

Fisiopatologia da dermatite de contato alérgica: papel das células T CD8 efetoras e das células T CD4 regulatórias*

*Update on the pathophysiology with special emphasis on CD8 effector T cells and CD4 regulatory T cells**

Ana Hennino¹
Pierre Saint-Mezard⁴
Jean-François Nicolas⁷

Marc Vocanson²
Bertrand Dubois⁵

Cyril Chavagnac³
Dominique Kaiserlian⁶

Resumo: A dermatite de contato alérgica (DCA), também conhecida como hipersensibilidade de contato (HSC) é uma das dermatoses inflamatórias mais freqüentes, sendo caracterizada por eritema, pápulas e vesículas, seguidas de ressecamento e descamação. A DCA é induzida pelo contato da pele com substâncias químicas não protéicas denominadas haptenos, e corresponde a uma reação de hipersensibilidade cutânea do tipo tardio, mediada por células T hapteno-específicas. Durante a fase de sensibilização, tanto os precursores de células T CD4+ quanto os de CD8+ são ativados nos linfonodos de drenagem através da apresentação de peptídeos conjugados a haptenos pelas células dendríticas (CD) da pele. A subsequente exposição de pele ao hapteno em um local a distância induz o recrutamento e ativação de células T específicas no local de provocação, levando à apoptose dos queratinócitos, recrutamento de células inflamatórias e desenvolvimento de sintomas clínicos. Estudos experimentais dos últimos 10 anos demonstraram que, em respostas normais de HSC a haptenos fortes, as células T CD8+ do tipo 1 são efetoras da HSC através de citotoxicidade e produção de IFN γ , enquanto que as células T CD4+ são dotadas de funções de regulação negativa. Estas últimas podem corresponder à população de células T regulatórias CD4+ CD25+ recentemente descritas. Entretanto, em algumas situações, especialmente naquelas em que há um pool deficiente de células T CD8, as células T CD4+ podem ser efetoras da HSC. Estudos em andamento deverão confirmar que a fisiopatologia da DCA em humanos é semelhante à HSC em camundongos, e que a resposta de HSC a haptenos fracos comuns, mais freqüentemente envolvidos na DCA em humanos, é semelhante à descrita para haptenos fortes.

Palavras-chave: Apoptose; Dermatite alérgica de contato; Inflamação; Pele

Abstract: Allergic contact dermatitis (ACD) referred to as contact hypersensitivity (CHS) is one the most frequent inflammatory skin diseases characterized by redness, papules, and vesicles, followed by scaling and dry skin. ACD is elicited upon skin contact with non-protein chemicals called haptens and corresponds to a cutaneous delayed-type hypersensitivity reaction, mediated by hapten-specific T cells. During the sensitization phase, both CD4+ and CD8+ T cell precursors are activated in the draining lymph nodes by presentation of haptened peptides by skin dendritic cells (DC). Subsequent hapten painting on a remote skin site induces the recruitment and activation of specific T cells at the site of challenge leading to apoptosis of keratinocytes, recruitment of inflammatory cells and development of clinical symptoms. Experimental studies from the last 10 years have demonstrated that, in normal CHS responses to strong haptens, CD8+ type 1 T cells are effector cells of CHS through cytotoxicity and IFN γ production while CD4+ T cells are endowed with down-regulatory functions. The latter may correspond to the recently described CD4+ CD25+ regulatory T cell population. However, in some instances, especially those where there is a deficient CD8 T cell pool, CD4+ T cells can be effector cells of CHS. Ongoing studies will have to confirm that the pathophysiology of human ACD is similar to the mouse CHS and that the CHS response to common weak haptens, most frequently involved in human ACD, is similar to that reported for strong haptens.

Keywords: Apoptosis; Dermatitis, allergic contact; Inflammation; Skin

Recebido em 22.06.2005.

Aprovado pelo Conselho Editorial e aceito para publicação em 11.07.2005.

