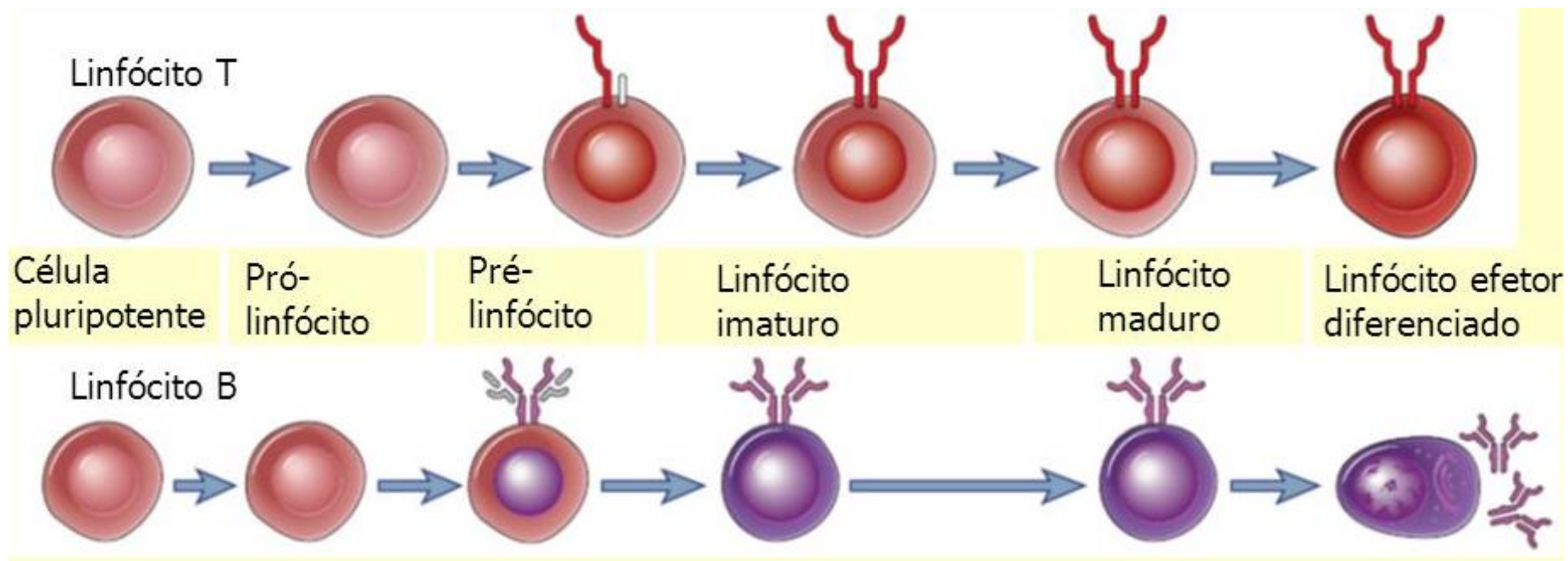


# Ontogenia de Linfócito T

Alessandra Barone

# Ontogenia de Linfócitos

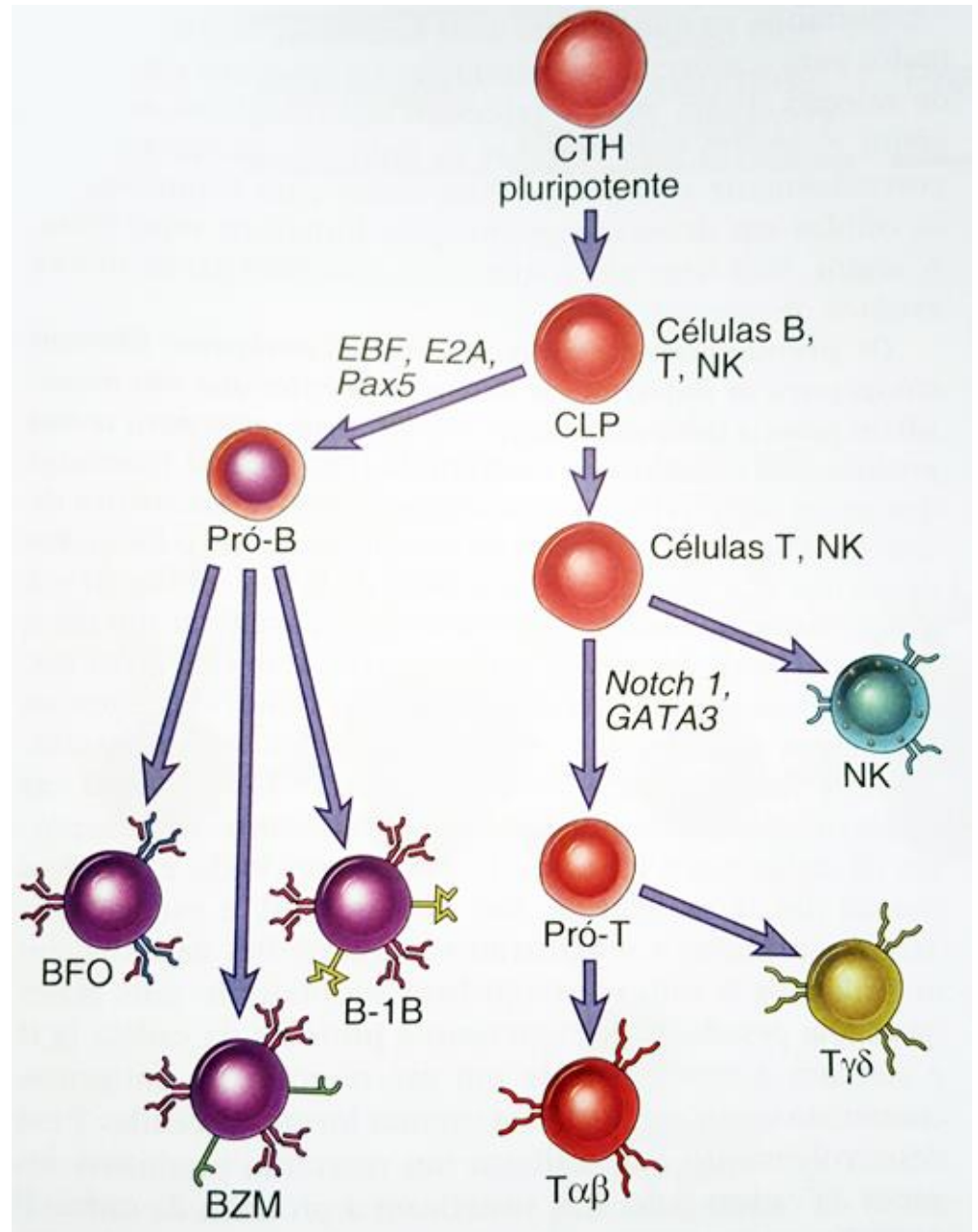
- Desenvolvimento dos linfócitos
  - Necessidade de desenvolvimento e maturação de linfócitos para produção de receptores de antígenos
  - Estímulos para proliferação celular
  - Estímulos para rearranjo gênico e comprometimento celular em determinada linhagem – B com produção de BCR ou T com produção de TCR.
  - Seleção celular: preservação das células que expressaram corretamente os receptores.



