

Asignatura Inmunología

Seminario 4

Linfocitos T:

Ontogenia, activación, perfiles en la respuesta T y
memoria inmunológica

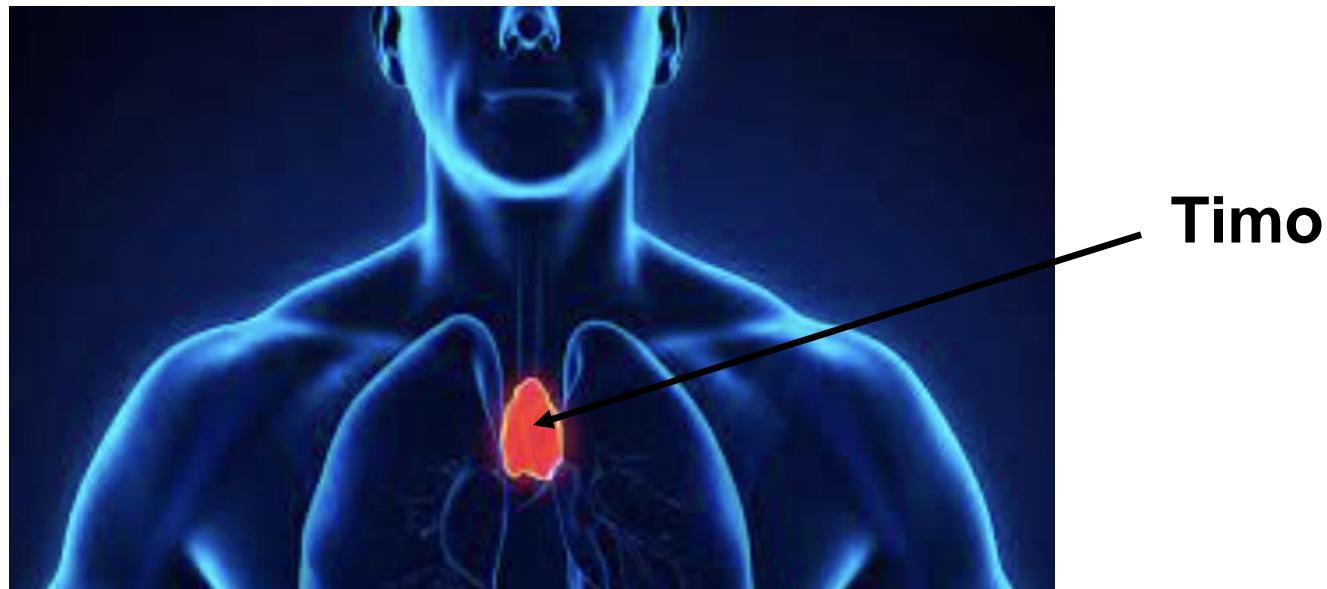
Año: 2024



*Universidad de Buenos Aires
Facultad de Medicina*

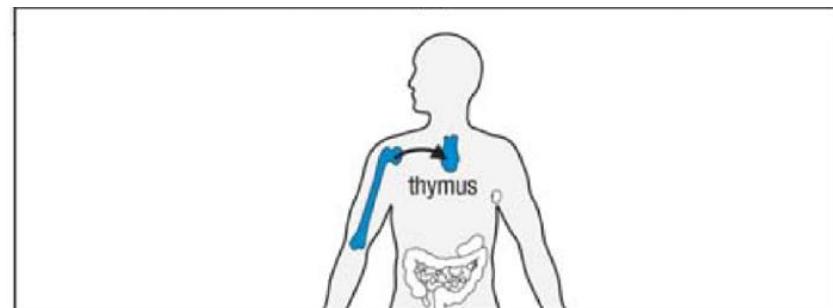
Todos los linfocitos T del organismo surgen de un precursor común (precursor linfoide) presente en médula ósea.

Algunos de estos precursores migran al timo donde proliferan y completan su desarrollo hasta transformarse en linfocitos maduros (linfocitos vírgenes o naive) que luego acceden a la circulación.

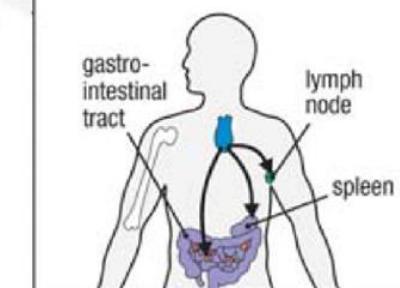


Ciclo de vida de los linfocitos T

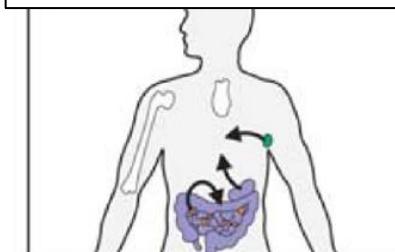
Los progenitores T migran desde la médula ósea hacia el timo donde completarán su desarrollo, que involucra el rearreglo de los genes del TCR, la selección positiva y negativa (ontogenia de los linfocitos T).



Los linfocitos T maduros (vírgenes) abandonan el timo y circulan entre la sangre y los órganos linfáticos secundarios.



Una vez activados por el antígeno, los linfocitos T proliferan y se diferencian a efectores, que ejercerán funciones en tejidos periféricos o en el OLS.

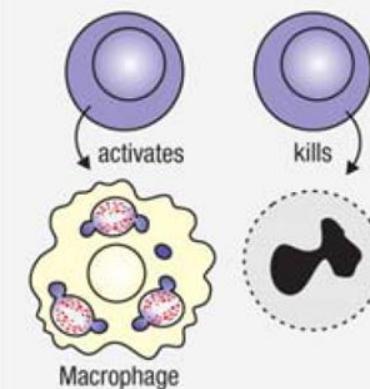
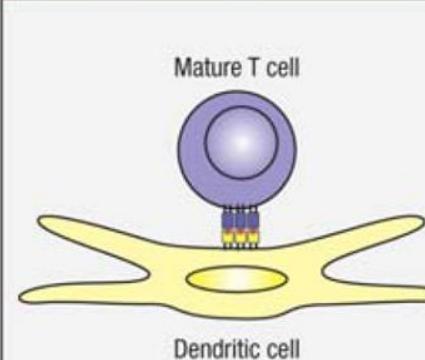
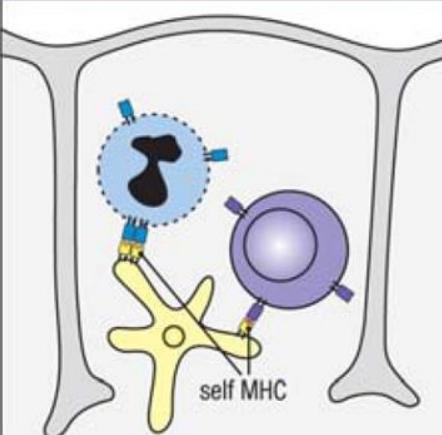
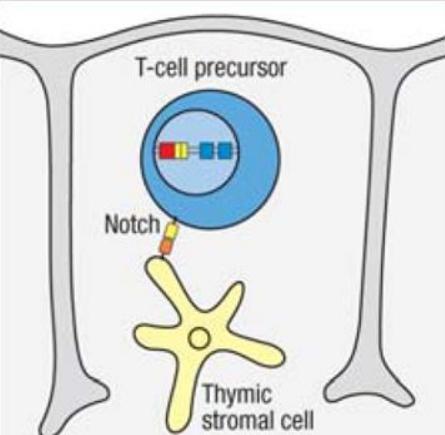


Los timocitos que arriban al timo, inician el proceso de rearreglo de los genes que codifican al TCR.

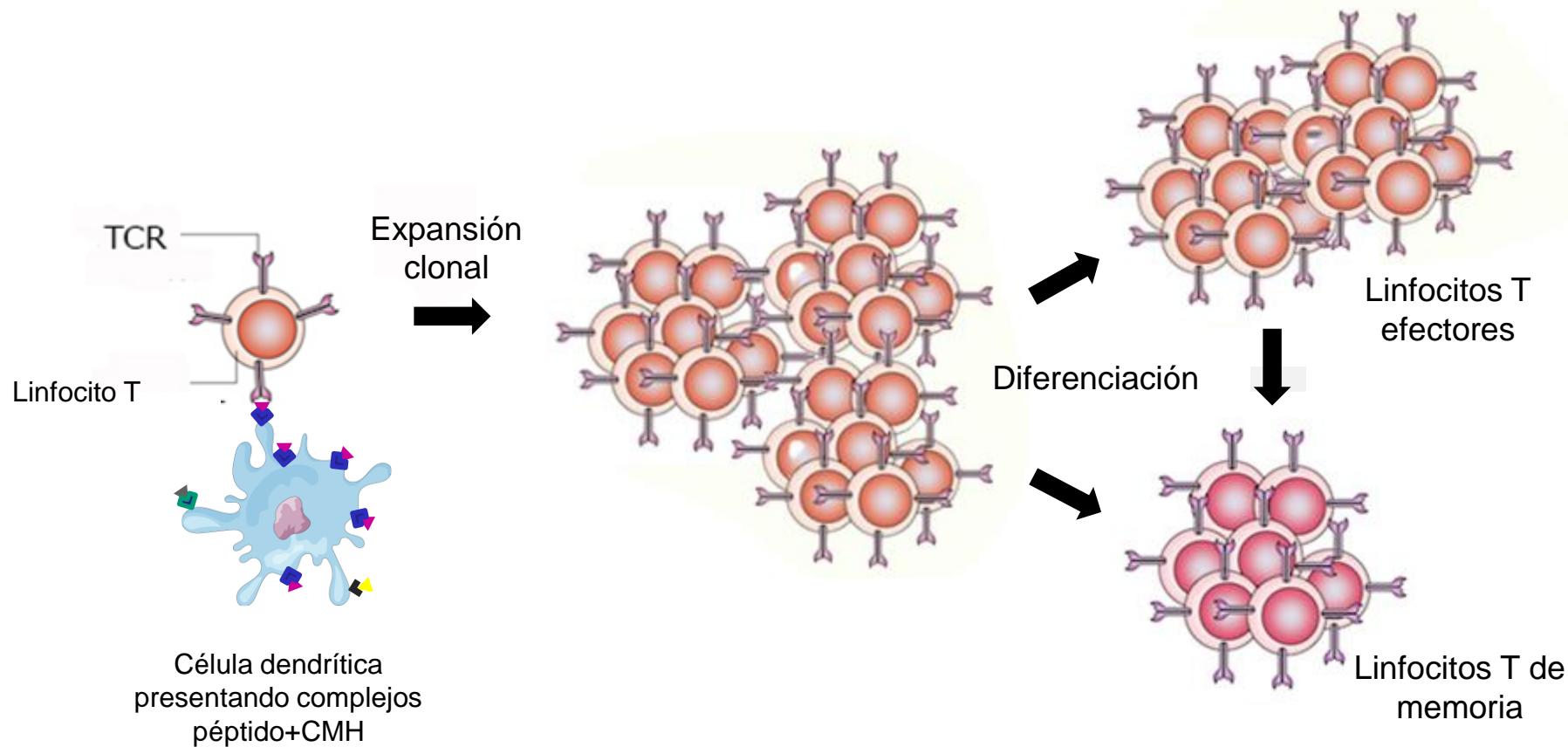
En el timo, las células T inmaduras sufren los procesos de selección positiva y negativa.

Los linfocitos T vírgenes se activan en los órganos linfáticos secundarios.

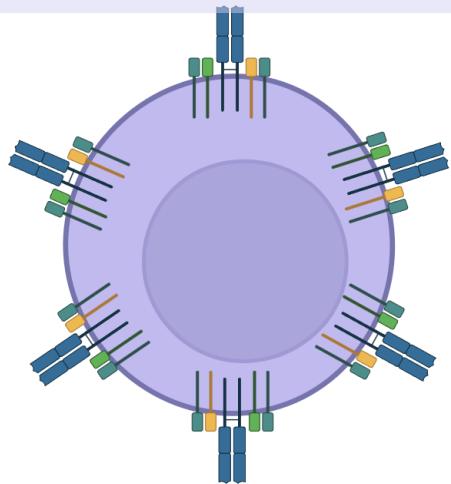
La mayor parte de los linfocitos T efectores cumplen sus funciones en tejidos periféricos.



El linfocito virgen, al ser activado por el antígeno en un órgano linfático secundario, se divide de forma clonal (expansión clonal). Las células hijas (clon) se diferencian a linfocitos T efectores y a linfocitos T de memoria.



Todos los TCR que porta un linfocito en su superficie tienen la misma especificidad



Creado con
BioRender

Linfocito T maduro con TCR asociados al complejo CD3

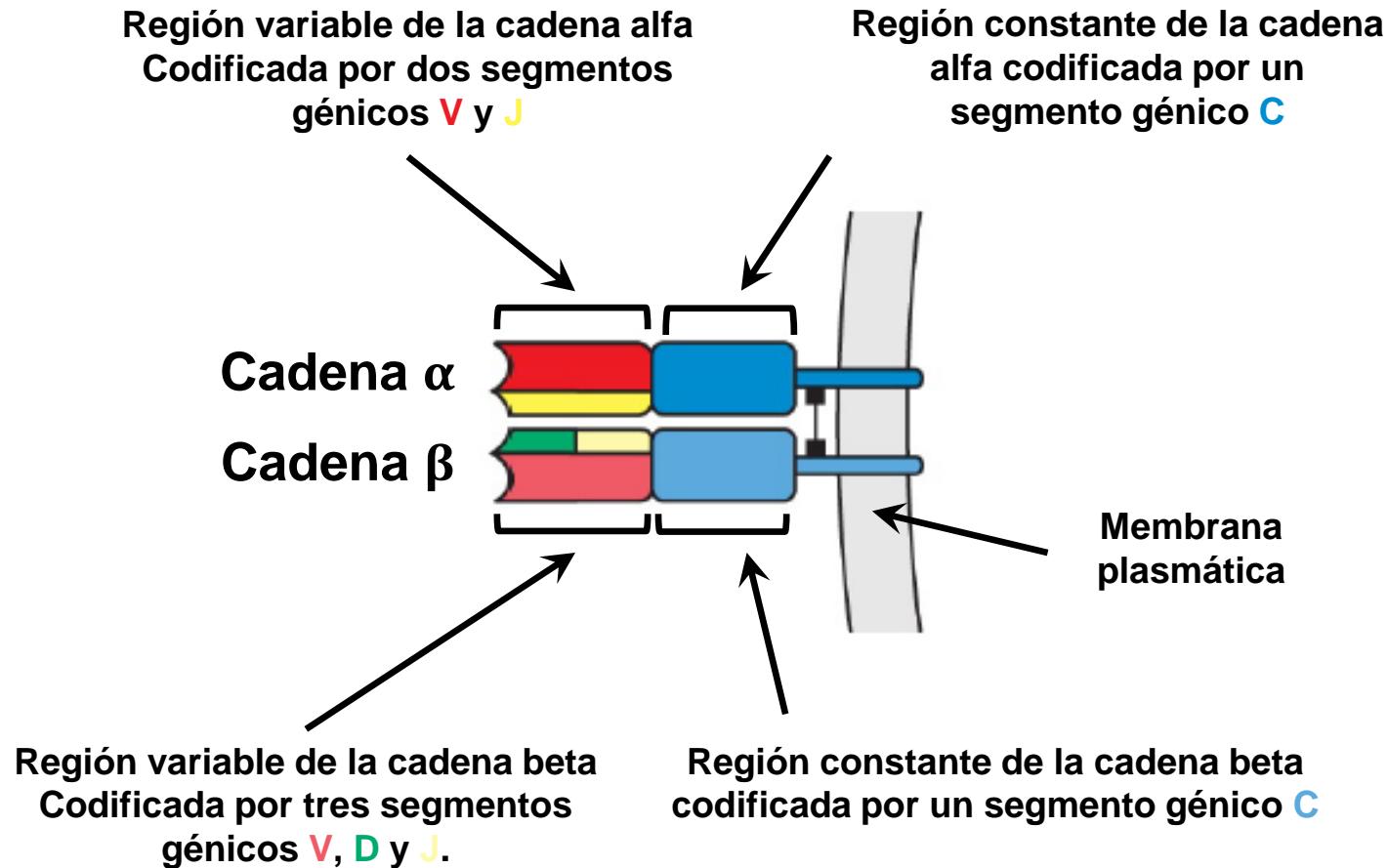


Repertorio T

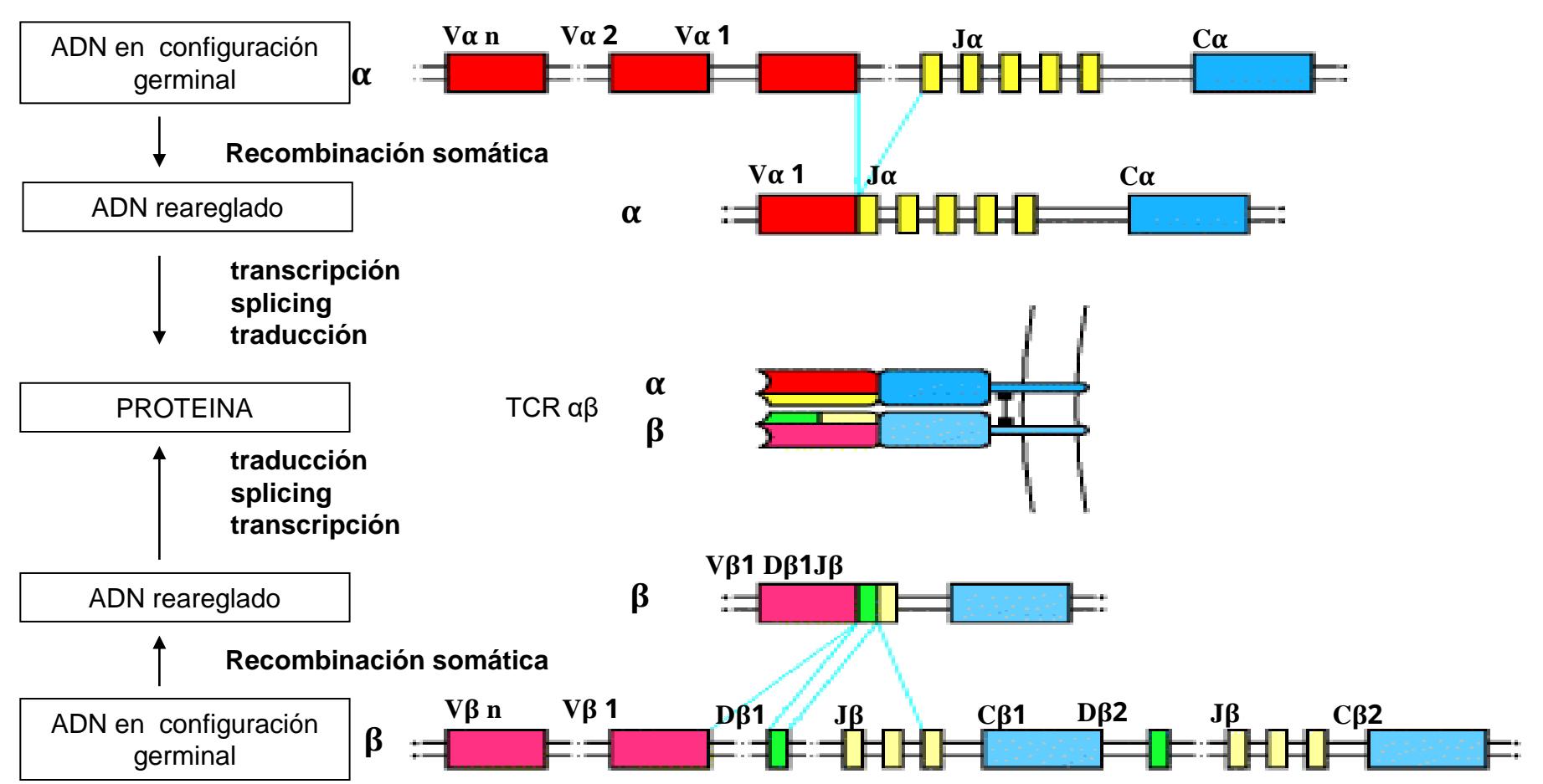
- **Cada linfocito T exhibe en su superficie muchas moléculas de TCR, pero todas presentan la misma especificidad.**
- **Distintos linfocitos presentan TCR con diferentes especificidades.**
- **El conjunto de especificidades de todos los linfocitos T de un individuo constituye su repertorio T.**

**¿Cómo está codificada la información genética
para generar tal diversidad de TCRs?**

Receptor antigénico del linfocito T (TCR)

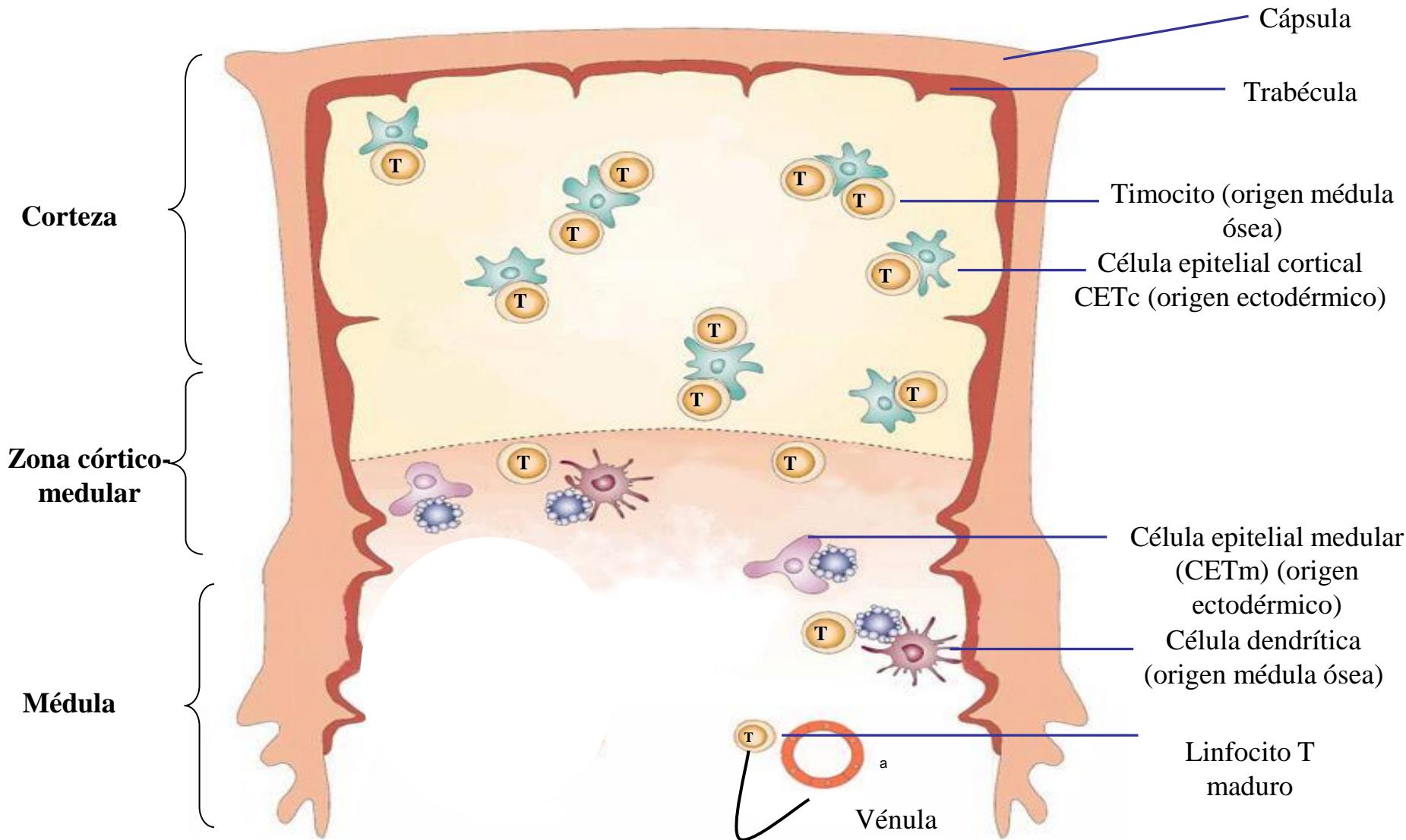


Los linfocitos reordenan los genes que codifican a su receptor antigénico (TCR) durante la ontogenia en el timo mediante un proceso de recombinación somática.