* Trabalho realizado no Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM

¹ PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 503, Lyon, França

² MD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 503, Lyon, França

³ MD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 503, Lyon, França

⁴ PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 503, Lyon, França

⁵ PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 404, IFR 128 Biosciences Lyon-Gerland, Lyon - França

⁶ PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 404, IFR 128 Biosciences Lyon-Gerland, Lyon - França

⁷ MD, PhD, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM U 503, Lyon, França; Unité Immunologie Clinique et Allergologie, Lyon-Sud, Pierre - Bénite - França

INTRODUÇÃO

A dermatite de contato é uma dermatose inflamatória freqüente nos países industrializados, com grande impacto socioeconômico, sendo uma das doenças ocupacionais mais comuns.¹⁻³ Uma vez que é a barreira mais externa do corpo humano, a pele é a primeira a entrar em contato com fatores químicos e físicos provenientes do meio ambiente. De acordo com os mecanismos fisiopatológicos envolvidos, podem-se distinguir dois tipos de dermatite de contato. A *dermatite de contato irritativa* é decorrente dos efeitos tóxicos e pró-inflamatórios de xenobióticos capazes de ativar a imunidade inata da pele. A *dermatite de contato alérgica* requer a ativação da imunidade adquirida antígeno-específica levando ao desenvolvimento de células T efectoras, que são mediadoras da inflamação cutânea. É caracterizada por eritema, pápulas e vesículas, seguidas de ressecamento e descamação.¹⁻³

A dermatite de contato alérgica (DCA), também conhecida como hipersensibilidade de contato (HSC), é uma reação inflamatória cutânea mediada por células T decorrente de contatos repetidos da pele com substâncias químicas não protéicas, denominadas haptenos.¹⁻⁴ Diferentemente do que ocorre com a hipersensibilidade do tipo tardia (HTT) clássica, que requer a injeção intradérmica de proteína exógena, a iniciação da HSC é gerada pela aplicação tópica de haptenos sensibilizantes na epiderme (como níquel, cromo, DNFB, TNCB e oxazolina). Estudos dos últimos 10 anos enfatizaram que as células T CD8+ são as principais células efectoras da HSC, enquanto as células T CD4+ comportam-se como reguladoras negativas.⁵⁻⁷ É importante salientar que ainda há alguma controvérsia quanto às células T CD8+ serem efectoras da HSC em todas as cepas de camundongos e para todos os tipos de haptenos.⁸ Analogamente, a contribuição relativa das células T CD4+ e CD8+ na DCA em humanos ainda não está clara.⁹ Sabe-se agora que as células T CD8+ são mediadoras das respostas de HTT na dermatite de contato alérgica, erupções a droga, asma e doenças auto-imunes.¹⁰ A diferença entre as células CD8+ e as CD4+ mediadoras de HTT pode estar relacionada aos mecanismos moleculares pelos quais os antígenos são processados e apresentados às células T. Os antígenos exógenos são fagocitados e processados nas moléculas do CHP (complexo de histocompatibilidade principal) classe II (por exemplo, o HLA-DR) para apresentação às células T CD4+. Em contraste, os antígenos citoplasmáticos são processados pela via endógena nas moléculas do CHP classe I (por exemplo, o HLA-A, B e C) para

apresentação às células T CD8+. Alérgenos externos também podem entrar na via endógena para serem apresentados às células T CD8+, incluindo muitos sensibilizantes de contato, alérgenos respiratórios químicos e protéicos, antígenos virais, metabólitos de drogas e auto-antígenos. Os haptenos também são capazes de interagir diretamente com peptídeos já presentes no sulco das moléculas de CHP classes I e II.⁴ Desta forma, as células T CD8+ e CD4+ poderiam ser ativadas nos linfonodos por células apresentadoras de antígenos (CAA) expressando peptídeos conjugados a haptenos apresentados na fenda das moléculas de CHP classes I e II, respectivamente.