# Ontogenia de linfócito T

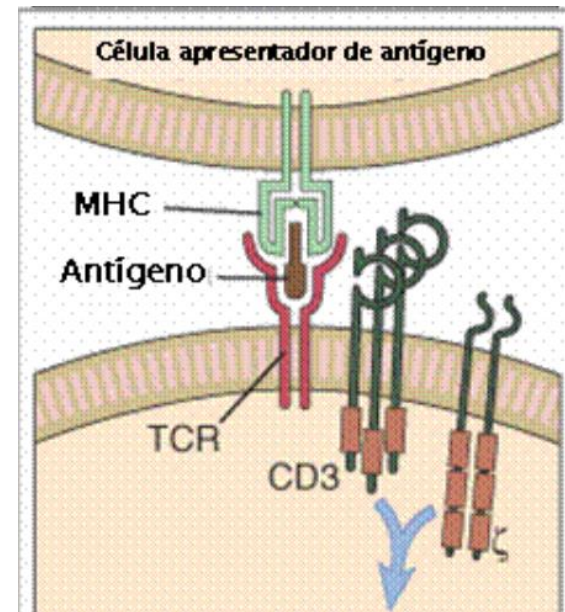
- Estímulos para diferenciação de LT:
  - Proteínas membranares da família Notch
  - Quando clivadas ativam determinados genes
  - Notch 1 e GATA 3 - fatores de transcrição que estimulam a diferenciação para LT
  - Estimulam a expressão do Pré TCR e para recombinação V(D)J.

# Ontogenia de Linfócitos



# Ontogenia de linfócito T

- TCR e CD3
  - TCR - Responsáveis pelo reconhecimento do MHC
  - CD3- responsável pela sinalização celular
- Produção do TCR  $\alpha\beta$  e TCR  $\gamma\delta$ 
  - Cromossomo 7 : cadeias  $\alpha$  e  $\delta$
  - Cromossomo 14: Cadeias  $\gamma$  e  $\beta$