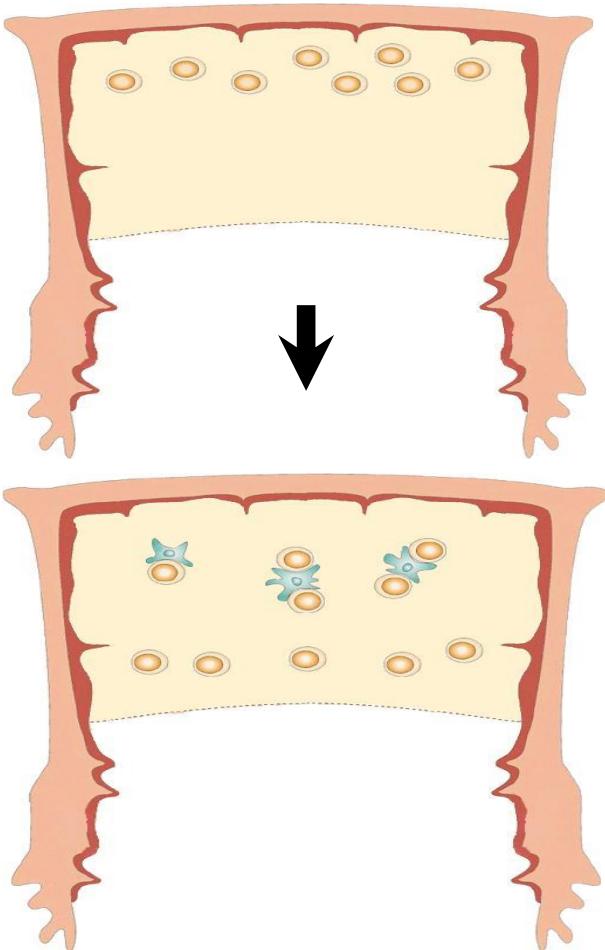
Recombinasa V(D)J: es el complejo de enzimas que lleva a cabo la recombinación somática. Los componentes linfoides específicos de la recombinasa son RAG-1 y RAG-2. Los genes que codifican para **RAG1** y **RAG2** son esenciales para la recombinación V(D)J y se expresan en los linfocitos en desarrollo, sólo mientras los linfocitos participan en el ensamblaje de sus receptores antigenicos.

Estructura de un lóbulo tímico



El timo está constituido por numerosos lóbulos

Ontogenia T

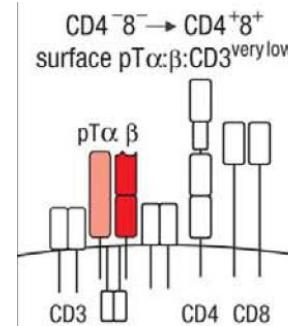


Estadio
Doble
Negativo
(DN)

Estadio
Doble
Positivo
(DP)

Timocitos CD4-CD8- (DN). Alta proliferación celular. Se define el linaje T $\alpha\beta$ o T $\gamma\delta$.

Generación del TCR $\alpha\beta$: El gen de cadena β es el primero que se re-arregla y expresa. Luego, la cadena β sintetizada se asocia con una cadena α sustituta y ambas se expresan en la membrana del timocito constituyendo el pre-TCR. Las células sufren unos ciclos de proliferación. Además, se detienen otros rearreglos β lo que garantiza la exclusión alélica de la cadena β . Luego se induce la expresión de los Correceptores CD4 y CD8 (estadio DP).



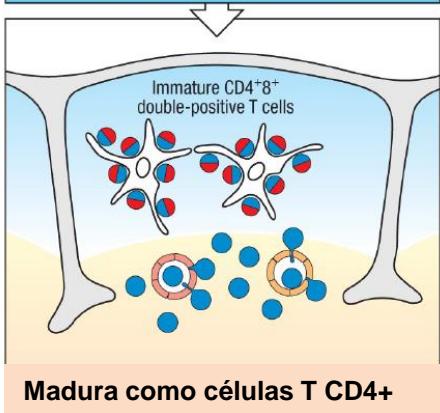
SELECCIÓN TÍMICA
(Inducción de tolerancia central T)

Luego, comienzan los rearreglos de la cadena α del TCR. Posteriormente se asocian las cadenas α y β re-arregladas constituyendo el TCR.

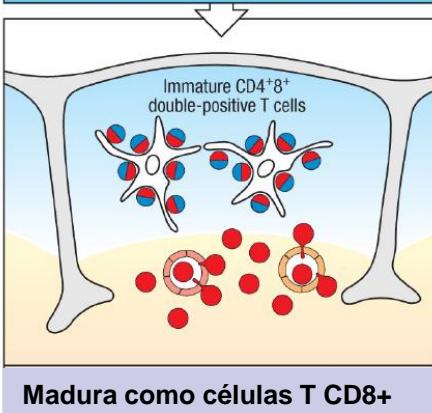
Selección tímica (Inducción de tolerancia central T)

1) **Selección positiva:** Los timocitos doble positivos cuyos TCR reconocen con baja afinidad péptidos (propios) asociados a las CMH sobre las CETc sobreviven. Es decir, son seleccionados positivamente. Aquellos que no reconocen péptidos+CMH o lo hacen con muy baja afinidad, mueren por apoptosis (**muerte por abandono**).

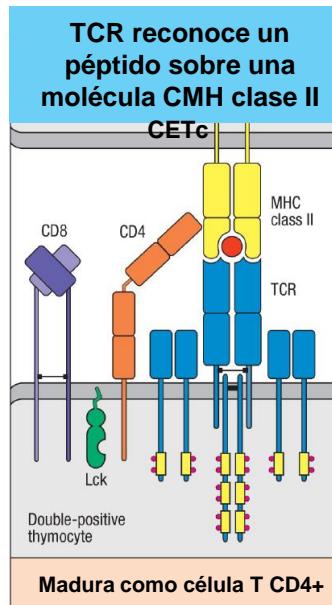
Timocitos doble positivos que sobre CETc reconocen con baja afinidad un péptido sobre una molécula CMH clase II son seleccionados positivamente



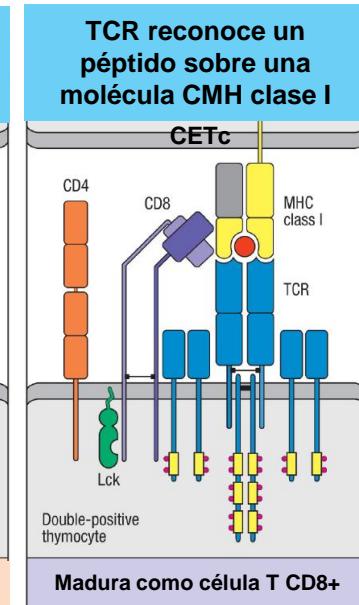
Timocitos doble positivos que sobre CETc reconocen con baja afinidad un péptido sobre una molécula CMH clase I son seleccionados positivamente



TCR reconoce un péptido sobre una molécula CMH clase II

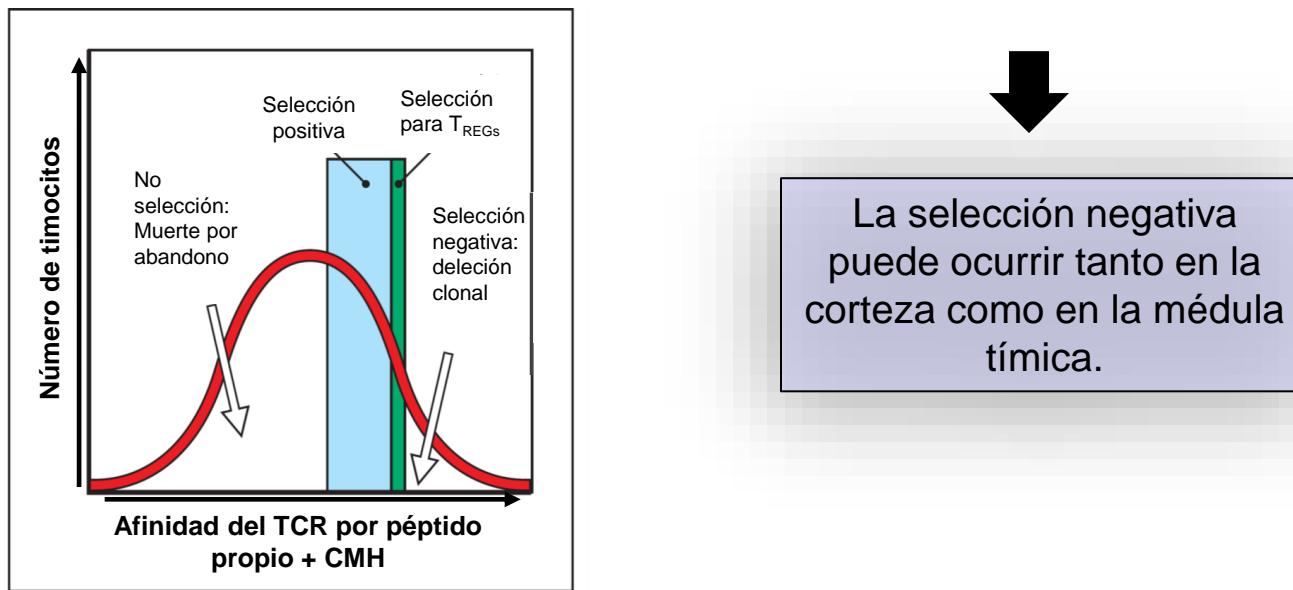


TCR reconoce un péptido sobre una molécula CMH clase I



Selección tímica (Inducción de tolerancia central T)

- 2) **Selección negativa:** Tanto timocitos doble positivos cuyos TCR reconocen con alta afinidad péptidos (propios) asociados a las CMH sobre las CETc, como timocitos simple positivos que reconocen con alta afinidad péptidos (propios) asociados a las CMH sobre células del epitelio tímico medular (CETm) o sobre células dendríticas mueren **por apoptosis** (son seleccionados negativamente). Durante este proceso, mueren por apoptosis la mayoría de los timocitos autorreactivos. Lo que define el destino de los timocitos es la intensidad de la señal que reciben a través del TCR.

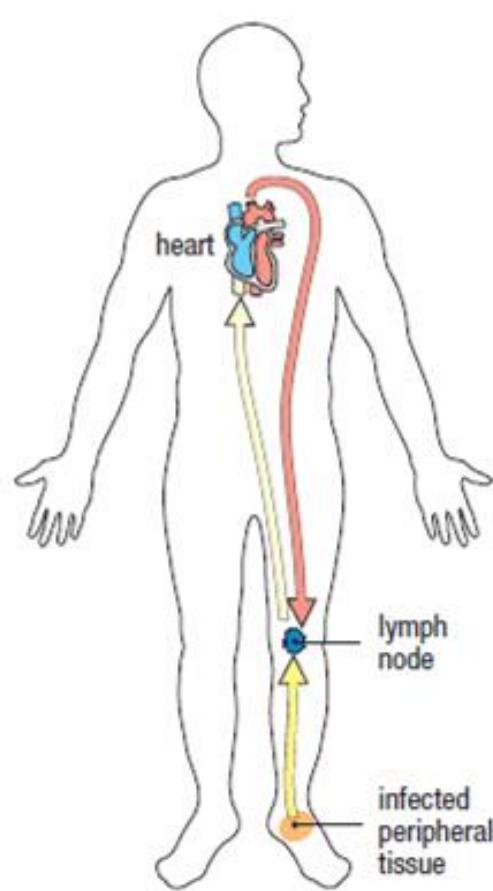


Para convertirse en linfocitos vírgenes y ser liberados a la circulación, los timocitos deben ser **seleccionados positivamente y luego superar la selección negativa** (sobrevivir a ese proceso). Los linfocitos T que abandonan el timo, emigran como células T maduras y vírgenes, simples positivas (CD4 o CD8) y autorrestringentes (capaces de reconocer péptidos en el marco de las CMH que expresa el individuo).

Órganos linfáticos secundarios: el sitio de encuentro de los linfocitos maduros vírgenes con el antígeno

Linfocitos y linfa retornan a la sangre vía ducto torácico

Linfocitos vírgenes ingresan a los ganglios linfáticos desde el torrente sanguíneo



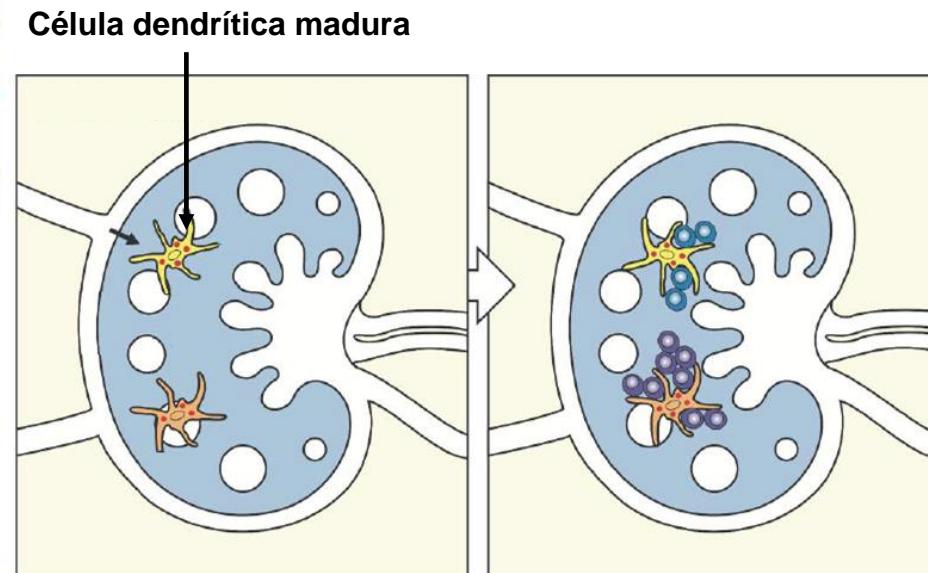
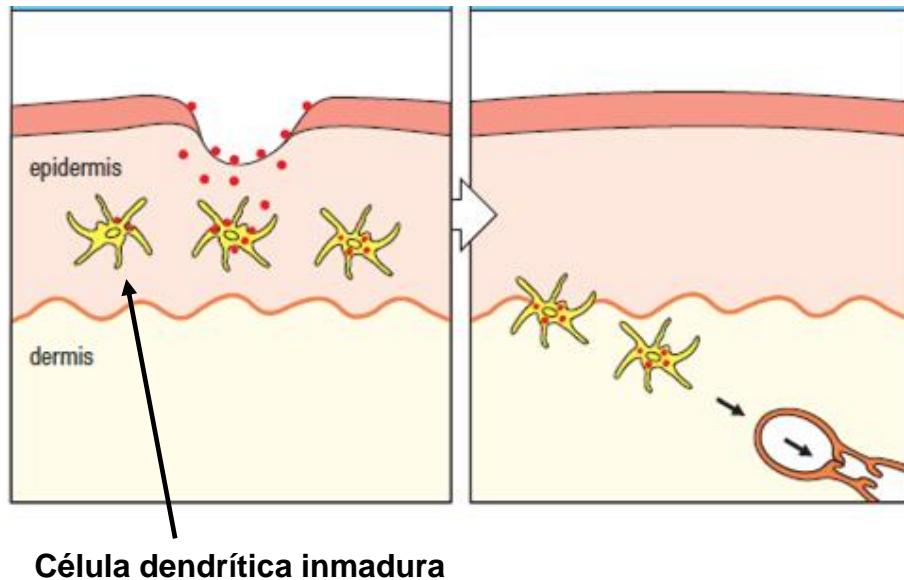
Si en el OLS, el linfocito virgen encuentra sobre una CD al péptido+CMH para el cual es específico, se podrá activar

Los antígenos presentes en el foco infeccioso llegan al ganglio linfático a través de los vasos linfáticos

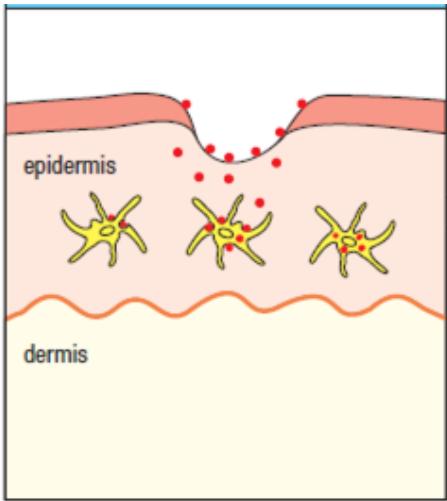
Los linfocitos vírgenes se extravasan en los OLS porque a ellos migran las CD transportando antígenos desde el tejido infectado

En su tránsito desde el tejido infectado al OLS, las CD sufren un proceso de maduración.

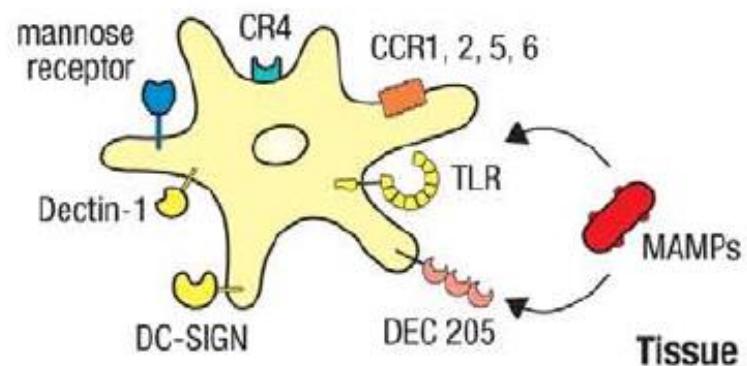
Este proceso demora entre 24 y 48 horas.