1. FISIOPATOLOGIA DA HIPERSENSIBILIDADE DE CONTATO - Esquema geral

Os conhecimentos sobre a fisiopatologia da DCA são derivados principalmente de modelos animais nos quais a inflamação cutânea induzida pela exposição da pele ao hapteno é conhecida como hipersensibilidade de contato (HSC). Duas fases dissociadas têmporo-espacialmente são geralmente necessárias para atingir uma reação de HSC máxima: as fases de sensibilização e de indução (Figura 1). Descrevemos a seguir os mecanismos fisiopatológicos bem estabelecidos de HSC e de DCA. A fase de sensibilização (também conhecida como fase aferente) ocorre ao primeiro contato da pele com o hapteno e leva ao "priming" e à expansão de células T hapteno-específicas nos linfonodos. O hapteno aplicado topicamente é captado pelas células dendríticas (CD) cutâneas, especialmente as células de Langerhans (CL), que migram da epiderme para a região paracortical dos linfonodos de drenagem, onde apresentam complexos de moléculas de CHP/peptídeo conjugado a hapteno aos precursores de células T hapteno-específicas. Células T específicas emigram dos linfonodos e atingem o sangue através do ducto torácico e recirculam no sangue e órgãos linfóides secundários. A fase de indução ocorre algumas horas após um contato subsequente da pele com o mesmo hapteno, que induz a produção de quimiocinas, a ativação de células endoteliais e mastócitos, e a infiltração de neutrófilos, todos necessários para o recrutamento de células T específicas. As células T interagem com células cutâneas apresentadoras de antígeno portadoras de hapteno. As células T CD8+ citotóxicas ativadas produzem citocinas tipo 1 (IFN γ) e induzem a ativação de células cutâneas e a apoptose dos queratinócitos, levando à amplificação da inflamação cutânea através da produção de todo um conjunto de citocinas