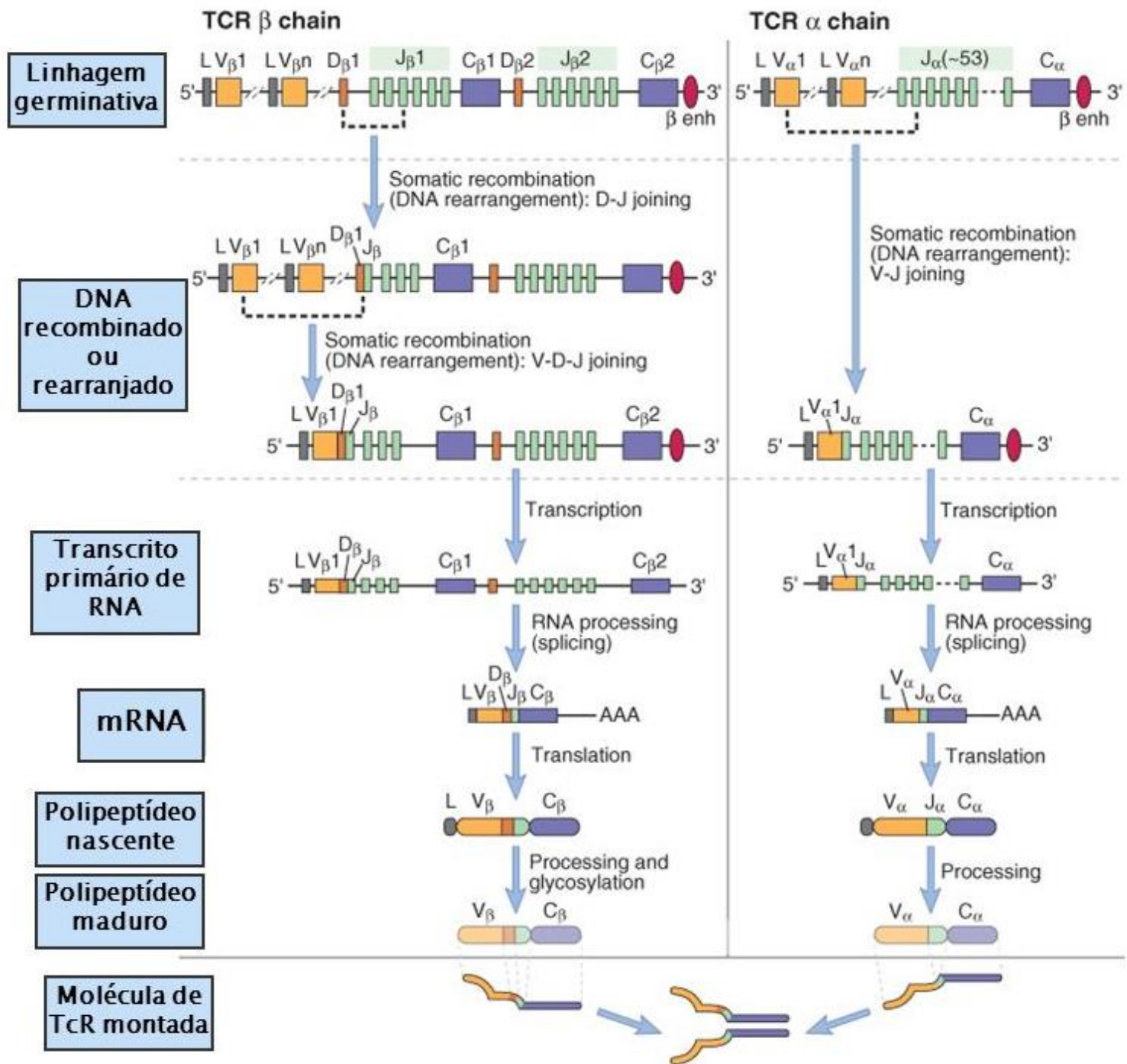
# Ontogenia de linfócito T

- Diversidade de receptores: porção variável
  - Rearranjo dos genes dos receptores de antígenos é responsável pela grande diversidade antigênica
  - Independe da presença do antígeno
  - As variações antigênicas são produzidas por rearranjos gênicos presentes nas Regiões variáveis (V), diversidade (D) junção (J) recombinação V(D)J.

# Ontogenia de linfócito T

- Diversidade combinatória:
  - Rearranjo V(D)J .
  - Número de combinações equivalentes ao número de segmentos gênicos
- Diversidade juncional:
  - remoção ao adição de nucleotídeos nas junções dos segmentos V e D, V e J promovidas pela TdT.





# Ontogenia de Linfócitos T

- Maturação

- Linfócitos produzidos na M.O (e fígado fetal) são encaminhados a região córtico-medular do timo para maturação
- Linfócitos imaturos – região cortical – timócitos
- Córtex: Expressão de TCR  $\alpha\beta$  e TCR  $\gamma\delta$
- Maturação dependente de estímulos e contato com células epiteliais corticais, células epiteliais medulares e células dendríticas que expressam MHC I e II e liberam IL7.

# Ontogenia de Linfócitos T

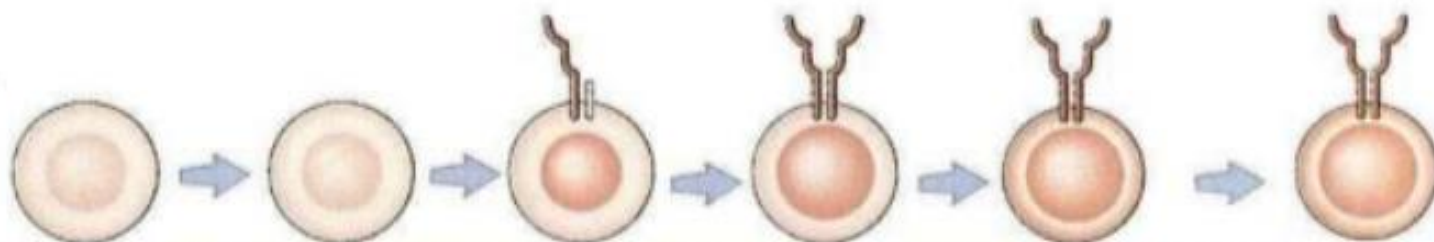
- Maturação
  - Progenitores linfócitos expressam receptores para garantirem a migração pelo parênquima tímico
    - CCR9 para quimiocinas CCL25 produzidas no córtex do timo
    - CCR7 para quimiocinas CCL21 e CCL19 produzidas por células da medula

# Ontogenia de Linfócitos T

- Linfócitos T duplo negativos ou Pró T
  - Os progenitores imaturos provenientes da medula óssea entram na junção córtico-medular.
  - Migração para a zona subcapsular no córtex e passam a ser chamados de duplo-negativos
  - Ausência de expressão de TCR, CD3, CD4 e CD8.
  - Expressão do gene Rag 1 e 2 : proteínas que auxiliam o rearranjo gênico e produção da cadeia  $\beta$  do TCR.