Maduración de las células dendríticas

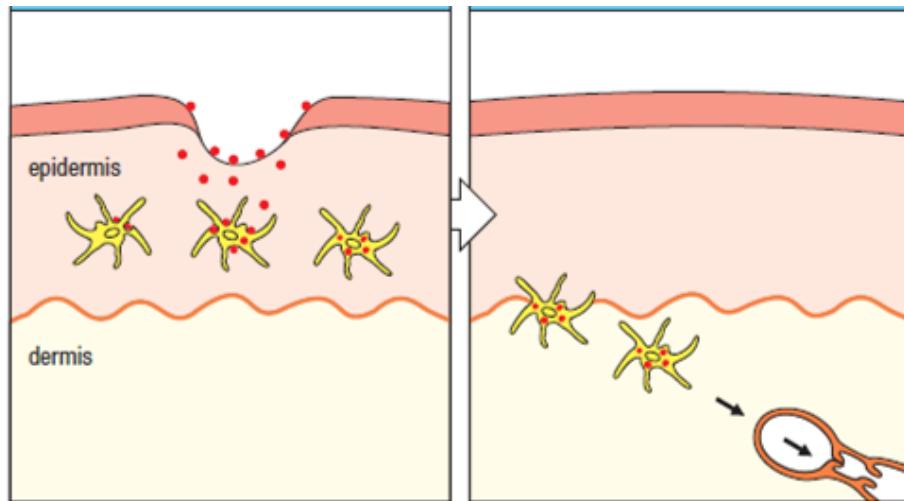


1. Las células dendríticas presentes en los tejidos periféricos se activan fundamentalmente por el reconocimiento de PAMPs y DAMPs. Las citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 β y TNF- α pueden aumentar esta activación.

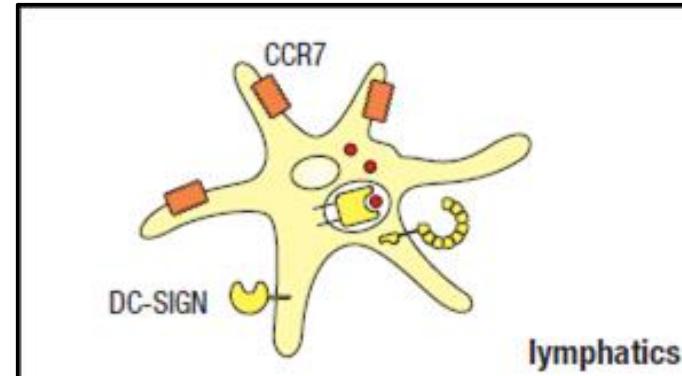


**Inicialmente llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), estas moléculas son componentes generales de microorganismos tanto patógenos como no patógenos, por lo que actualmente se los suele denominar patrones moleculares asociados a microbios o MAMP.

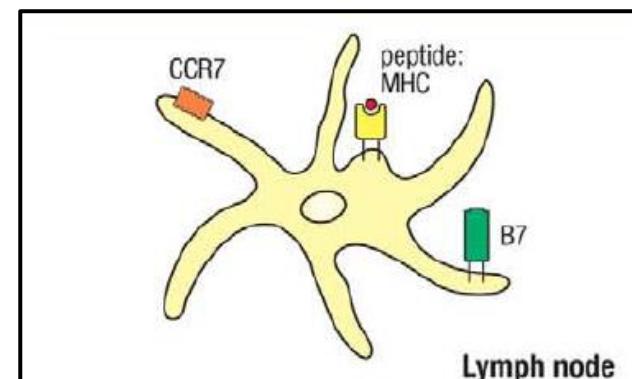
Maduración de las células dendríticas



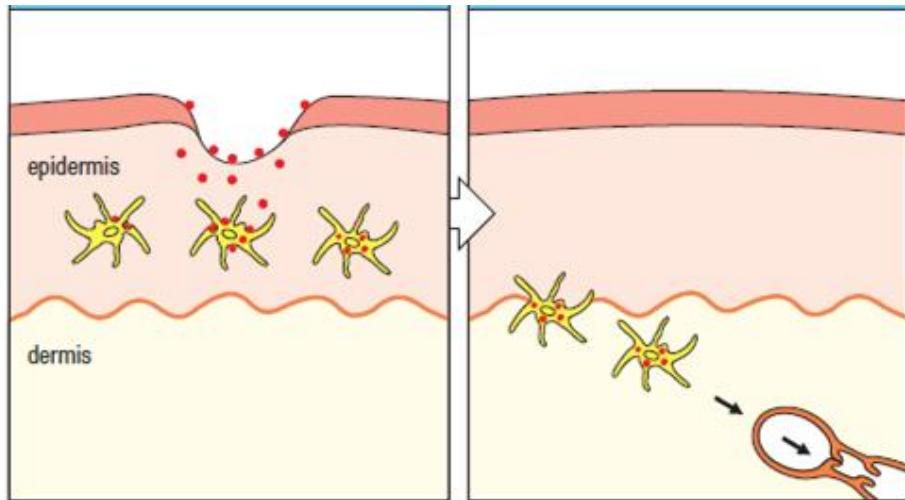
2. El reconocimiento de PAMPs y DAMPs induce la expresión de CCR7 y reduce la expresión de E-cadherina, lo que permite su acceso a los vasos linfáticos aferentes. Además, incrementa su capacidad de procesamiento antigenico.



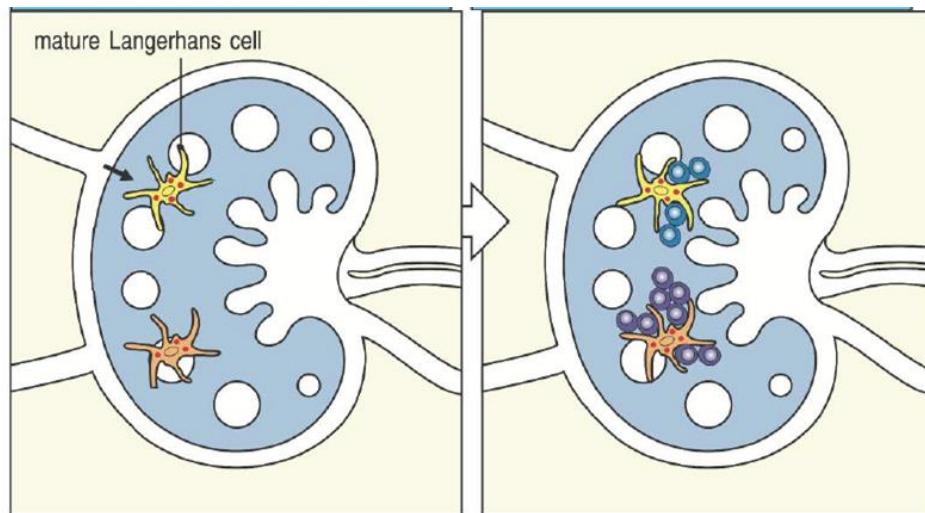
3. La célula dendrítica migra por vía linfática hacia el órgano linfático secundario drenante (ejemplo, ganglio linfático). En su tránsito, incrementa la expresión de moléculas del CMH y moléculas coestimulatorias en la superficie celular; y disminuye su capacidad de procesamiento.



Maduración de las células dendríticas



4. Las células dendríticas acceden desde los vasos linfáticos aferentes al seno subcapsular del ganglio y desde allí son guiadas un gradiente de CCL19 y CCL21 sobre los CRF al área paracortical y se ubican próximas a las HEV.

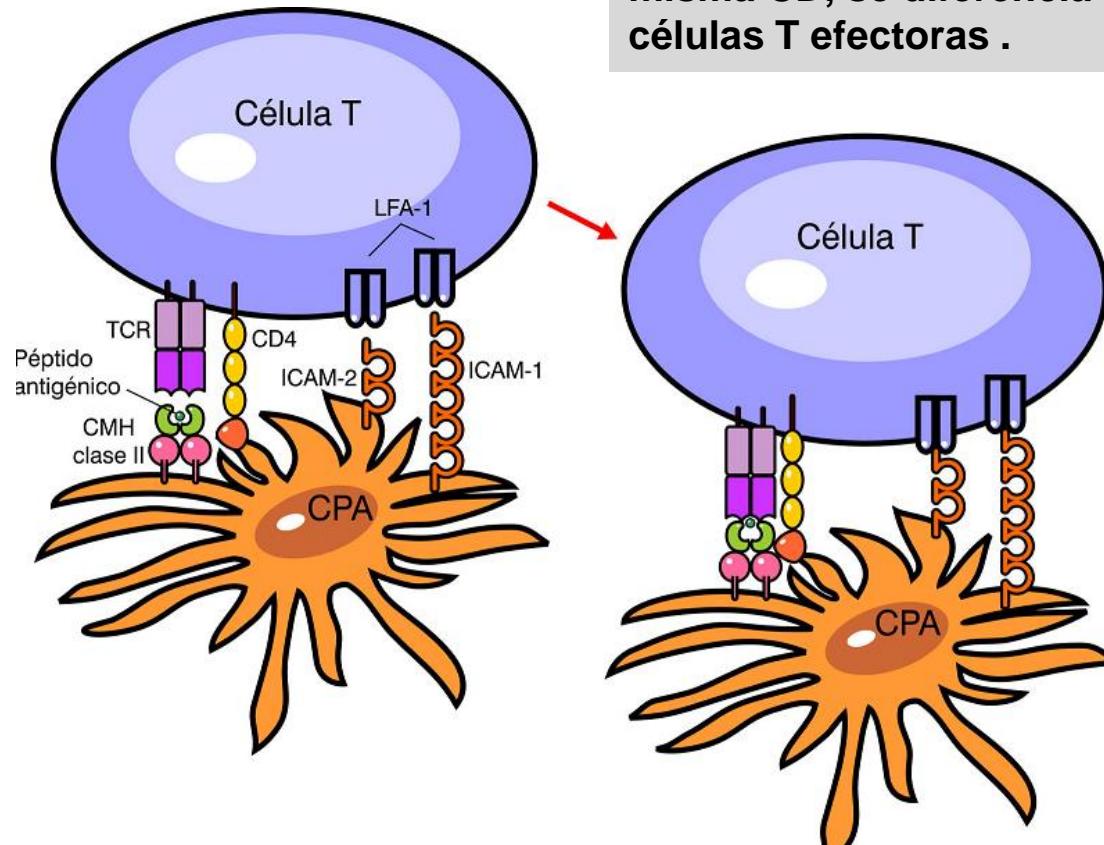


5. Las células dendríticas presentes en el área T (paracortical) de los OLS presentan antígenos a los linfocitos T y en condiciones óptimas pueden inducir su activación.

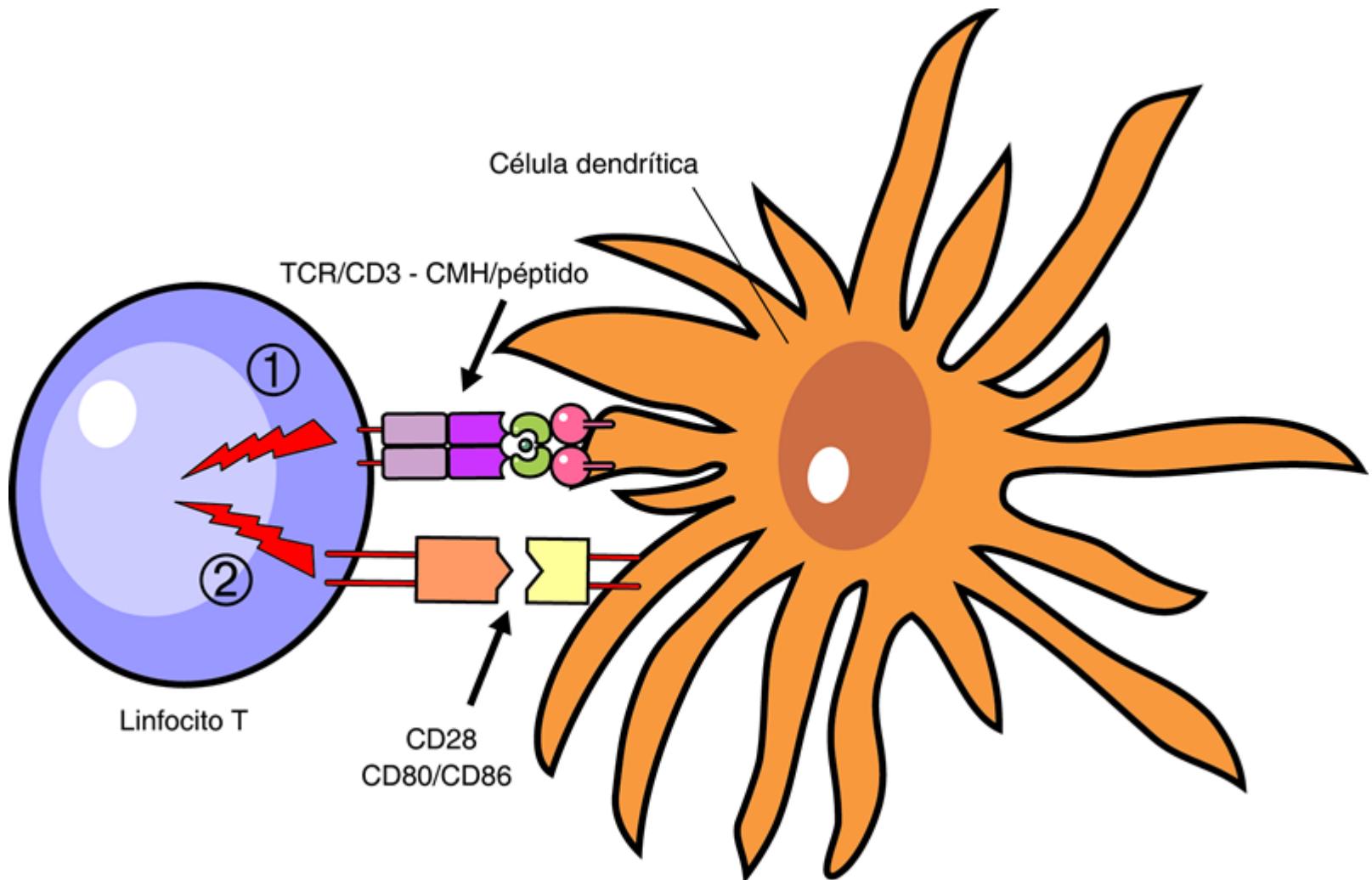
En el órgano linfático secundario

Para evaluar la presencia de su péptido antigenólico, los linfocitos T vírgenes interactúan débilmente con las CD a través de moléculas de adhesión.

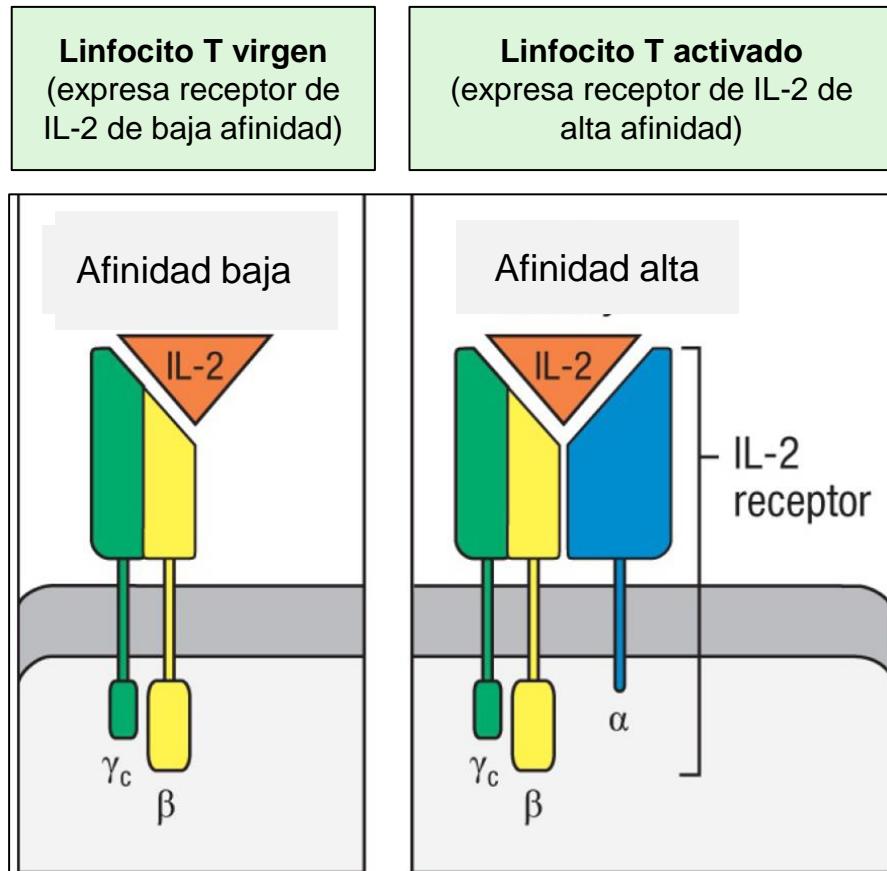
De ocurrir el reconocimiento antigenólico, se establece una adhesión firme entre ambas células que persiste varios días, durante los cuales la célula T prolifera, y su progenie, que también puede adherirse a la misma CD, se diferencia en células T efectoras .



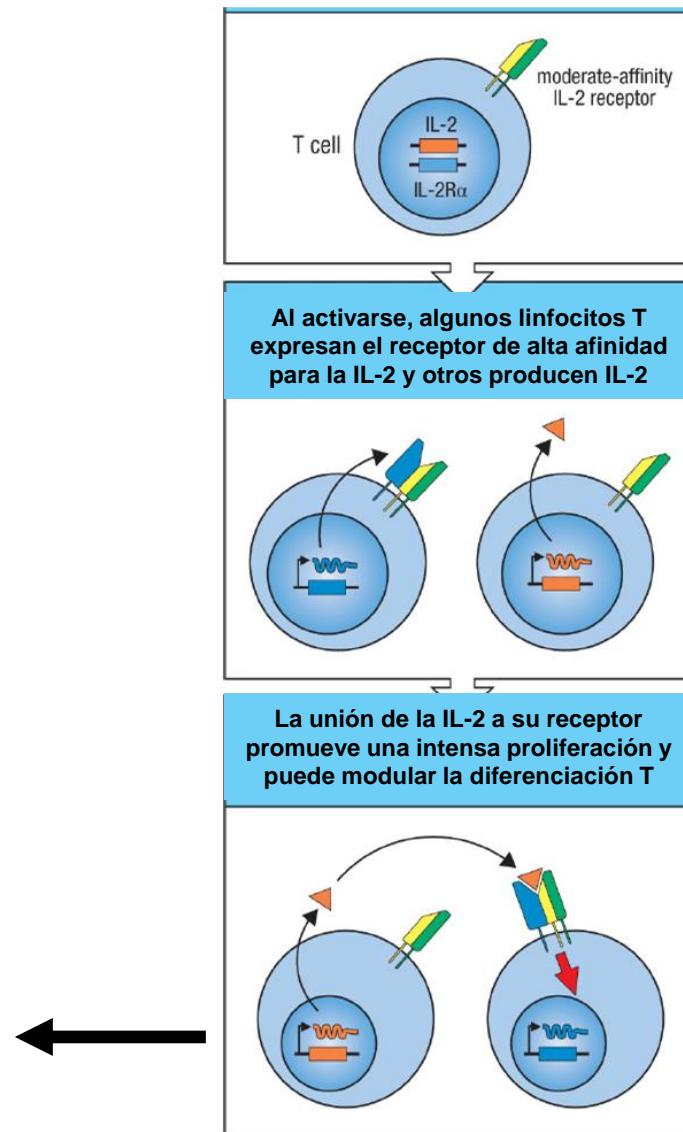
Señales necesarias para la activación del linfocito T virgen (señal 1 y señal 2)



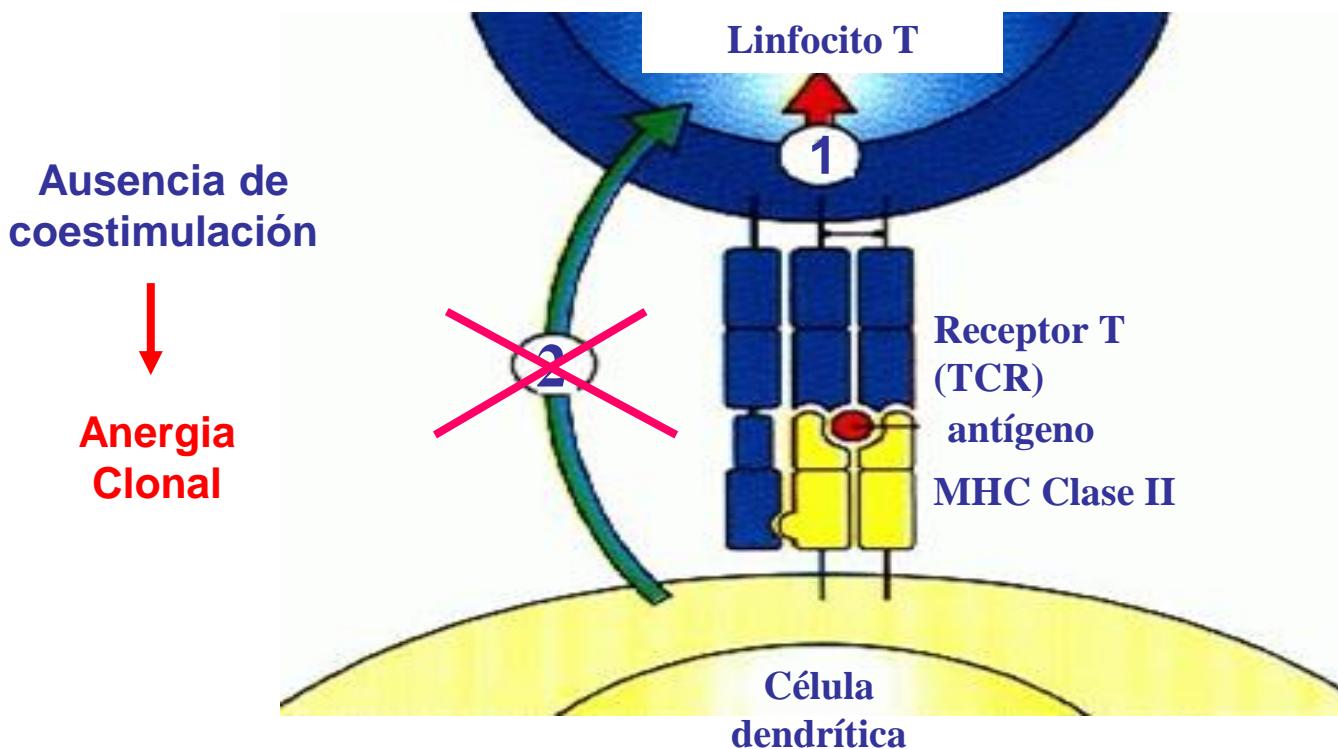
Mecanismo que dispara la expansión clonal de los linfocitos T activados