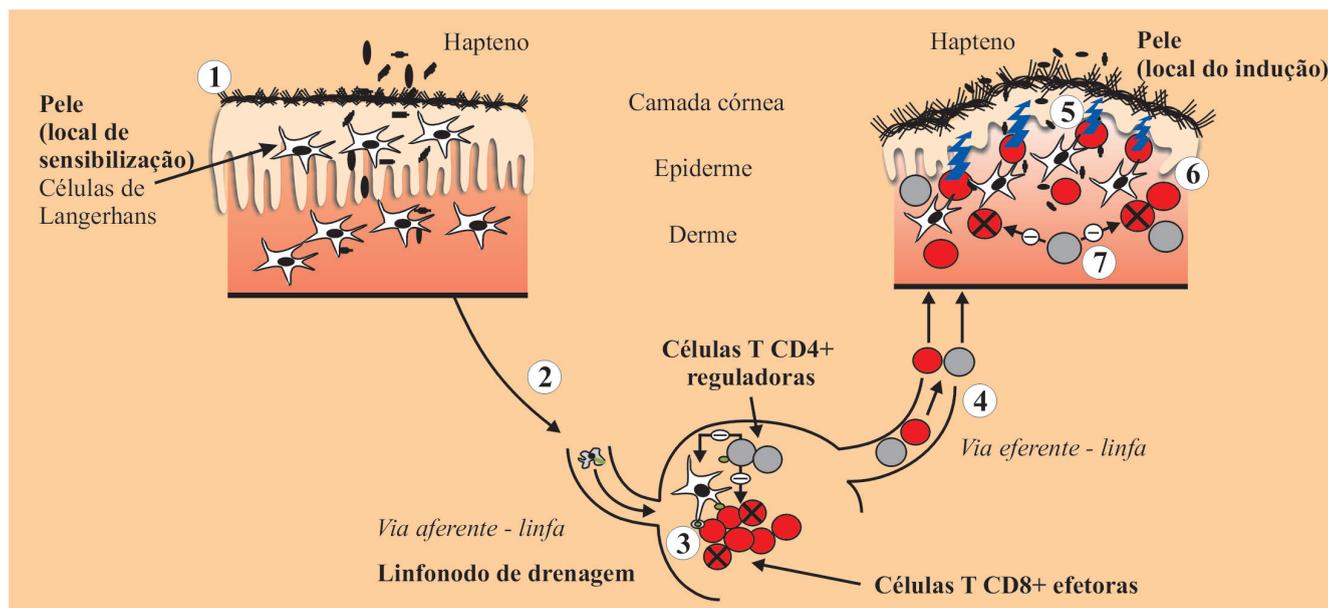


FIGURA 1: Fisiopatologia da dermatite de contato alérgica

Fase de sensibilização (fase aferente). Os haptens penetram na epiderme (passo 1) e são captados pelas células epidérmicas incluindo as CD que migram para os linfonodos de drenagem (passo 2), onde apresentam peptídeos conjugados a haptens às células T CD8+ efetoras e às T CD4+ reguladoras negativas (passo 3). Precursoras de células T específicas expandem-se clonalmente nos linfonodos de drenagem, recirculam pelo sangue e migram aos tecidos, inclusive a pele (passo 4).

Fase de indução (fase de provocação, fase eferente). Quando o mesmo hapteno é aplicado sobre a pele, ele é captado pelas células epidérmicas, inclusive as CD e os queratinócitos (passo 5), que apresentam peptídeos conjugados a haptens a células T específicas. A ativação de LTCs CD8+ induz a apoptose dos queratinócitos e a produção de citocinas e quimiocinas pelas células cutâneas (passo 6), o que leva ao recrutamento de leucócitos do sangue para a pele. As células T CD4+ podem bloquear a ativação/expansão dos efetores CD8+ nos linfonodos durante a sensibilização, e na pele durante a fase de indução da HSC (passos 3 e 7).

e quimiocinas, sendo que estas últimas permitem o recrutamento de um infiltrado celular polimorfo característico de HSC. Esta fase eferente da HSC dura 72 horas em humanos e 24 a 48 horas em camundongos. A reação inflamatória persiste durante vários dias e diminui progressivamente mediante mecanismos de regulação negativa fisiológicos.

2. HSC A HAPTENOS EXPERIMENTAIS FORTES

A grande maioria dos dados disponíveis sobre HSC foi obtida com sensibilizantes fortes, tais como DNFB, DNCB, TNP e oxazolina, que possuem propriedades imunoquímicas ímpares: i) eles representam uma minoria de substâncias químicas entre milhares capazes de induzir DCA em humanos; ii) são dotados de propriedades pró-inflamatórias potentes, conhecidas como irritação, devidas à toxicidade da substância química. Essa toxicidade fornece um sinal de perigo ao sistema imune inato da pele, levando à produção de citocinas inflamatórias (IL-1, TNF) e de quimiocinas pelas células cutâneas, e à ativação de CD cutâneas que podem iniciar seu processo de maturação e

emigrar para os linfonodos de drenagem. A maturação das CD e migração até os linfonodos é mandatória para a iniciação da HSC, e várias citocinas, quimiocinas e seus receptores, entre os quais o CCL21 e seu ligante CCR7, são importantes neste processo.¹¹

É importante salientar que os haptens fortes podem induzir uma DCA primária, ou seja, uma reação imune hapteno-específica após um único contato cutâneo, que tem a mesma fisiopatologia da reação HSC clássica obtida com duas exposições cutâneas ao hapteno.¹² A ocorrência de HSC após exposição única ao hapteno poderia ser explicada pela persistência de haptens na pele durante vários dias após a exposição, permitindo o recrutamento de células T específicas no local de sensibilização da pele. Assim, os haptens fortes, através de sua toxicidade, enviam sinais de perigo capazes de ativar potentemente a imunidade inata que permite o desenvolvimento de uma imunidade hapteno-específica robusta e rápida.

Alternativamente, os haptens mais frequentemente encontrados, classificados de moderados, fracos ou muito fracos, são muito menos irritantes

que os haptenos fortes, e podem não ter a mesma capacidade de ativar as células imunes inatas (vide item 3).