# Ontogenia de Linfócitos T

- Linfócito Pré-T
  - Expressão do Receptor Pré TCR
  - Recombinação gênica
  - Expressão da cadeia  $\beta$  do TCR na membrana do LT
  - Associação a Pré  $\alpha$  (provisória)
  - Início da recombinação da cadeia  $\alpha$
  - O Pré-TCR transduz sinais que estimulam a expressão de CD4 e CD8



Estágio de maturação	Célula-tronco	Pró-T	Pré-T	Duplo-positivo	Positividade única (célula T imatura)	Célula T virgem madura
Proliferação	+++		+++			
Expressão de RAG		+++		+++		
Expressão de TdT		+++				
RNA, DNA do TCR	DNA não recombinado (linhagem germinativa)	DNA não recombinado (linhagem germinativa)	Gene da cadeia $\beta$ recombinado [V(D)J-C]; mRNA cadeia $\beta$	Genes da cadeia $\beta$ e $\alpha$ recombinados [V(D)J-C]; mRNA das cadeia $\beta$ e $\alpha$	Genes da cadeia $\beta$ e $\alpha$ recombinados [V(D)J-C]; mRNA das cadeia $\beta$ e $\alpha$	Genes da cadeia $\beta$ e $\alpha$ recombinados [V(D)J-C]; mRNA das cadeia $\beta$ e $\alpha$
Expressão do TCR	Nenhuma	Nenhuma	Receptor pré-T (cadeia pré-T $\alpha/\beta$ )	TCR $\alpha\beta$ de membrana	TCR $\alpha\beta$ de membrana	TCR $\alpha\beta$ 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>baixo</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> ou CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> TCR/CD3 <sup>alto</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> or CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup> TCR/CD3 <sup>alto</sup>
Sítio anatômico	Medula óssea	Timo				Periferia
Resposta do antígeno	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma	Seleção positiva e negativa	Seleção negativa	Ativação (proliferação e diferenciação)

# Ontogenia de Linfócitos T

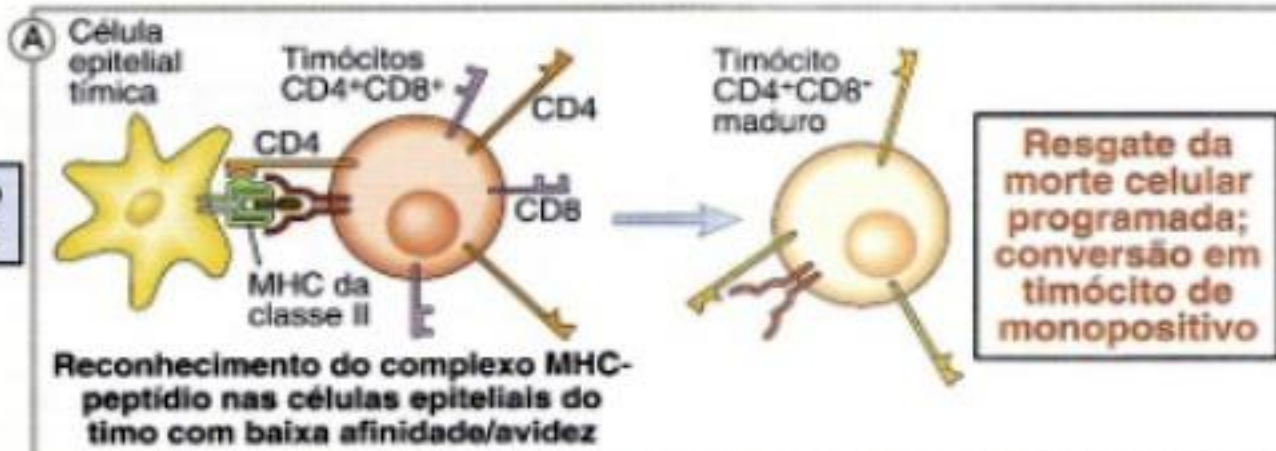
- Linfócito Duplo positivo
  - Expressão do TCR  $\alpha\beta$
  - Expressão de CD4 e CD8
  - Interação com células epiteliais que apresentam peptídeos próprios através da molécula de MHC I e II

# Ontogenia de Linfócitos T

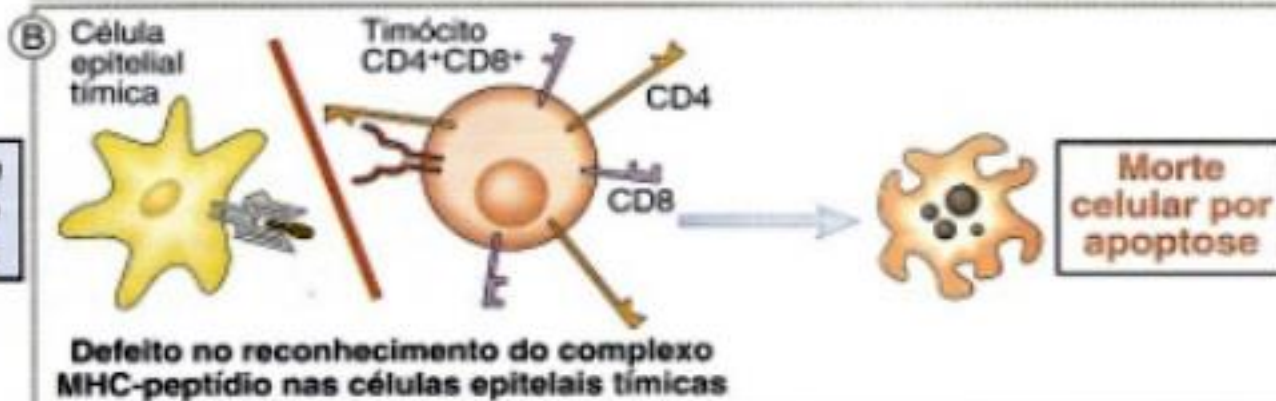
- Seleção positiva: Interação com baixa afinidade desencadeia a sobrevivência da célula para término da maturação.
- Seleção negativa: A alta afinidade entre antígenos próprios expressos pelo MHC com TCR sofrem apoptose ou diferenciam-se em T Reg.