Expansión clonal: una célula T virgen activada producirá, en el término de 5-8 días, una progenie aproximada de 10.000 células hijas (14-20 divisiones celulares)



En ausencia de coestimulación, el linfocito T que reconozca un complejo péptido antigeníco+CMH sufrirá anergia clonal



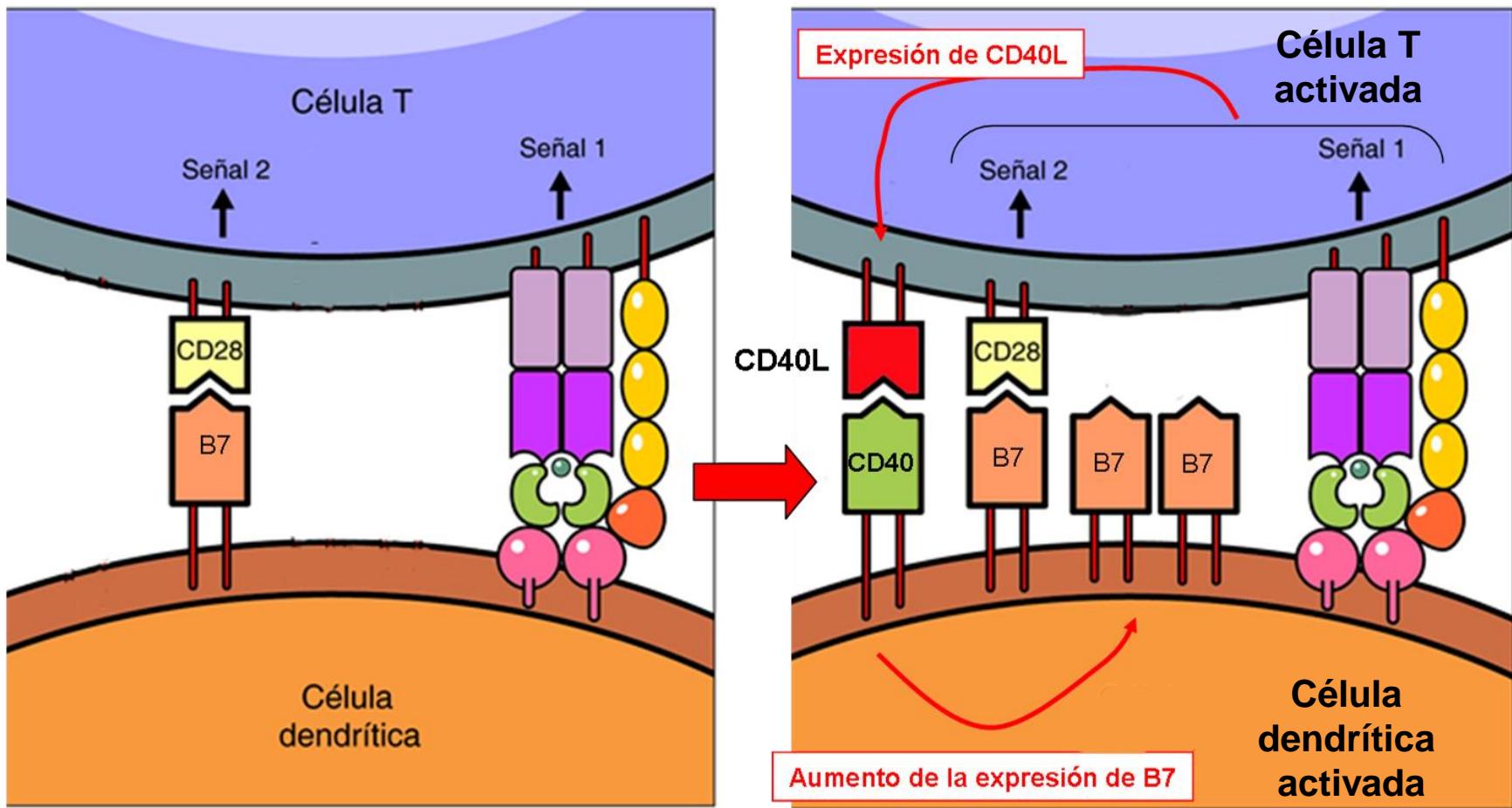
La célula dendrítica madura no siempre exhibe suficiente cantidad de moléculas coestimulatorias como para inducir la activación de los linfocitos T vírgenes



Los linfocitos T CD8⁺ vírgenes, en comparación a los linfocitos T CD4 vírgenes, requieren un tenor más alto de moléculas coestimulatorias para poder activarse correctamente

La magnitud de la expresión de moléculas coestimulatorias depende de si la CD se encuentra infectada por un patógeno, de la intensidad de señales proinflamatorias que ha recibido en el tejido o de su interacción previa con linfocitos T CD4

Incremento de la expresión de moléculas coestimulatorias en la CD por su interacción con un linfocito T CD4 que ha reconocido un péptido+CMH en presencia de coestimulación sobre ella

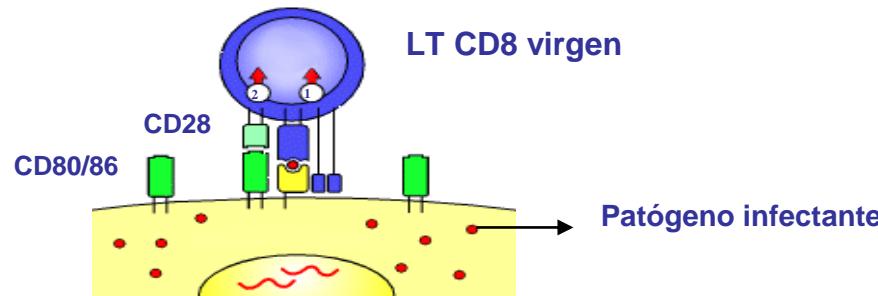


El linfocito T virgen y la célula dendrítica se activan recíprocamente en los órganos linfáticos secundarios

* A las moléculas CD80 y CD86 se las conoce también como moléculas B7.1 y B7.2, respectivamente

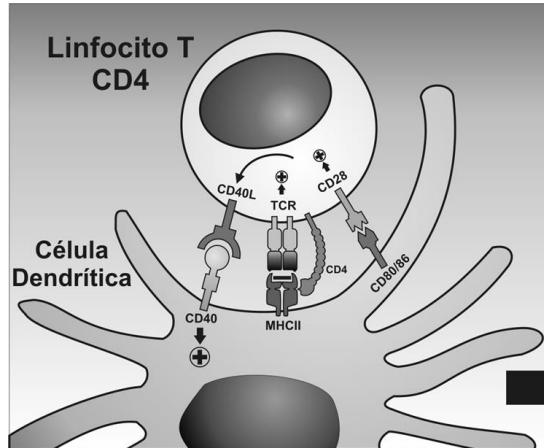
Los linfocitos T CD8⁺ vírgenes, en comparación a los linfocitos T CD4 vírgenes, requieren un tenor más alto de moléculas coestimulatorias para poder activarse correctamente. Ese tenor puede alcanzarse:

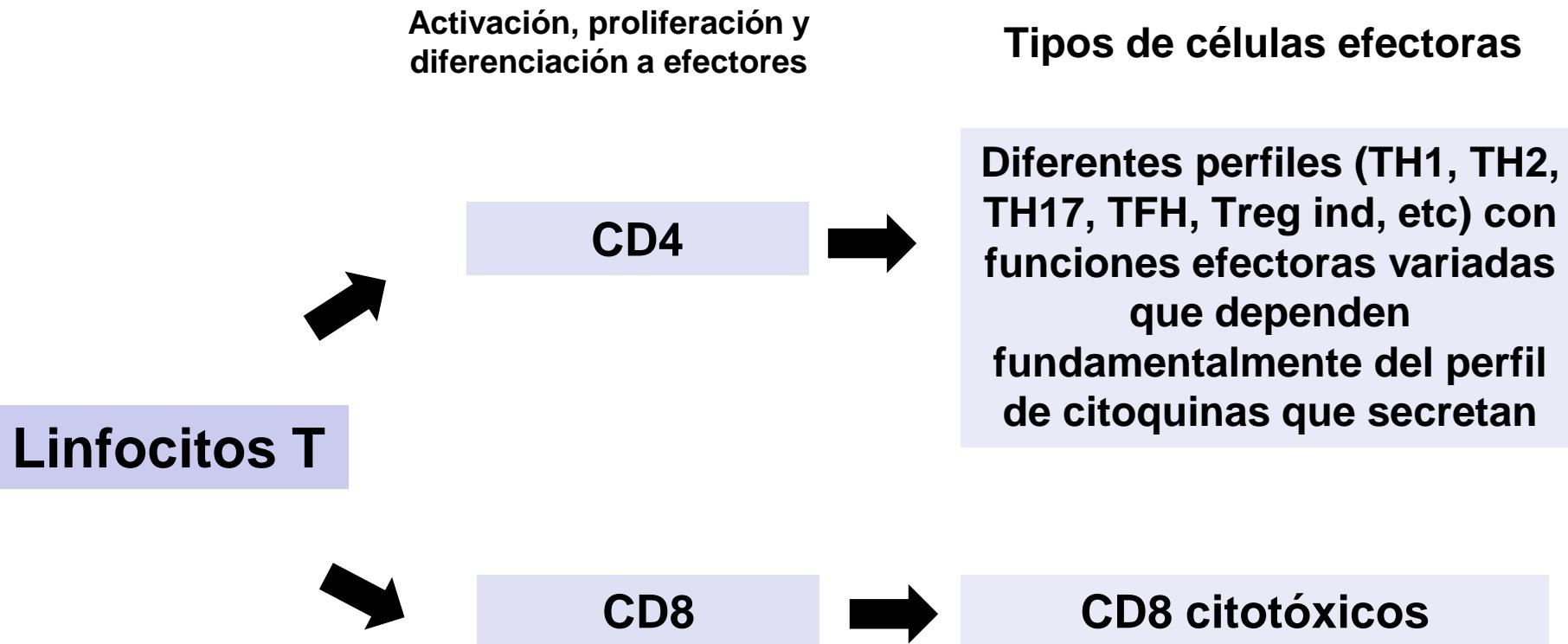
1- Por infección de la célula dendrítica.



2- Por acondicionamiento de la CD por previa interacción con un linfocito T CD4 al cual le aportó la señal 1 y 2 para su activación.

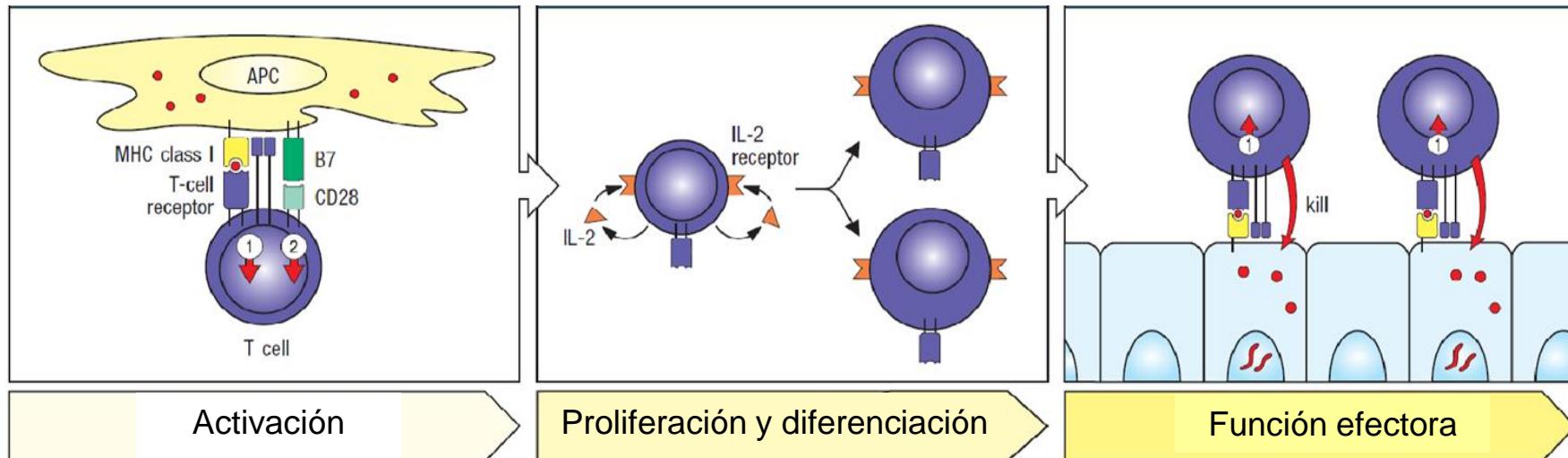
La interacción CD40-CD40L incrementa la expresión de moléculas CD80/CD86 (moléculas de B7) sobre la célula dendrítica.





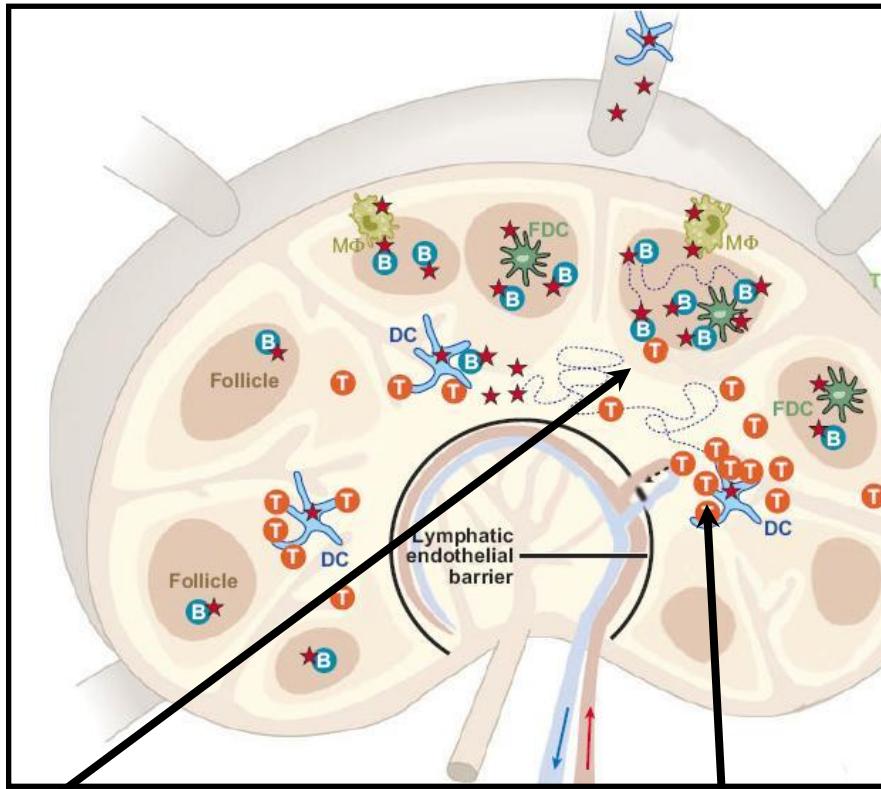
Los linfocitos T efectores generados, sean CD4 o CD8, no requieren coestimulación para ejercer su función efectora

Ejemplo: Activación, proliferación, diferenciación y acción efectora de un linfocito T CD8



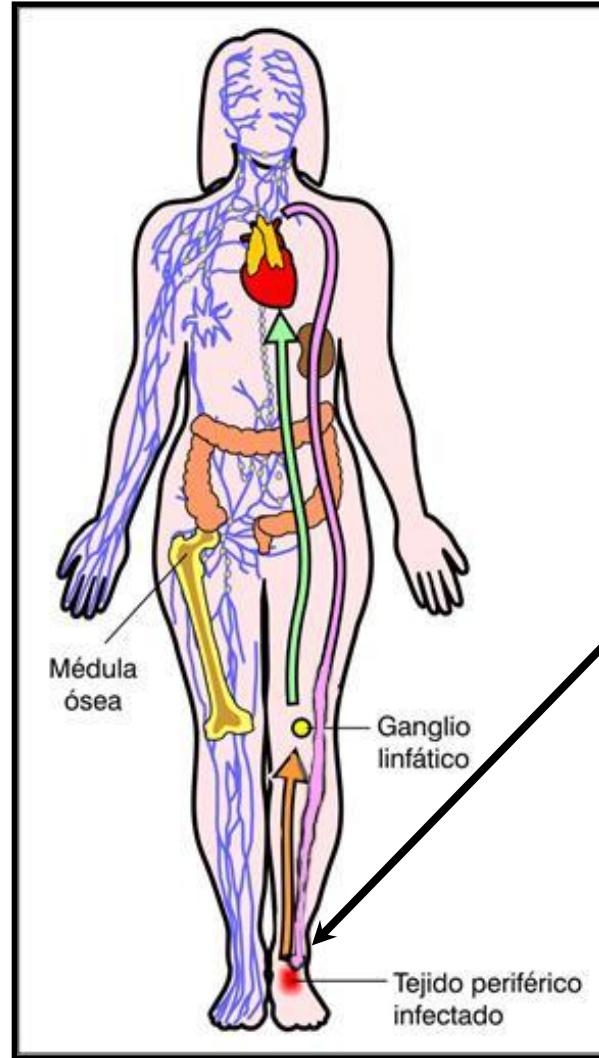
Los linfocitos T CD8⁺ citotóxicos (células efectoras) se activan en los tejidos periféricos luego de reconocer el complejo péptido-CMH (**señal 1 de activación**) sin necesidad de una señal coestimulatoria.

Los distintos perfiles T efectores mediarán sus funciones en distintos sitios anatómicos



T_{FH} ejercerán sus funciones dentro del propio ganglio linfático contribuyendo a la activación de los linfocitos B específicos para el antígeno

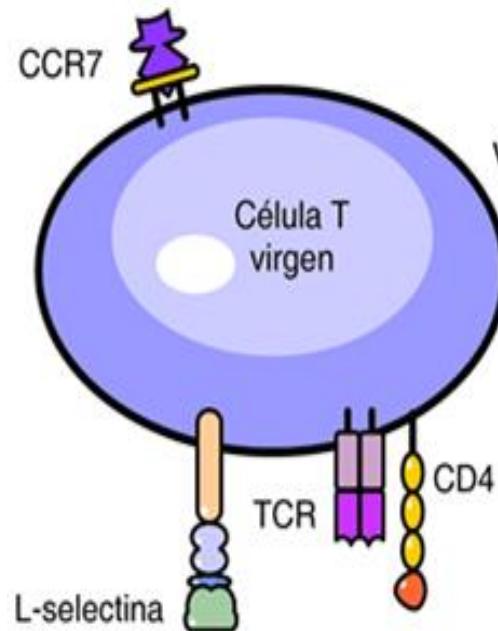
Las células T_{REG} también pueden mediar funciones dentro del ganglio regulando la intensidad de la respuesta



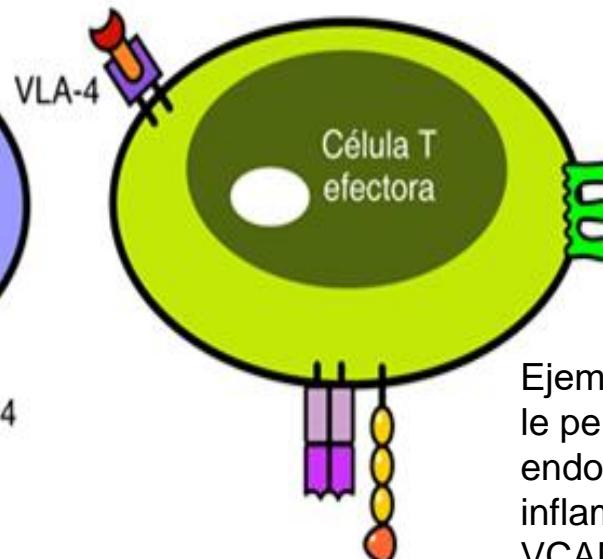
Los linfocitos T_1 , T_2 , T_{17} y T_{REG} , así como los T CD8 migrarán al tejido periférico en el cual se requiere su función

Los linfocitos T efectores generados exhiben un patrón de moléculas de adhesión y receptores de quimiocinas distinto al de los vírgenes, lo que les permite acceder a los tejidos infectados para ejercer su función efectora.

Linfocito T virgen



Linfocito T efector



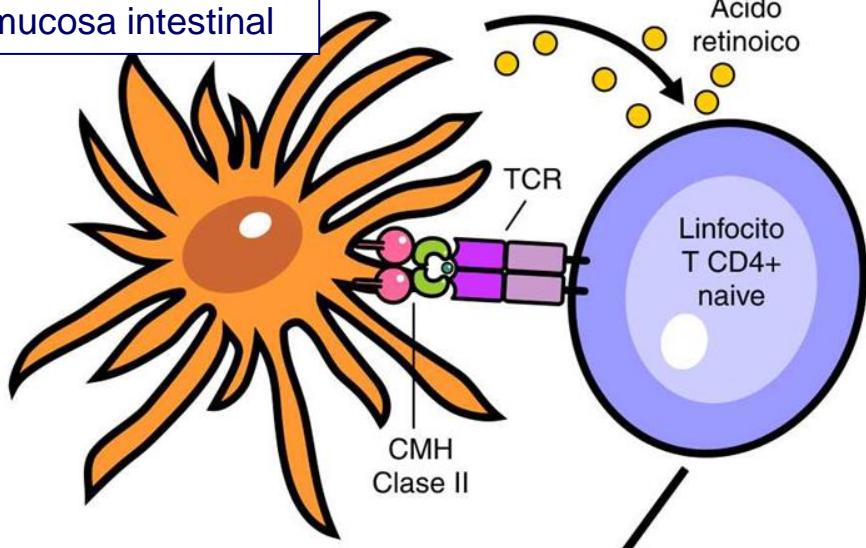
Ejemplo. $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4), le permite unirse al endotelio vascular inflamado que expresa VCAM-1,

Linfocito virgen
Expresa L-selectina y
CCR7 que permiten su
acceso a OLS

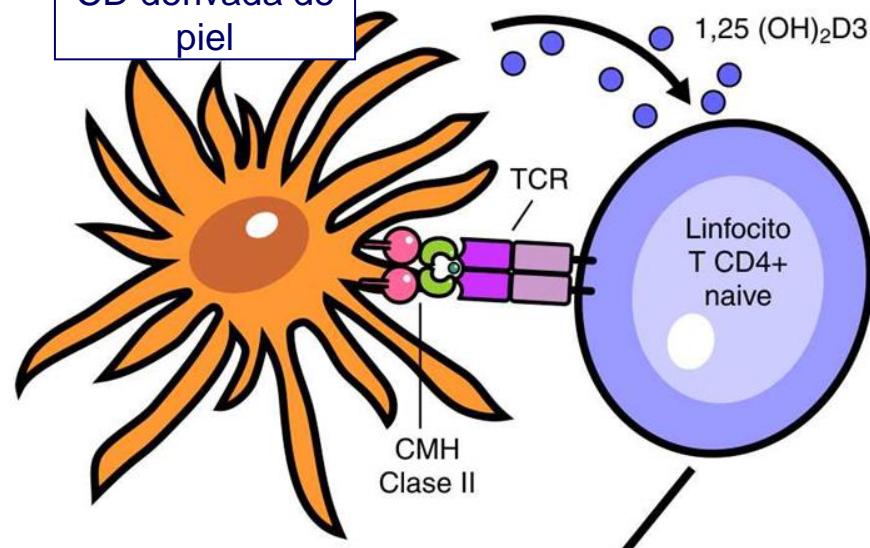
Linfocito efector deja de expresar
L-selectina y CCR7 y expresa
moléculas que son ligandos de
otras expresadas en el endotelio
de vasos que irrigan tejidos
inflamados

Las CD “imprimen” en los LT efectores un perfil de asentamiento característico

CD derivada de mucosa intestinal

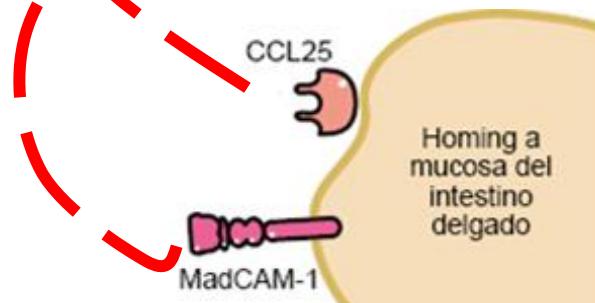


CD derivada de piel

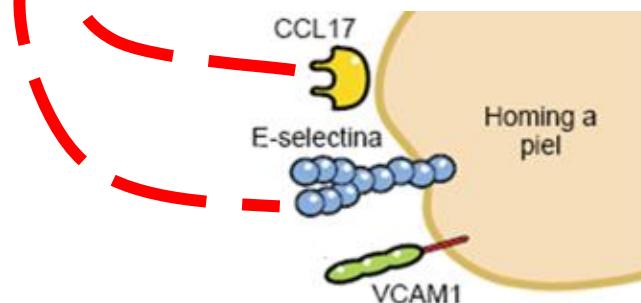


Linfocito T efector TM_E

Linfocito T efector TM_E



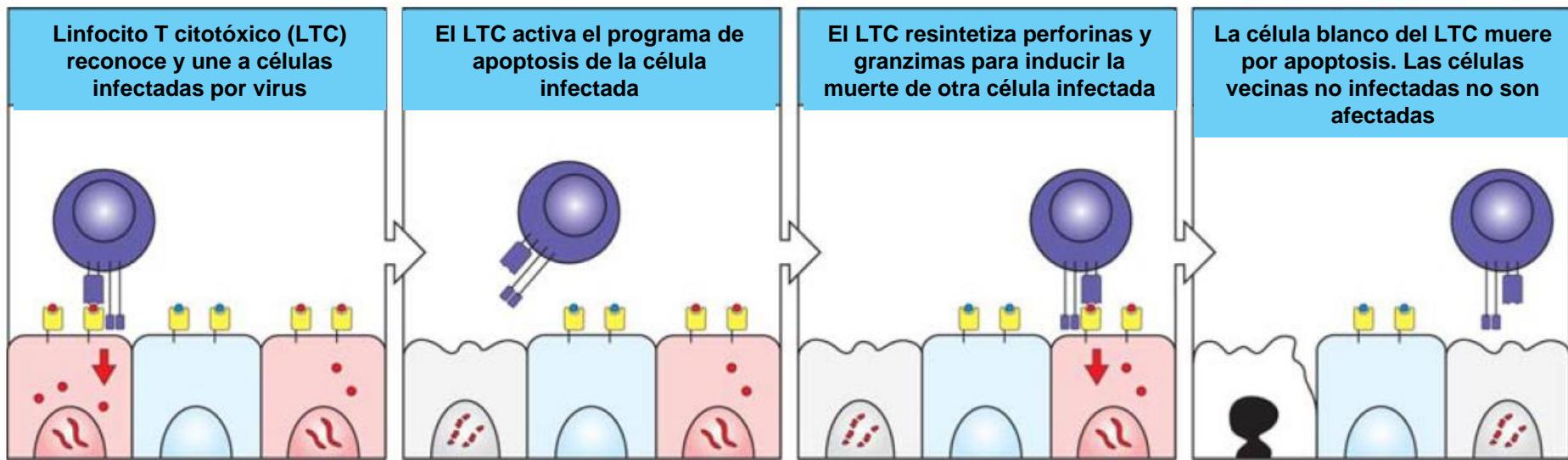
Homing a mucosa del intestino delgado



Homing a piel

Los linfocitos T CD8 efectores pueden mediar dos tipos de funciones efectoras

1. Citotoxicidad

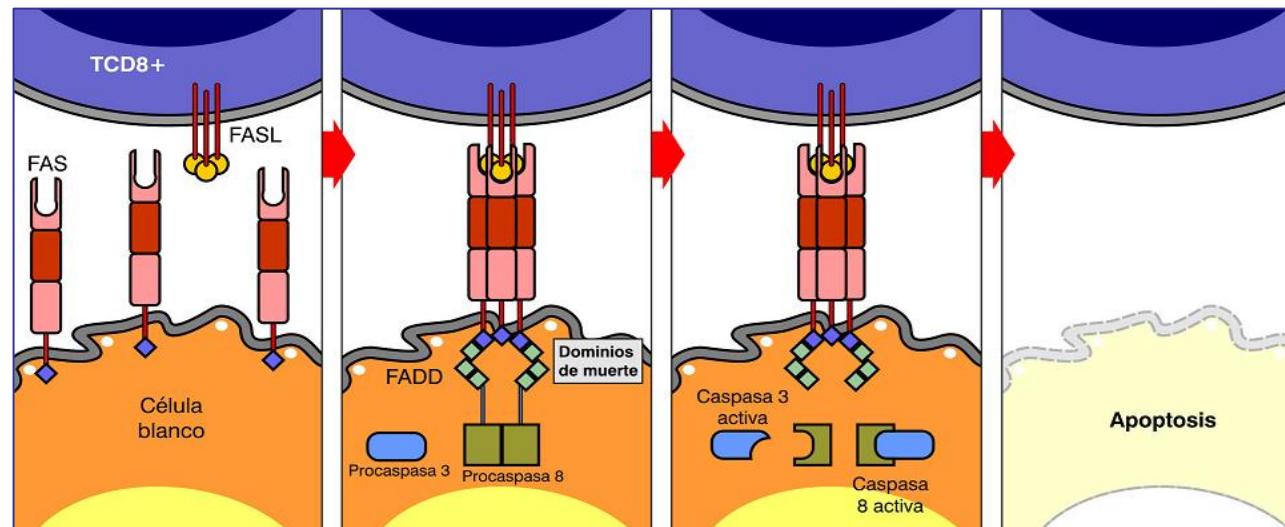


2. Producción de citoquinas proinflamatorias: Fundamentalmente IFN- γ y TNF- α

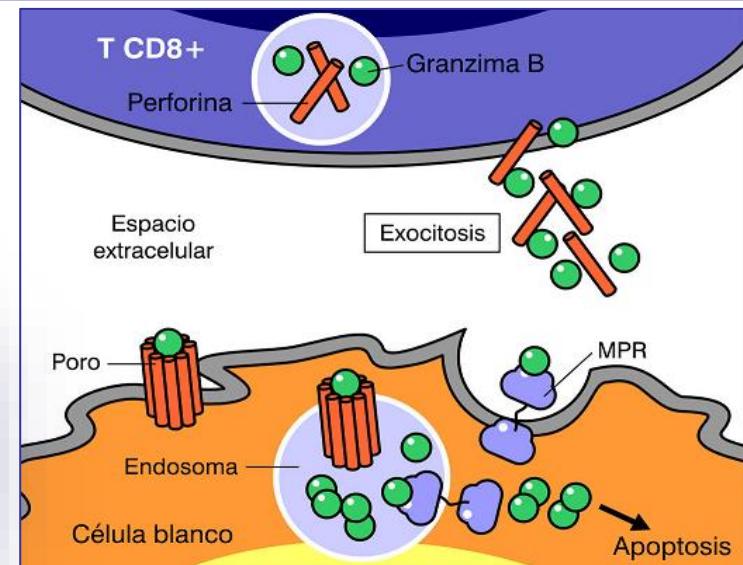


El linfocito T CD8 citotóxico puede inducir la muerte por apoptosis de células infectadas mediante dos mecanismos de citotoxicidad

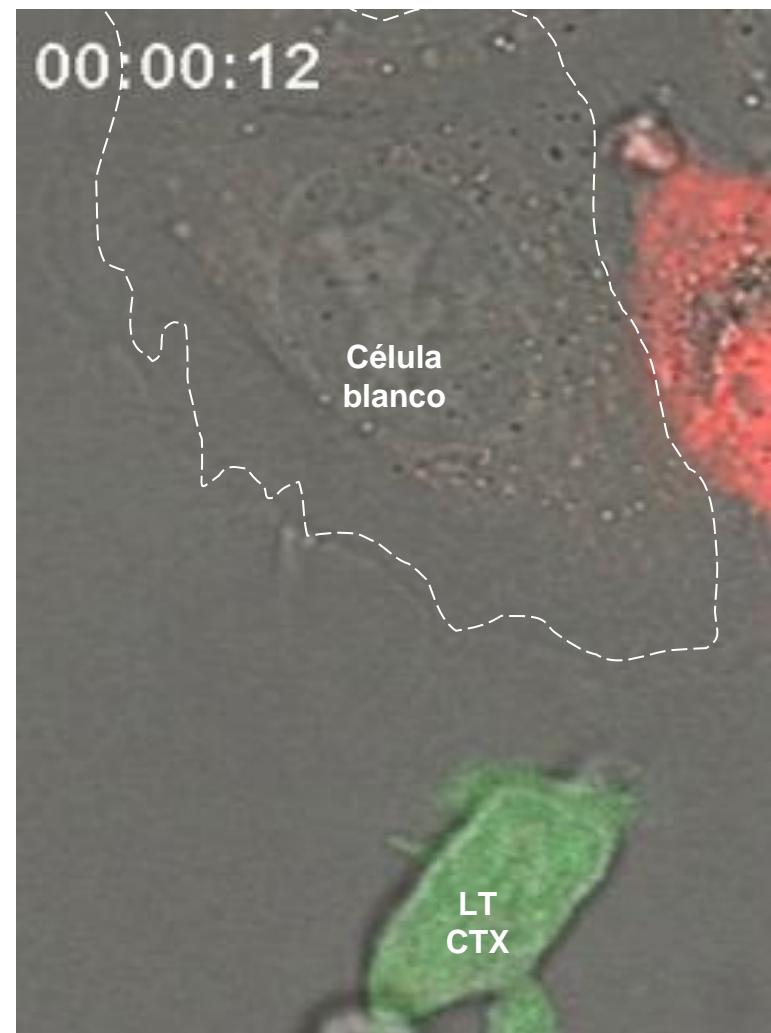
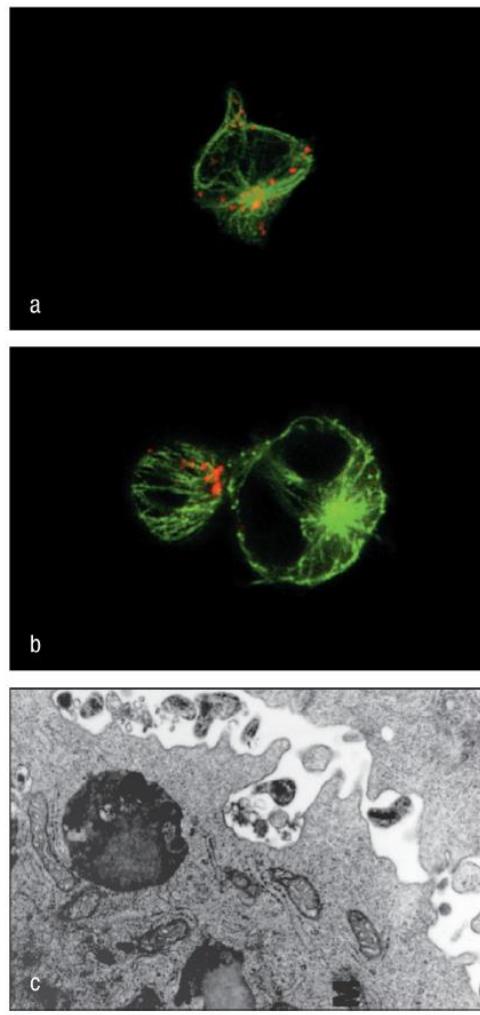
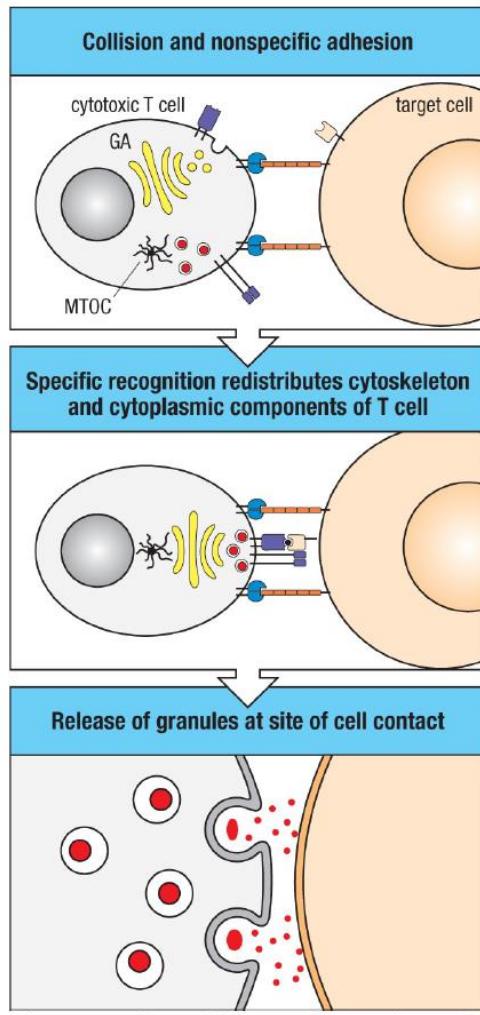
1. No secretorio: Involucra FASL-FAS



2. Secretorio: Involucra Perforinas y granzimas



Ambos mecanismos son gatillados luego de que el Linfocito T CD8 citotóxico reconoce al péptido+CMH

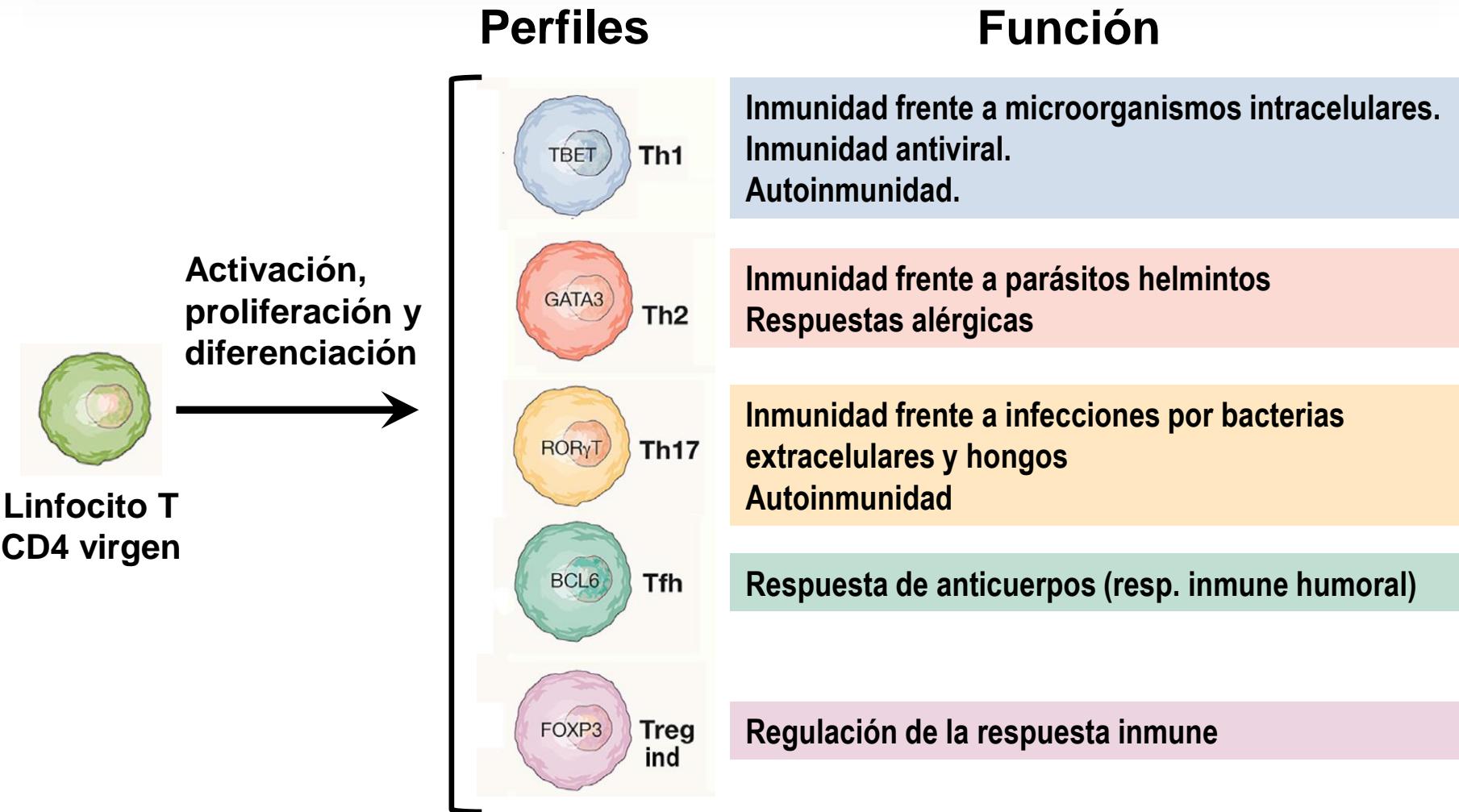


Los linfocitos T CD8 citotóxicos son capaces de inducir la apoptosis de la célula blanco que esté presentando el complejo péptido-MHC específico.