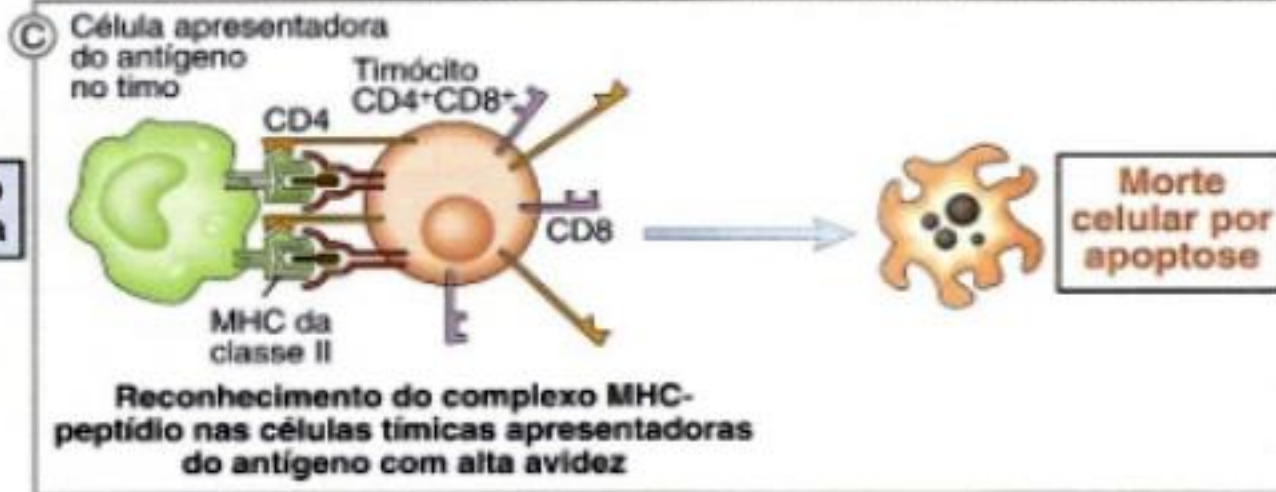
Seleção positiva



Falta de seleção positiva



Seleção negativa



# Ontogenia de Linfócitos T

- Célula T imatura - Linfócito simples positivo
  - Linfócitos que reconhecem moléculas de MHC de classe I se tornam células positivas para o receptor CD8<sup>+</sup>
  - Linfócitos que reconhecem as moléculas MHC de classe II se tornam células T CD4<sup>+</sup>
  - Expressão CD3 e  $\zeta$