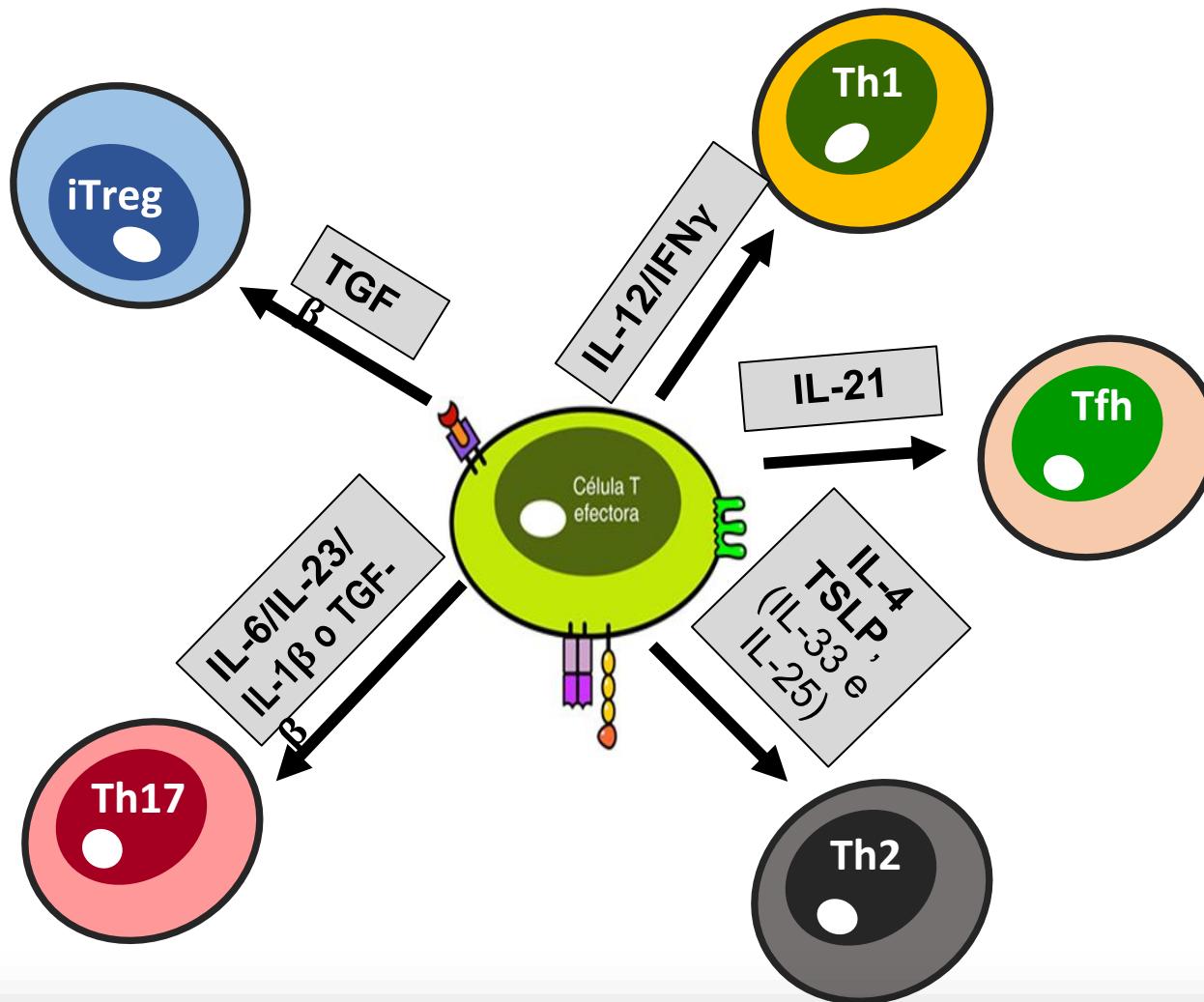
Video tomado de Blood. 2013;121(14):2659.

Linfocito T citotóxico
Células apoptóticas

Los linfocitos T CD4 integran las señales aportadas por citoquinas del entorno derivadas de células inmunes innatas y las recibidas a través del TCR/molec. coestimulatorias para seguir diferentes programas transcripcionales que les permiten diferenciarse en al menos 5 perfiles funcionales

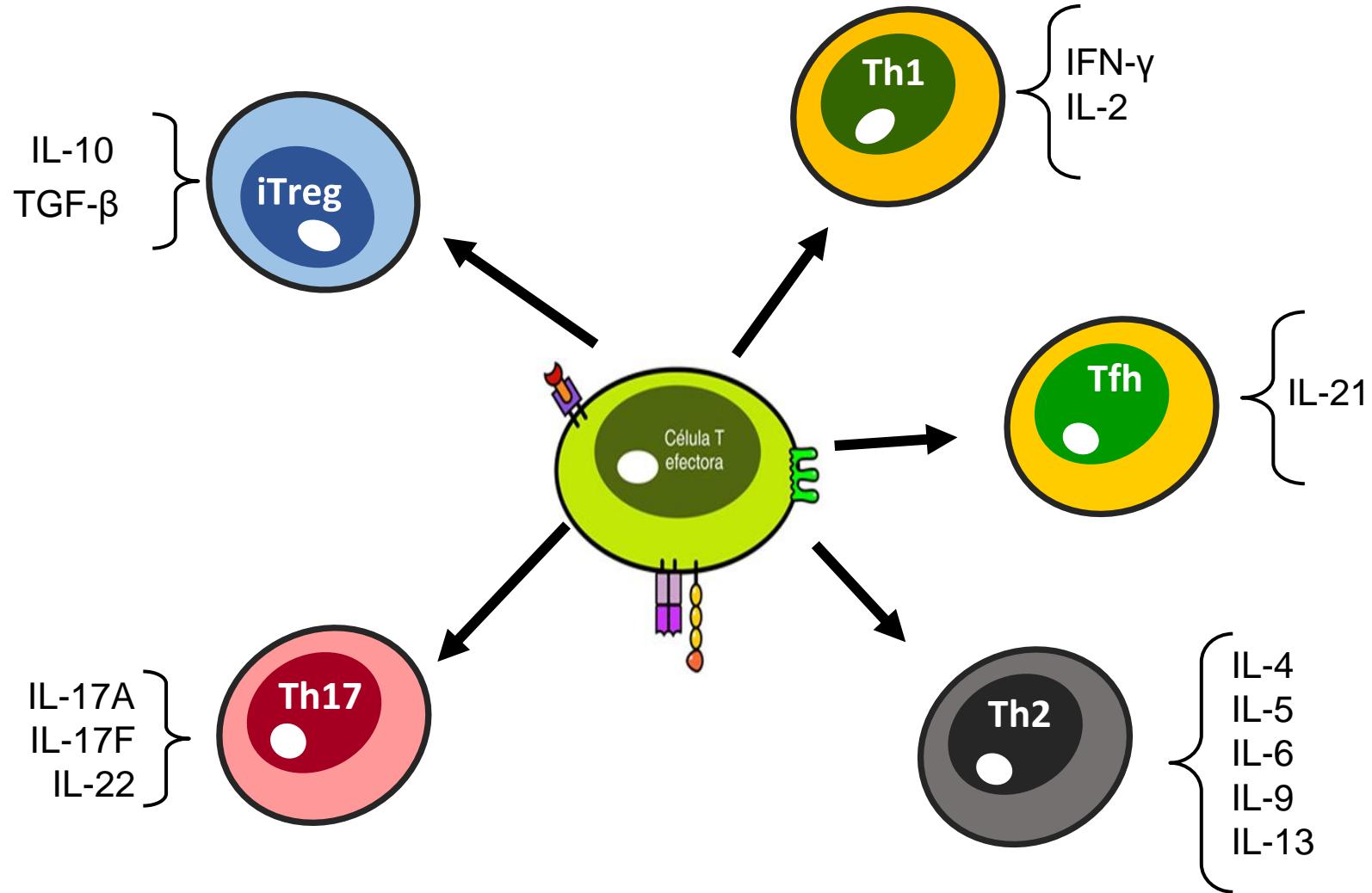


¿Qué factores condicionan la diferenciación a cada perfil funcional de los linfocitos T CD4?

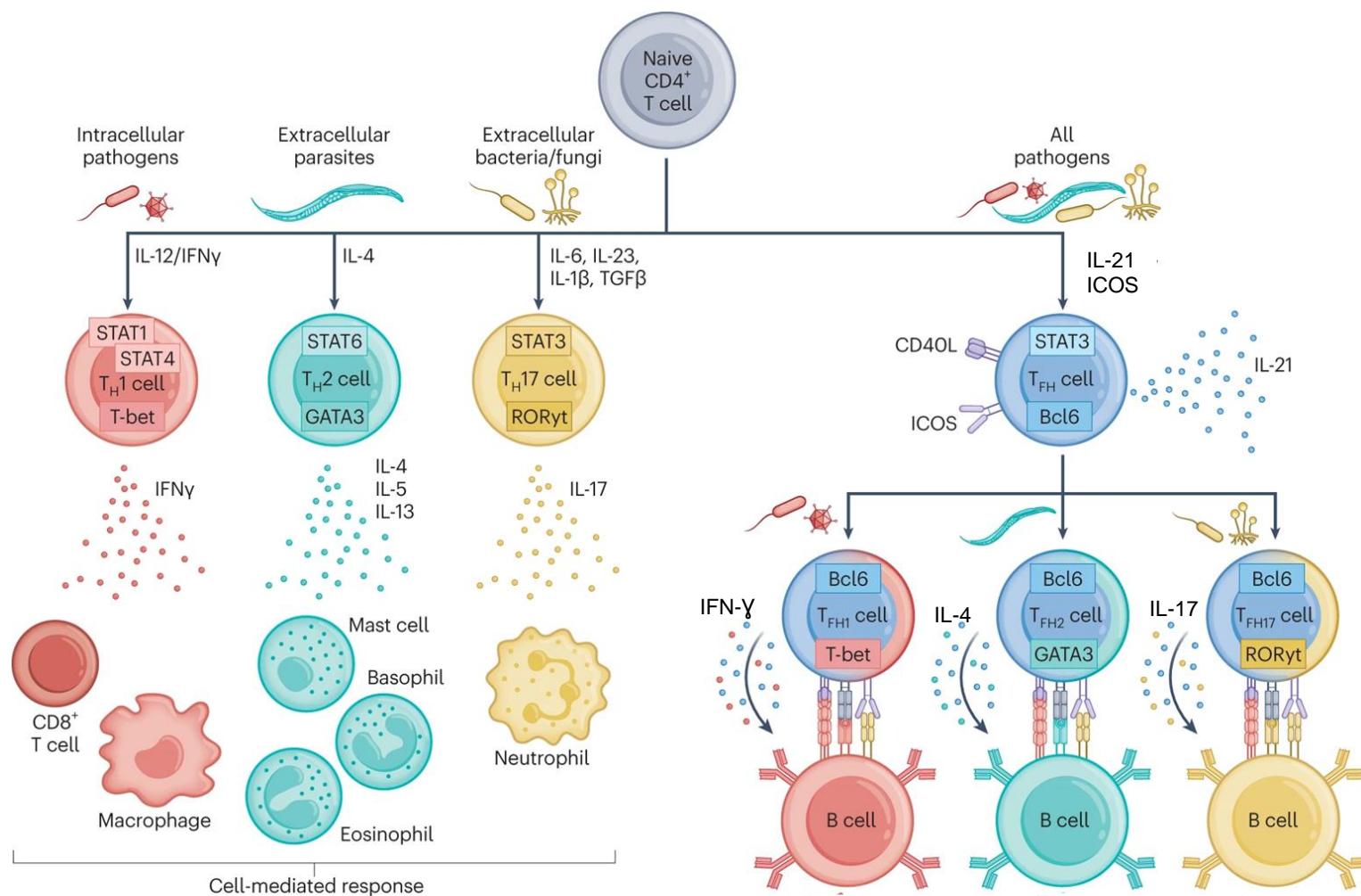


Las citoquinas del entorno del ganglio donde proliferan y se diferencian los linfocitos T CD4 determinan los perfiles efectores que ellos adquieren.

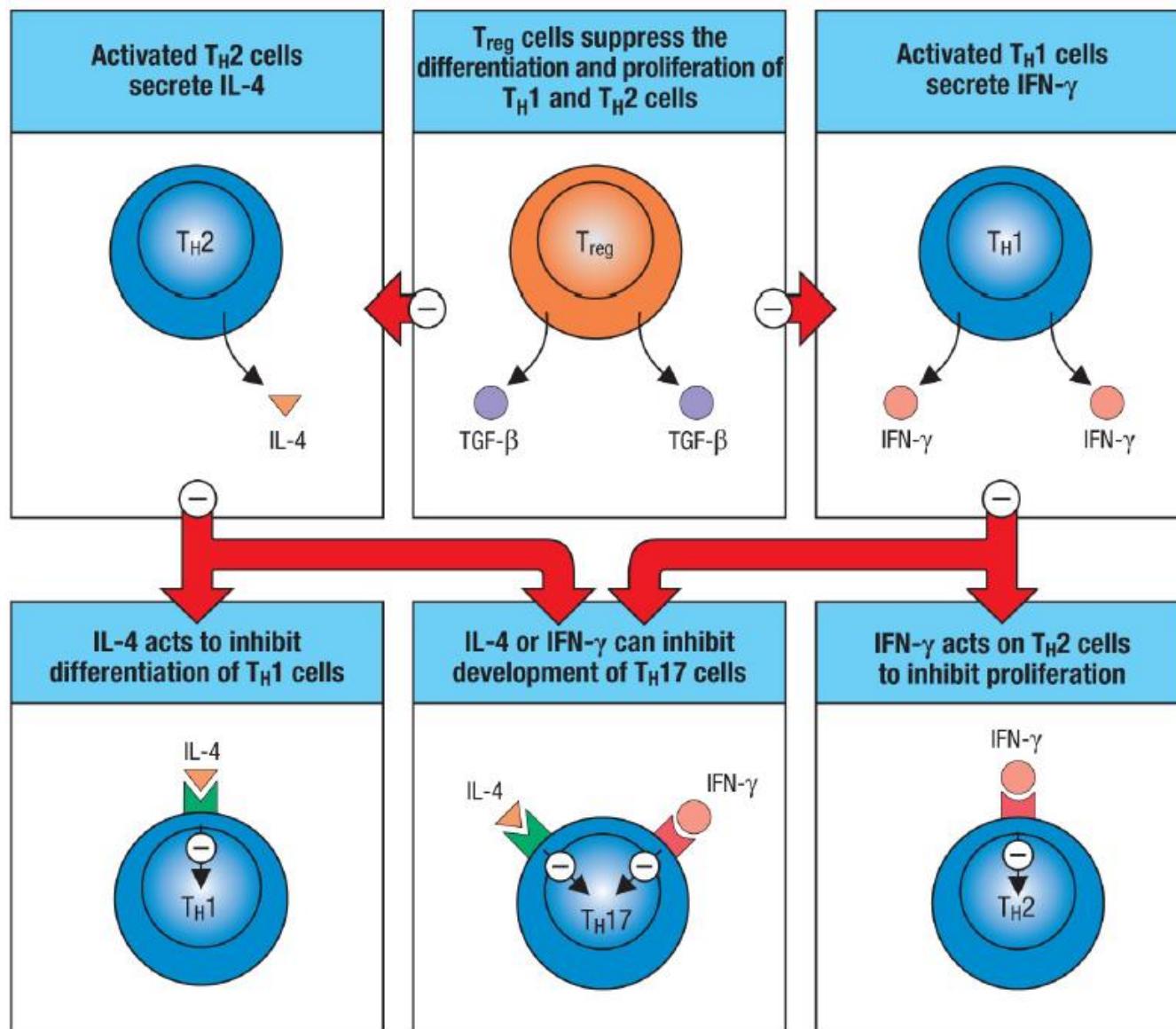
Los diferentes perfiles T CD4 efectores ejercen funciones secretando ciertas citoquinas particulares



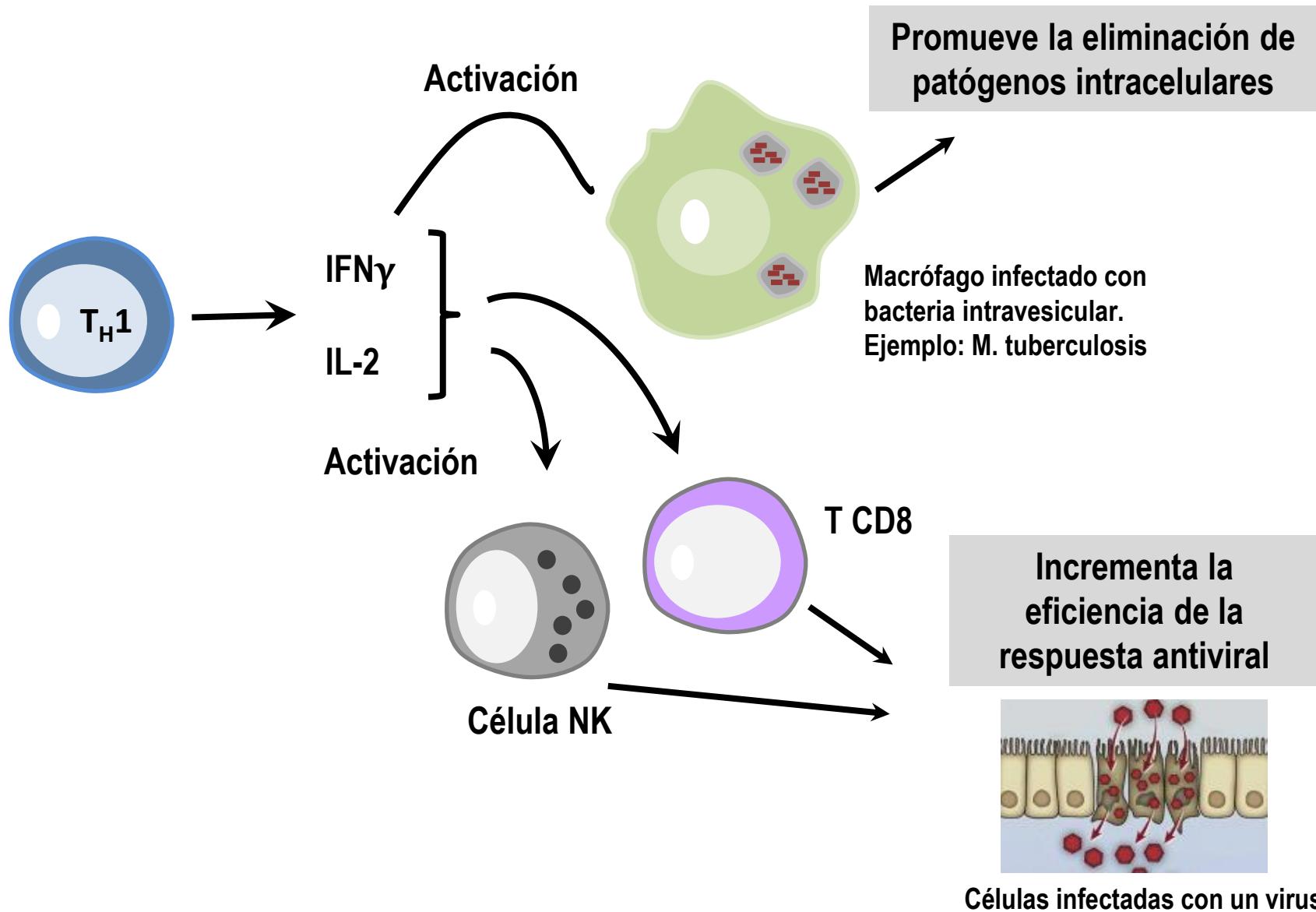
La diferenciación de las células T CD4 a los perfiles T_H1 , T_H2 y T_{H17} se adapta a la naturaleza del microorganismo infectante. En cada una de esas respuestas, se generan T_{FH} que además de producir IL-21 producen algunas citoquinas del perfil que acompañan.