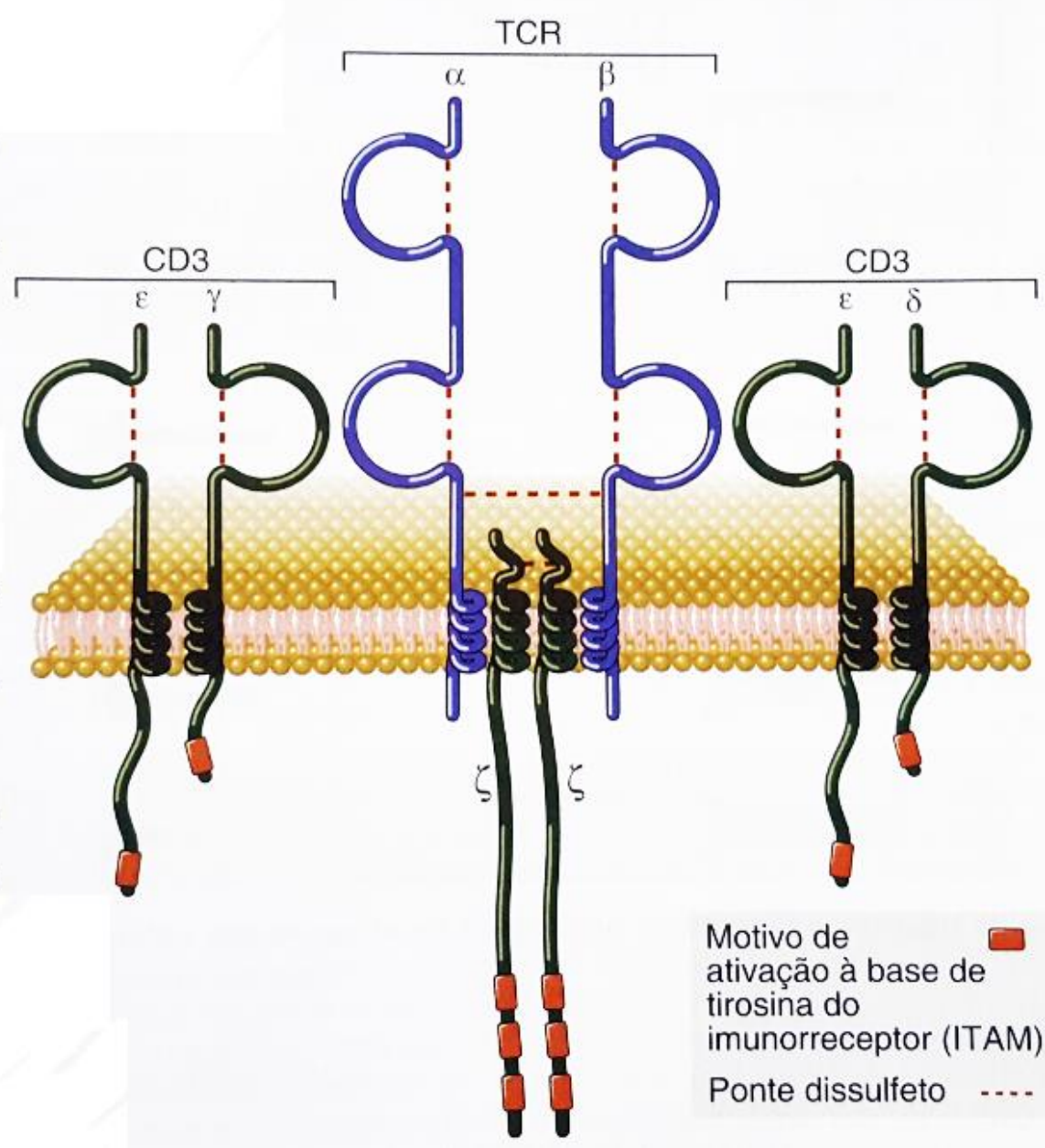
# Ontogenia de Linfócitos T

- Célula T madura/virgem/ *naive*
  - Migração para o sangue periférico e órgãos linfoides secundários

Espaço extracelular

Membrana plasmática

Citoplasma



Motivo de ativação à base de tirosina do imunorreceptor (ITAM)

Ponte dissulfeto



# Ontogenia de Linfócito B

Alessandra Barone

# Ontogenia de linfócito B

- Produção celular no período fetal
  - Fígado
- Produção celular após nascimento
  - Medula Óssea
  - As células são liberadas para circulação sanguínea e migram para o baço

# Ontogenia de linfócito B

- Estímulos para diferenciação de Linfócito B:
  - Os fatores de transcrição EBF, E2A e PAX5
  - Codificam a expressão do gene para produção da proteína Rag-1 e Rag-2, cadeias leves e proteínas Ig $\alpha$  e Ig $\beta$

# Ontogenia de linfócito B

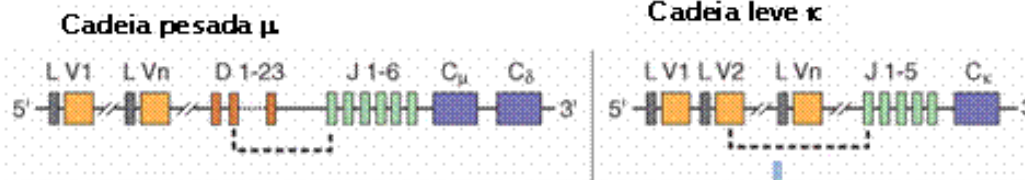
- BCR
  - Reconhecimentos de antígenos apresentados por MHC e proteínas solúveis.
  - BCR: imunoglobulinas de membrana IgM, IgD e duas cadeias peptídicas, Iga (CD79a) e Igb (CD79b), responsáveis pelo início à sinalização intracelular após o encontro com o antígeno



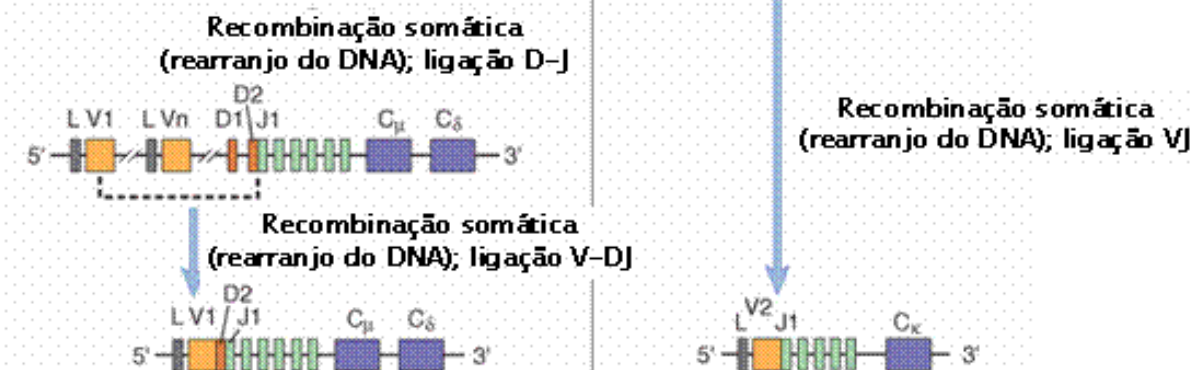
# Ontogenia de linfócito B

- Linfócito Pró B
  - Expressam CD19 e CD10
  - Início da expressão da Rag
  - Início da recombinação da cadeia pesada VDJ.
  - Expressão intensa da enzima Tdt