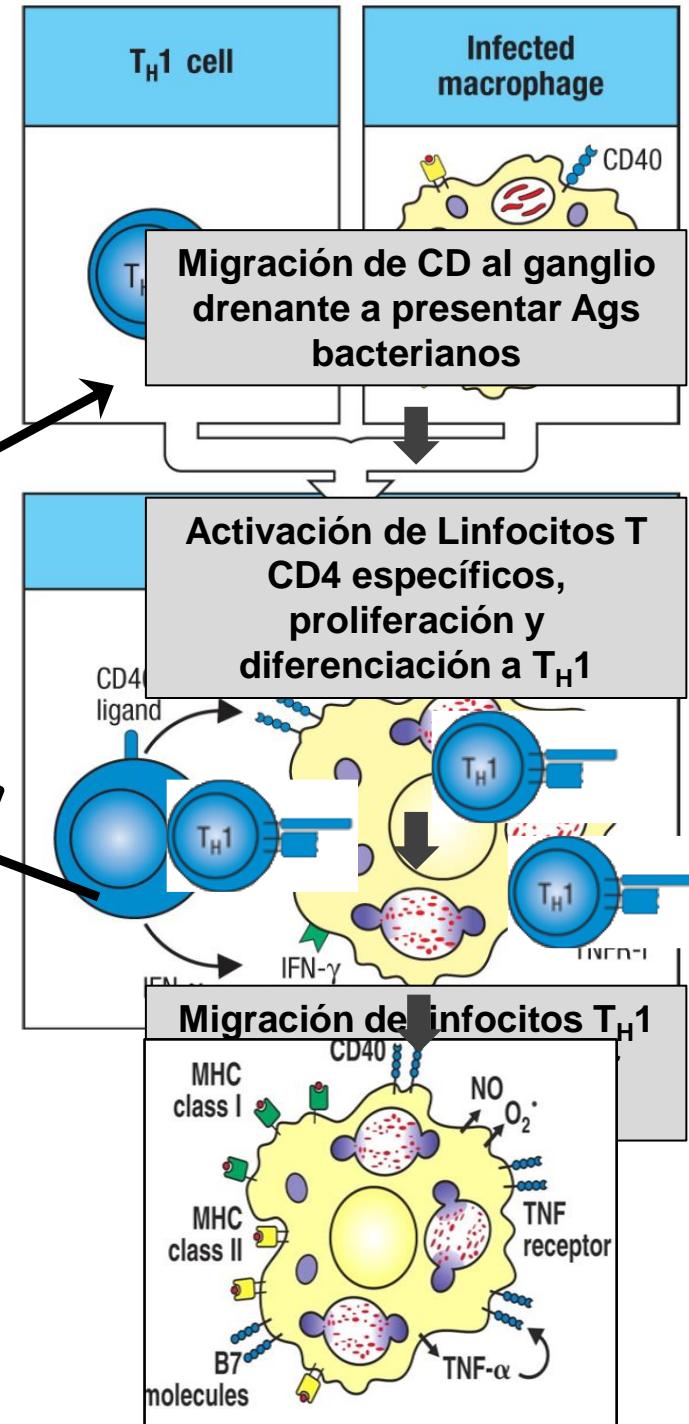
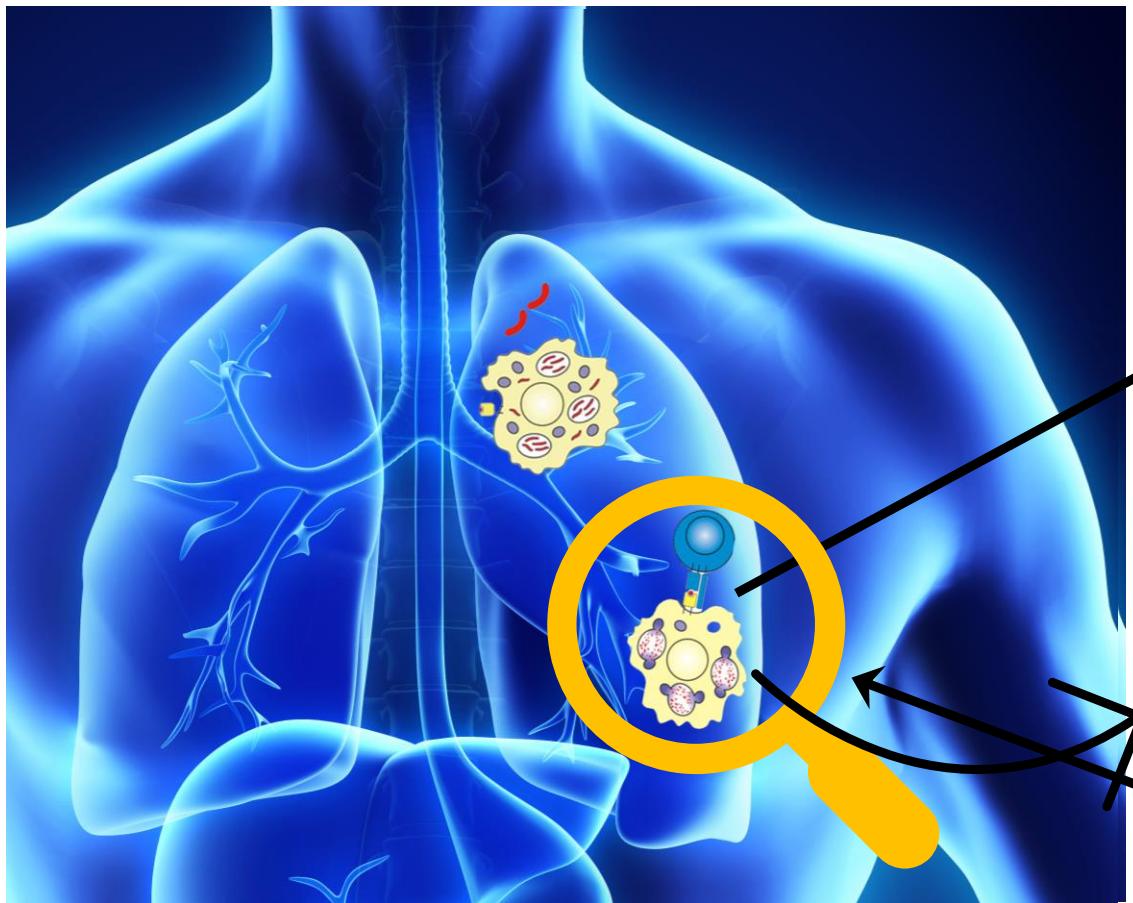


Las citoquinas producidas por un tipo de linfocito T efector pueden inhibir la diferenciación de los linfocitos T CD4⁺ hacia otros perfiles.

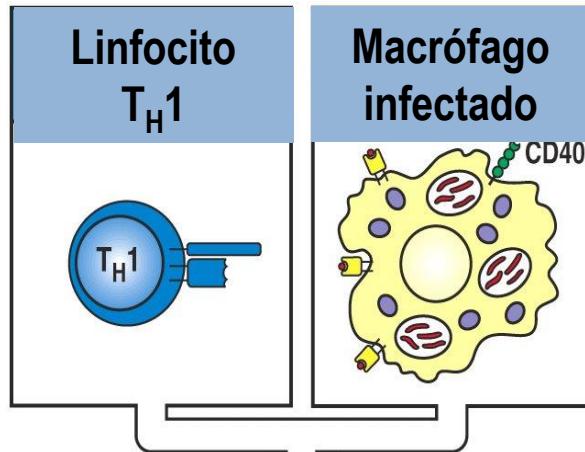


Mecanismos efectores mediados por los linfocitos Th1

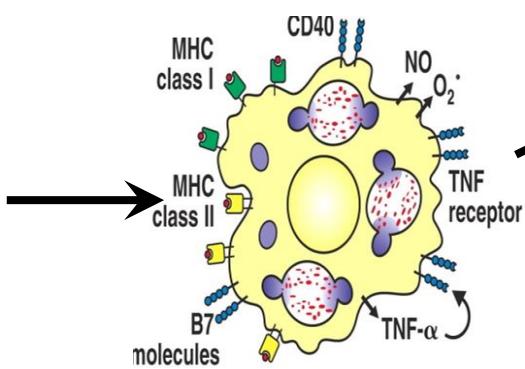
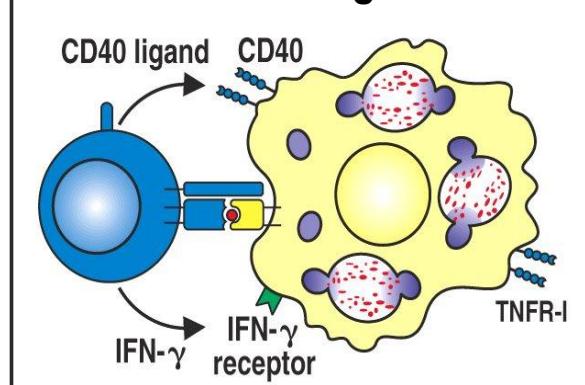




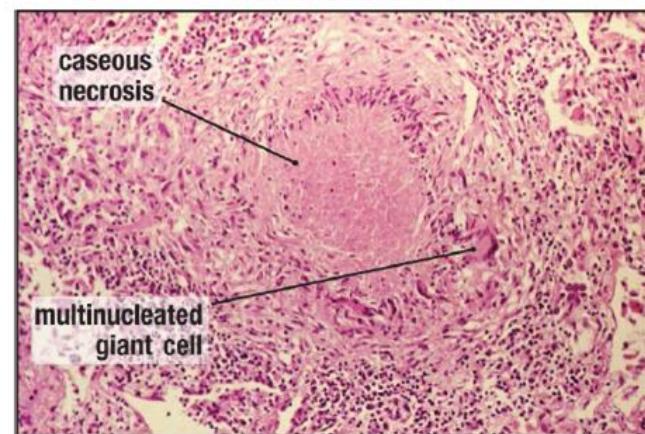
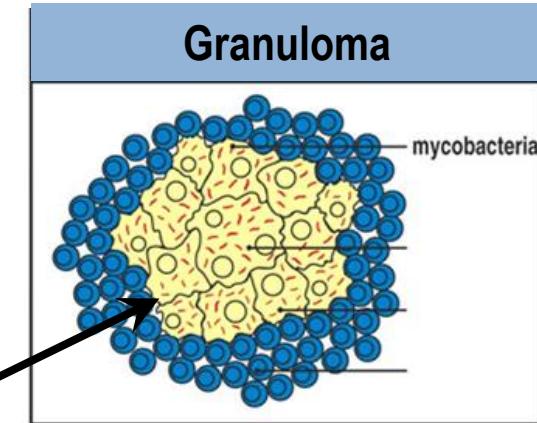
Para inducir la activación del macrófago infectado los linfocitos T_{H1} deben reconocer a través de sus TCRs al péptido antigenico específico sobre las moléculas CMH de clase II



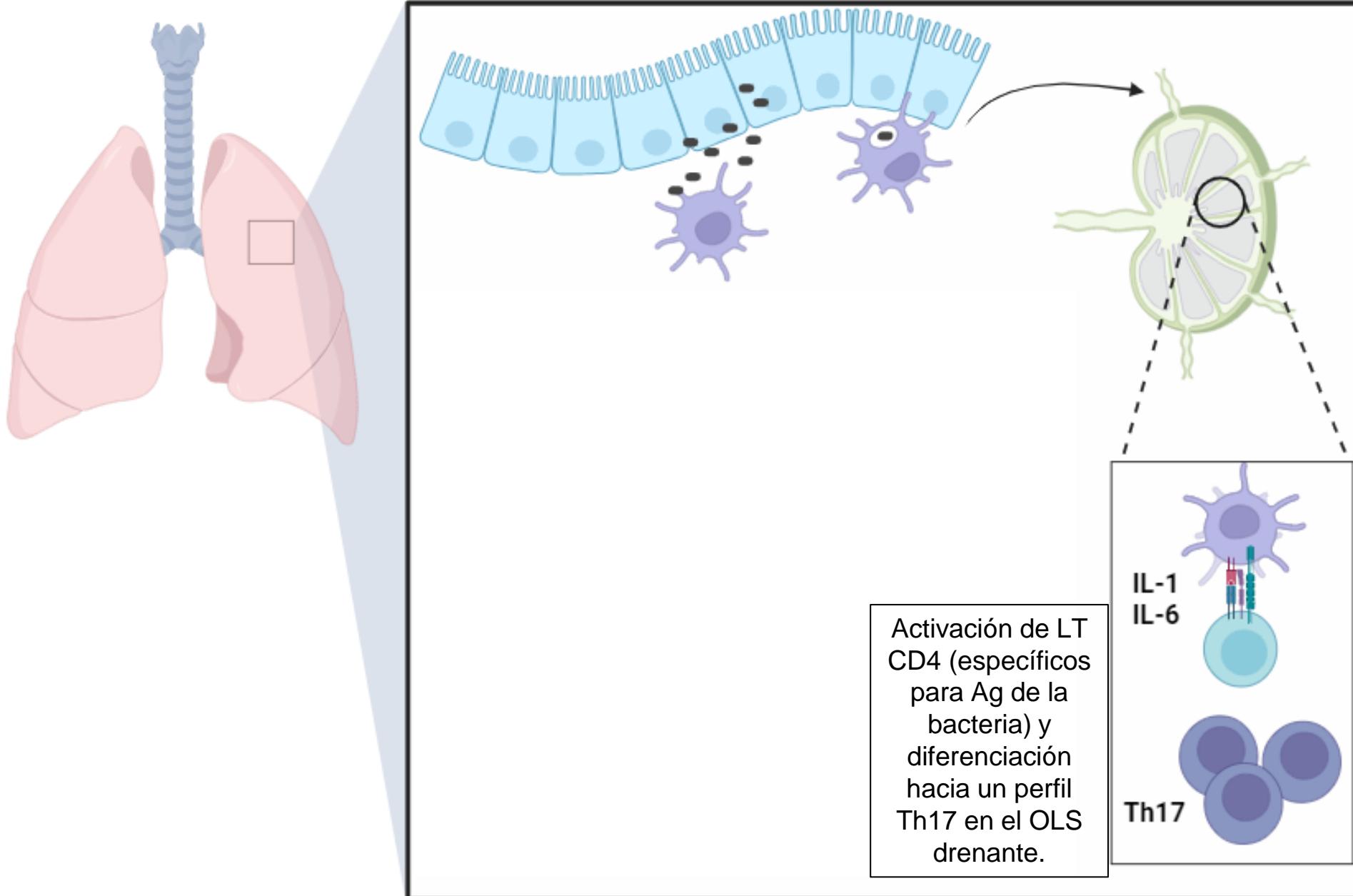
El linfocito T_{H1} activa al macrófago



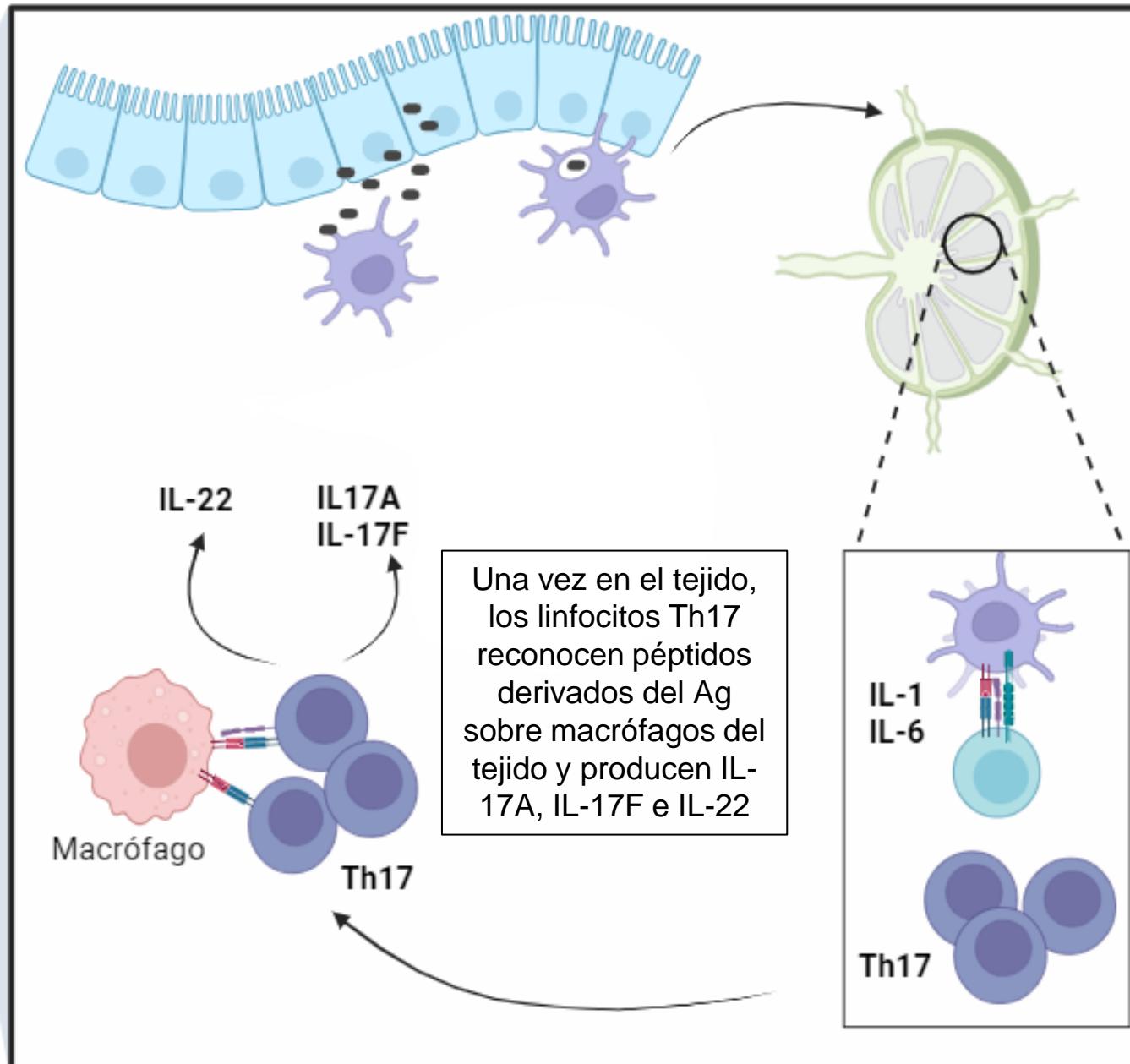
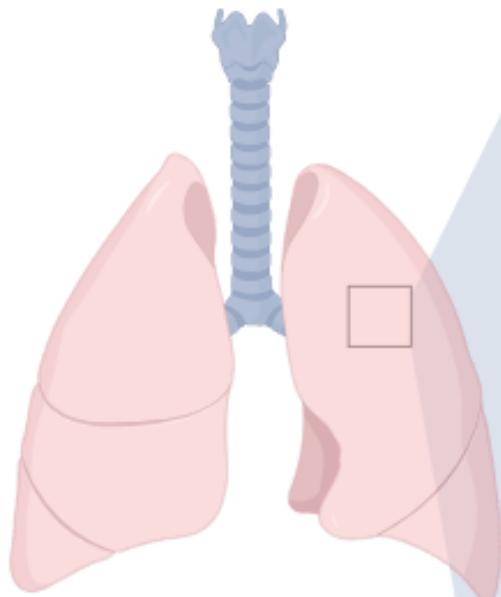
Los granulomas se forman para contener la infección por patógenos que no logran ser eliminados



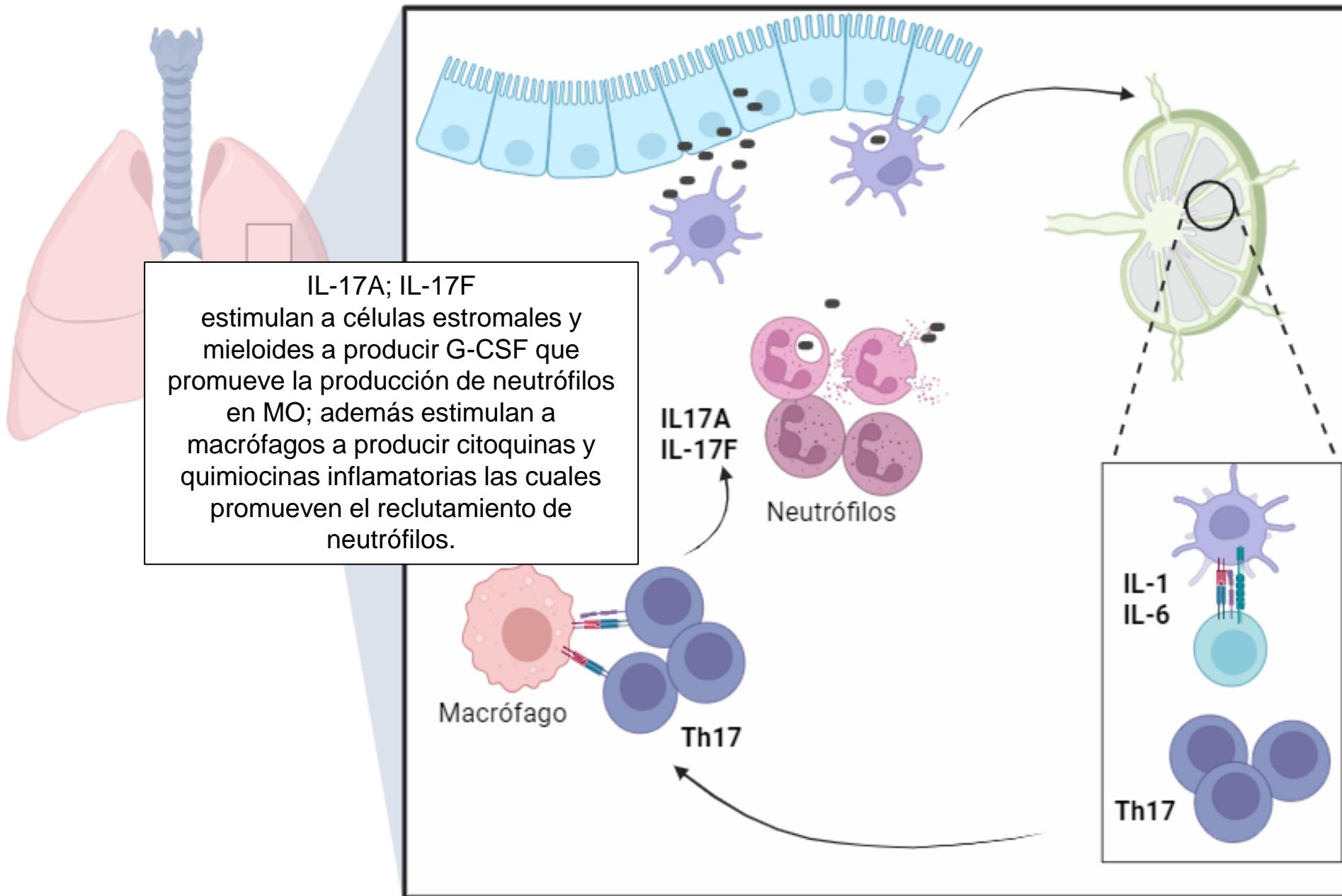
Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H17



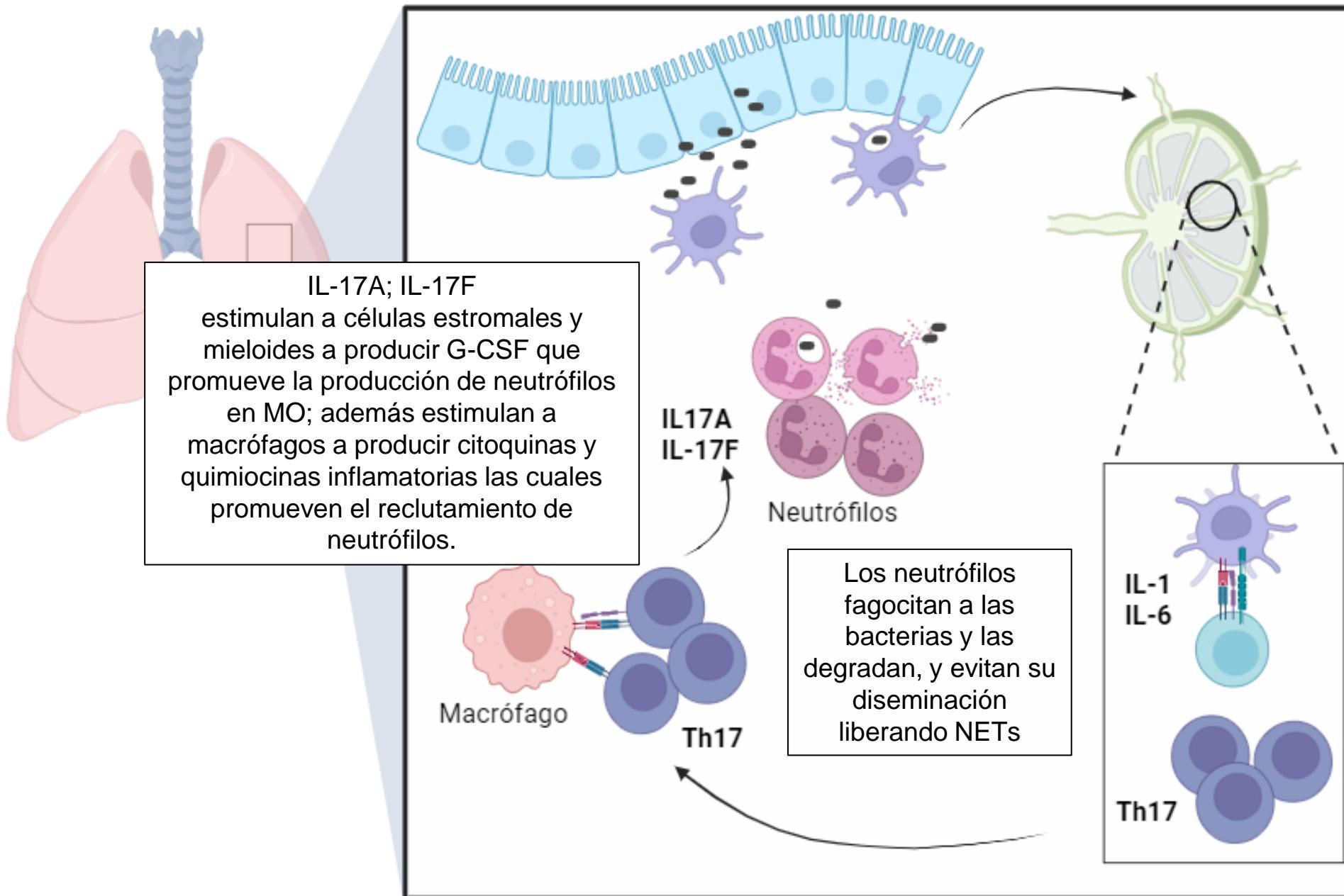
Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H17



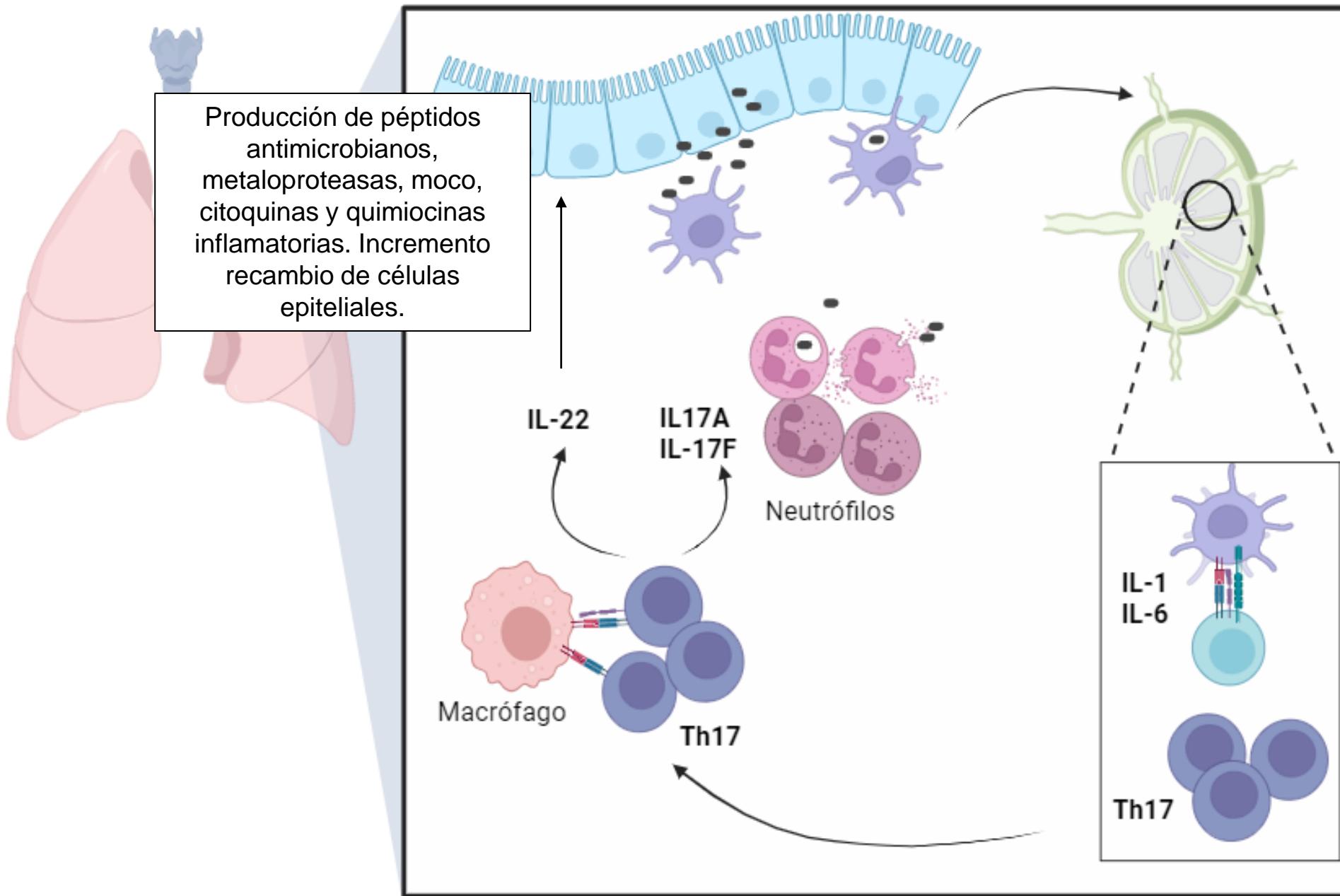
Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H17



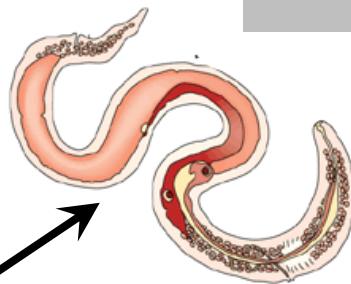
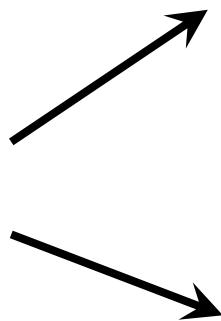
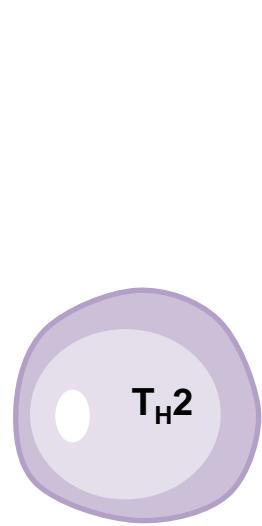
Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H17



Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H17



Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H2

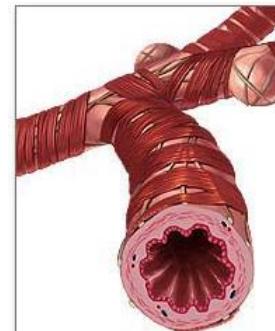


Inmunidad frente a parásitos extracelulares: Por ejemplo, helmintos

Desarrollo de procesos alérgicos y del asma



Bronquiolo individuo sano Bronquiolo de individuo asmático

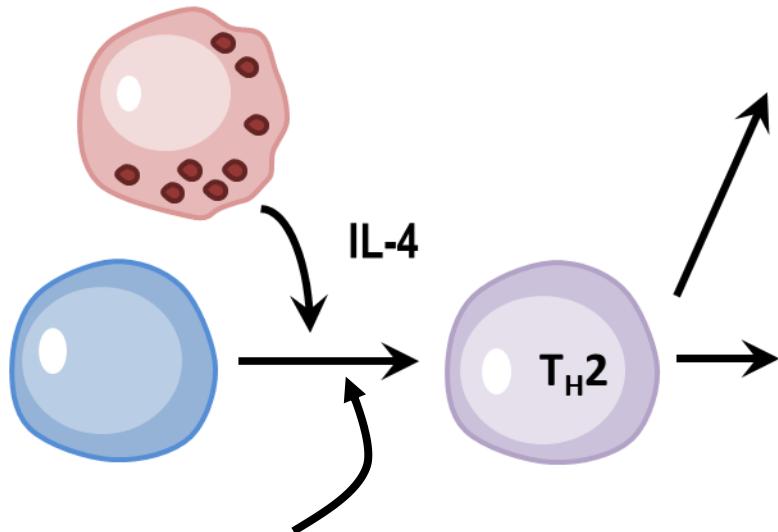


Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H2: Respuesta antiparasitaria

Helmintos



Glucanos, lipoproteínas, proteasas y ribonucleasas de los parásitos estimulan a los mastocitos, basófilos y células NKT a producir IL-4



- Dentro del ganglio linfático, estimulan a que las células B activadas por el parásito sufran cambio de isotipo hacia IgE
- En el tejido periférico:
 - promueven la degranulación de mastocitos
 - estimulan las secreciones mucosas
 - estimulan el peristaltismo

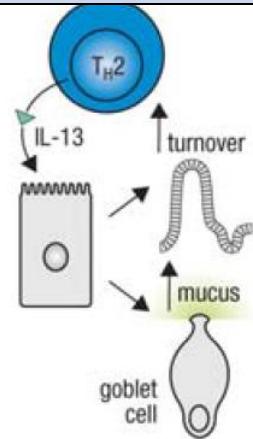
TSLP
(producido por el epitelio mucoso)

Promueven la expulsión del parásito

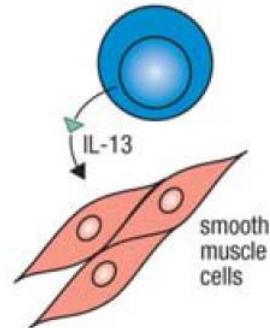
Mecanismos efectores de las células T_H2 frente a infecciones por helmintos



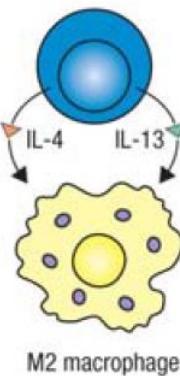
T_H2 producen IL-13 que induce reparación epitelial y secreción de moco



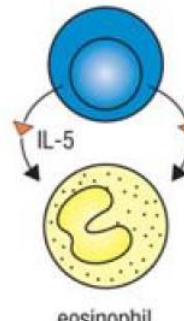
IL-13 producida por las T_H2 incrementa la contracción del músculo liso potenciando la expulsión de la larva



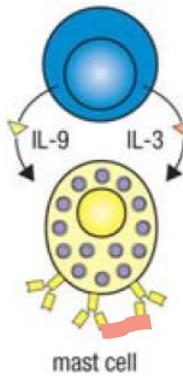
T_H2 promueven la generación de macrófagos M2



La IL-5 producida por las T_H2 promueve el reclutamiento y activación de eosinófilos



Las T_H2 dirigen el reclutamiento de mastocitos vía IL-3 e IL-9. Estas células unen IgE específica de Ags del parásito y liberan mediadores que remodelan la mucosa



Incrementado turnover celular contribuye a la eliminación de células epiteliales parasitadas
Moco impide la adherencia y favorece la expulsión del parásito

La contracción incrementada del músculo liso potencia la expulsión del parásito

Productos de los M2 incrementan la contracción del músculo liso y potencian la reparación del tejido

Los eosinófilos son efectores de la CCDA, liberando mediadores que son tóxicos para el parásito

Los mastocitos tras degranularse liberan mediadores que promueven el reclutamiento de eosinófilos y monocitos y el remodelado de la mucosa

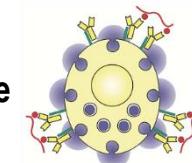
Mecanismos efectores mediados por los linfocitos T_H2: Participación en el desarrollo de procesos alérgicos y del asma

Alérgeno

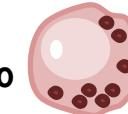


T_H2

IL-9: Induce mastocitosis, incrementando el reclutamiento de mastocitos en el sitio de ingreso del antígeno.



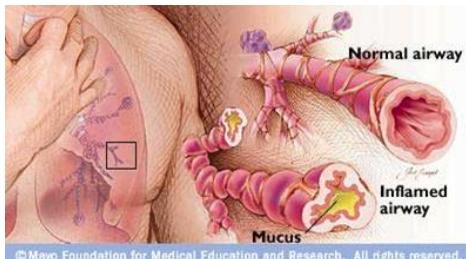
IL-5: Induce eosinofilia, incrementando la disponibilidad de eosinófilos que pueden acceder al sitio de ingreso del antígeno



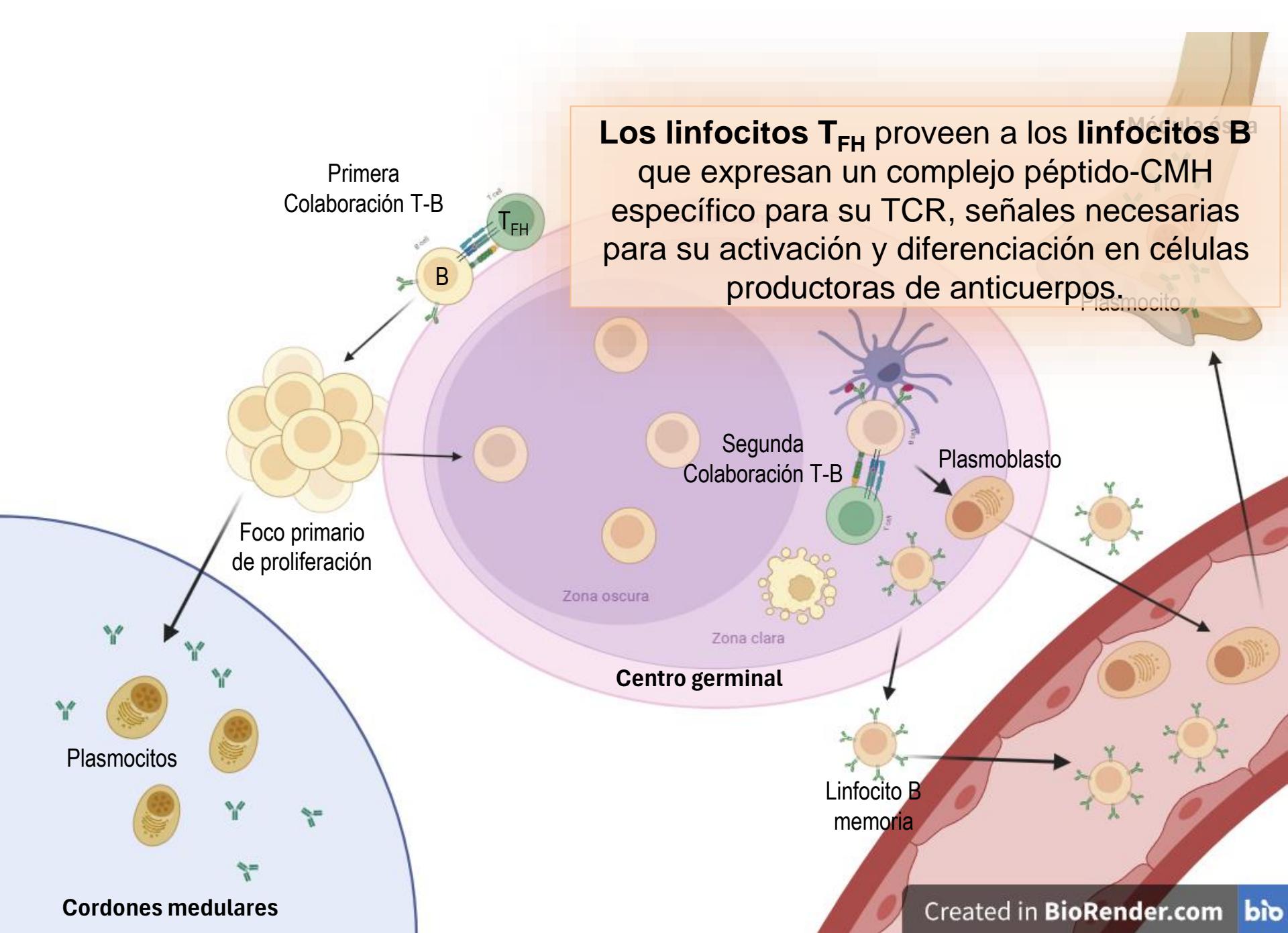
IL-4/IL-9/IL-13: Estimulan la producción de moco por células secretoras del epitelio que tapiza el órgano donde se está desarrollado la respuesta



IL-4/IL-13 Inducen hiperplasia de células epiteliales, fibrosis subepitelial y proliferación de células musculares lisas

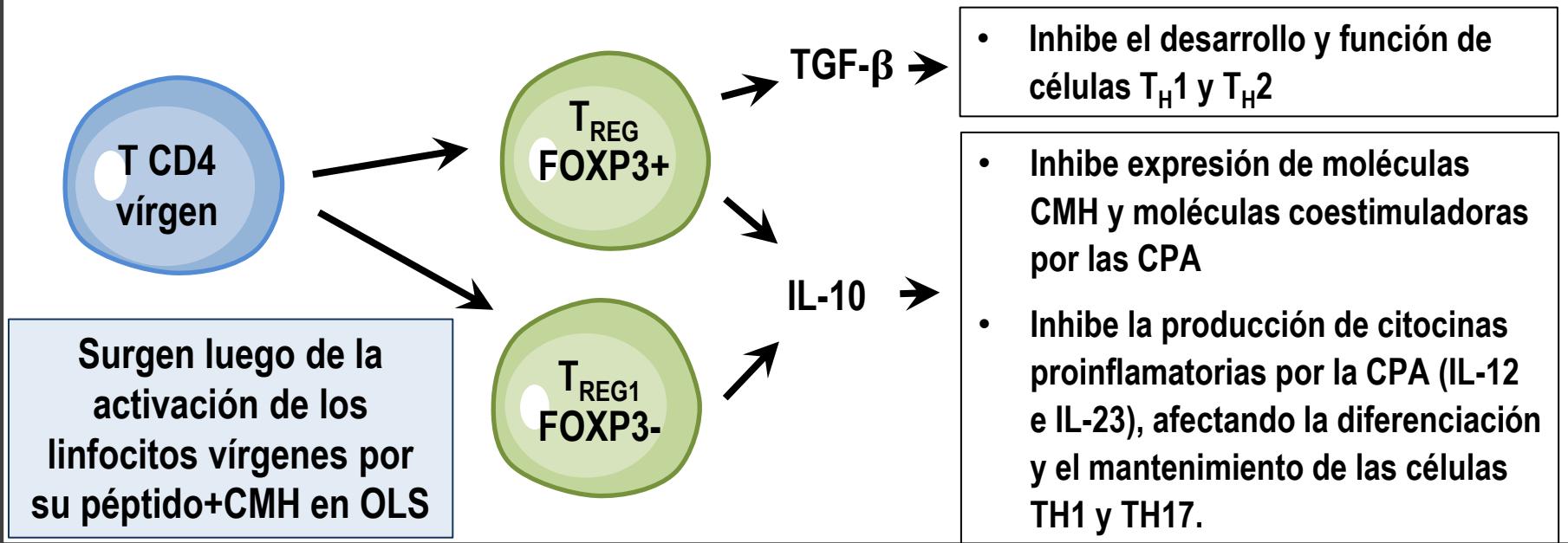


Tejido

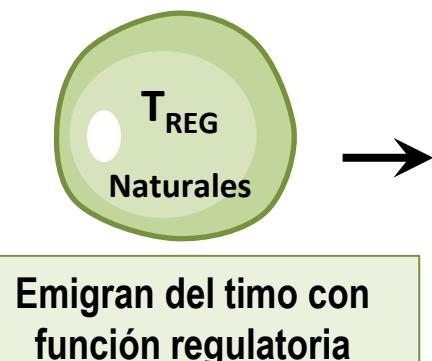


Mecanismos efectores de las células T regulatorias

T_{REG} inducibles: Limitan el daño colateral de tejidos asociado a respuestas inflamatorias intensas frente a microorganismos patogénicos y a la flora comensal



T_{REG} Naturales



Gracias!