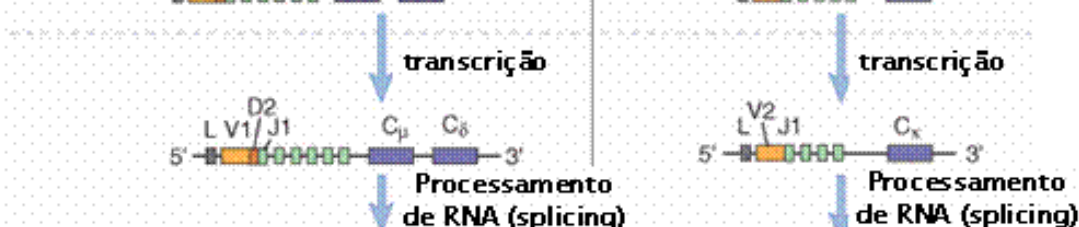
**Linhagem germinativa**



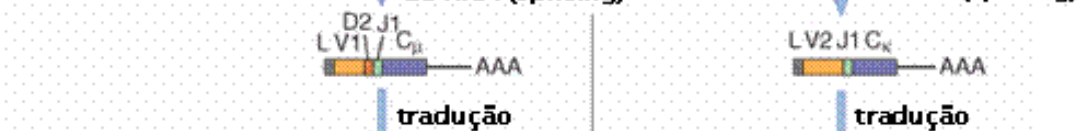
**DNA recombinado**



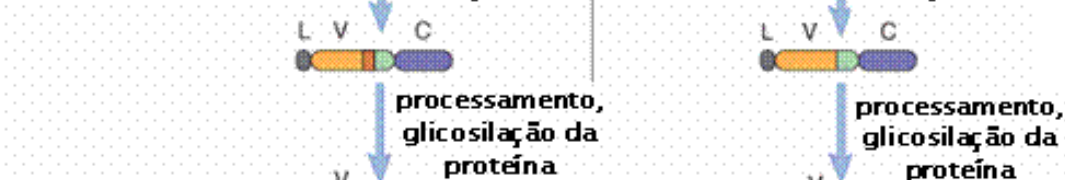
**Transcrito primário de RNA**



**mRNA**



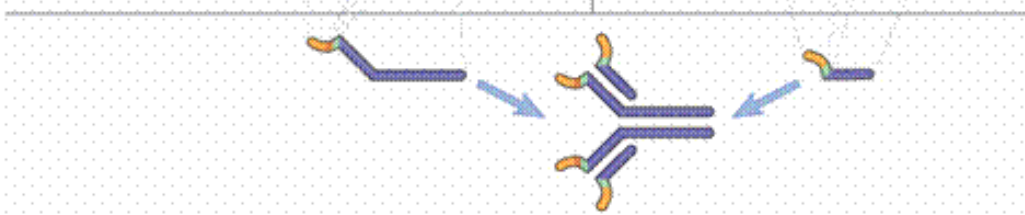
**Polipeptídeo nascente**



**Polipeptídeo maduro**



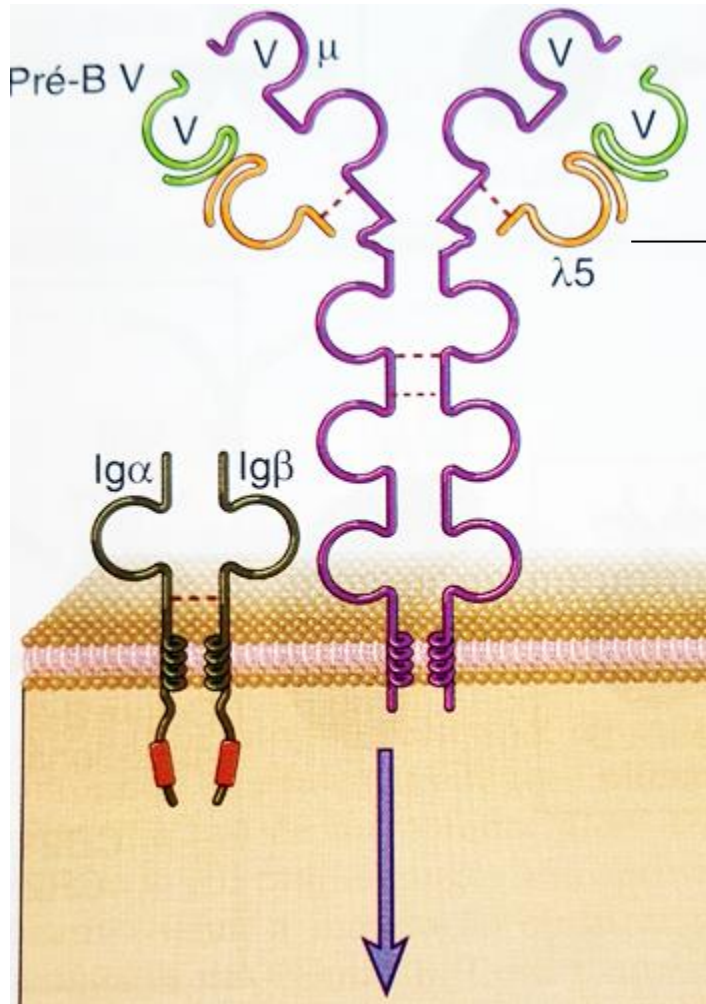
**Molécula de Ig montada**



# Ontogenia de linfócito B

- Linfócito Pré-B
  - Inserção da cadeia pesada do tipo  $\mu$  (IgM) e produção do pré-BCR
  - Associação a cadeias leves substitutas
  - Seleção positiva e negativa
  - Interação com a tirosinaquinase de Bruton
    - Importantes para proliferação e maturação

# Ontogenia de linfócito B

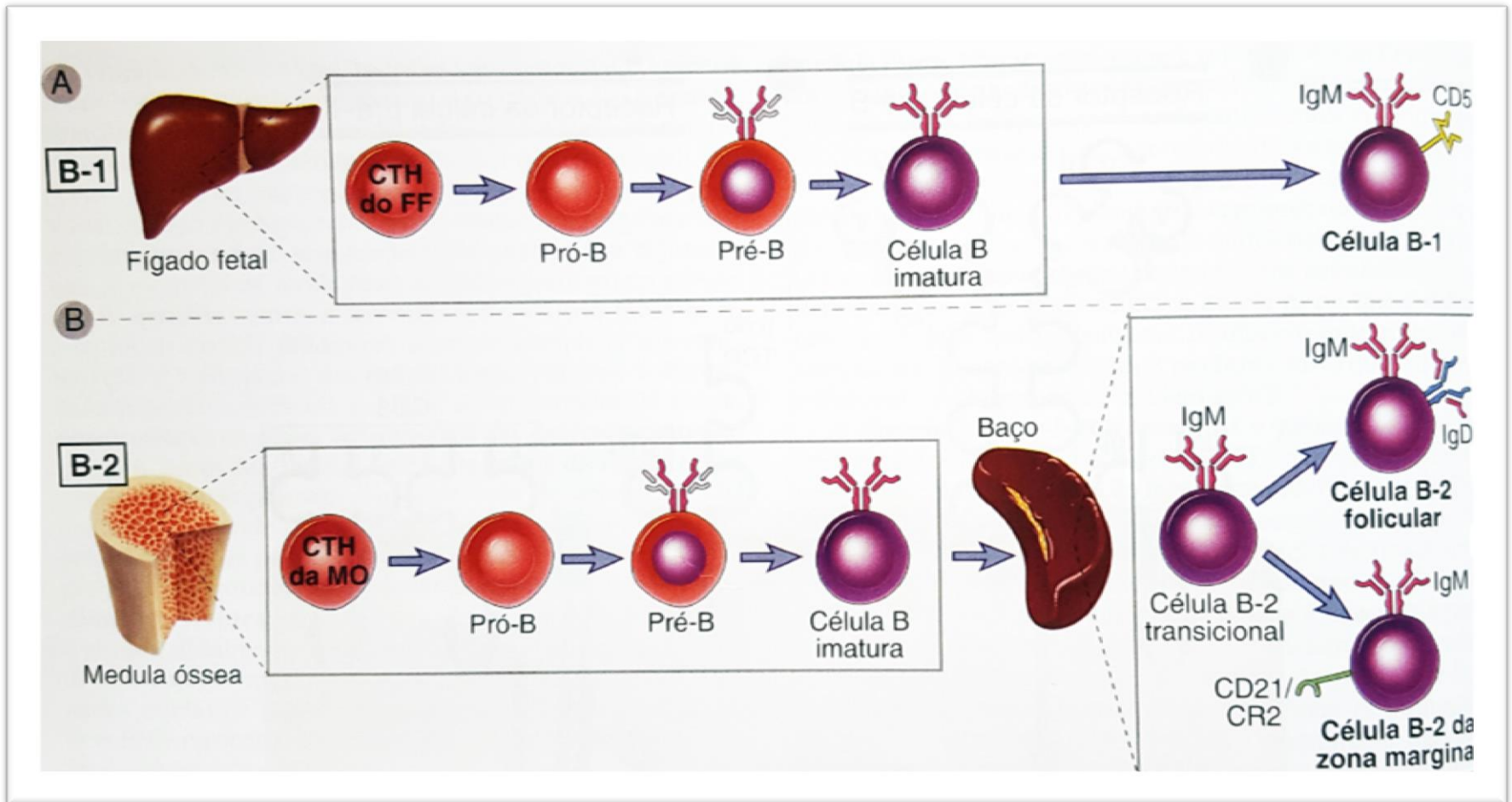


Presença da cadeia leve substituta

# Ontogenia de linfócito B

- Célula B imatura
  - Rearranjo gênico VJ para produção da cadeia leve  $\kappa$  ou  $\lambda$
  - Associação a cadeia pesada  $\mu$  para produção da IgM completa
  - Migração para o baço

# Ontogenia de linfócito B



# Ontogenia de linfócito B

- Célula B madura – órgãos linfóides secundários
  - Célula B1- caracterizadas pela rápida produção de anticorpos IgM, mas com diversidade limitada.
    - encontradas principalmente na cavidade pleural, peritoneal e em menor quantidade no baço
  - Célula B2 Folicular: expressam IgD além de IgM.  
Capacidade de recirculação e maior competência funcional
  - Célula B2 Marginal: localizadas na região marginal do baço e gânglios linfáticos. Resposta rápida a microrganismos transportados pelo sangue. Expressam IgM e CD21