2.1. As células T CD8+ são efectoras, enquanto as CD4+ comportam-se como reguladoras

A contribuição respectiva das células T CD4+ e CD8+ na HSC tem sido analisada através de diferentes estratégias: i) depleção *in vivo* de camundongos normais com anticorpos monoclonais (mAbs) anti-CD4 e anti-CD8; ii) transferência de células T CD4+ e CD8+ de camundongos sensibilizados para camundongos Rag^o imunoincompetentes; iii) uso de camundongos com CHP classe I^o (deficientes em células T CD8+) ou com CHP classe II^o (deficientes em células T CD4+); iv) transferência de CD ligadas a hapteno de camundongos com CHP classe I^o ou II^o para induzir HSC em receptores não anteriormente expostos. Camundongos geneticamente deficientes em moléculas CD4 ou CD8 (CD4^o ou CD8^o) não representam modelos relevantes de deficiência de células T CD4+ ou CD8+, e os resultados obtidos com esses camundongos serão discutidos posteriormente (vide item 4.2).

Experimentos de transferência adotiva primeiro destacaram que a HTT à proteína era transferível para receptores pareados com CHP classe II, ao passo que a transferência de HSC requeria receptores pareados classe I.¹³ Usando a depleção *in vivo* de subpopulações de células T CD4+ e CD8+, Gocinski e Tigelaar foram os primeiros a sugerir que as células T CD8+ podiam mediar a resposta de HSC a DNFB e outros haptenos fortes.¹⁴ Posteriormente mostraram que as células T CD4+ eram dotadas de atividade reguladora negativa, uma vez que a reação de HSC era exacerbada após a depleção *in vivo* das células T CD4+.

Bour et al. usaram outra abordagem para estudar a contribuição das subpopulações de células T CD4+ e CD8+, avaliando a HSC em camundongos nocauteados (KO) para CHP classe I e CHP classe II, que são deficientes em células CD8+ e CD4+, respectivamente.¹⁵⁻¹⁷ De fato, as células T CD4+ desenvolvem-se durante a ontogenia através da interação com CAAs tímicas expressando moléculas de CHP classe II. Assim, na ausência de moléculas de CHP classe II, os precursores tímicos não podem se diferenciar em células CD4+ e, portanto, a maioria das células T maduras circulantes é do tipo CD8+. Da mesma forma, devido à falta de seleção positiva de células T CD8+ em camundongos deficientes em CHP classe I, as células T CD4+ constituem a grande maioria das células T periféricas maduras. Surpreendentemente, os camundon-

gos classe I^o não desenvolveram nenhuma resposta de HSC a DNFB, indicando que as células T CD8+ eram mandatórias para o desenvolvimento da patologia. Uma vez que esses camundongos I^o possuem número e funções normais de células T CD4+ e podem desenvolver uma reação de HTT clássica a aloantígenos e antígenos protéicos,¹²⁻¹⁴ esses dados demonstraram que as células T CD4+ não são mediadoras da reação de HSC a DNFB. Por outro lado, camundongos classe II^o desenvolveram uma reação de HSC exacerbada com inflamação cutânea crônica, e a depleção *in vivo* de células T CD8+ nos camundongos com esse CHP resultou em anulação completa da HSC. Mais que isso, os efetores CD8+ hapteno-específicos foram capazes de se desenvolver sem o auxílio de células T CD4+. De fato, as células T CD4+ não são necessárias para o "priming" de células T CD8+ em camundongos II^o, e a presença de células T CD4+ tem um efeito negativo sobre a intensidade da resposta de HSC mediada por células T CD8+.¹⁵⁻¹⁸ Assim, outra informação importante desses estudos foi a caracterização de células T CD4+ restritas a CHP classe II como células de regulação negativa da HSC. A maioria dos dados resumidos acima foi obtida com DNFB em camundongos C57BL/6 (H2b)¹⁵⁻¹⁹ e BALB/c (H2d).²⁰ Resultados semelhantes foram obtidos com outros haptenos fortes como a oxazolina,^{20,21} DMBA²² e TNP.^{18,23} Assim, esses achados indicaram que existe uma dicotomia funcional entre as células T CD8+ e as CD4+, que se comportam como células efectoras e reguladoras, respectivamente, na HSC a haptenos fortes.

Uma das propriedades dos haptenos quimicamente reativos é sua capacidade de gerar determinantes imunogênicos simultaneamente para células T CD8+ e CD4+ hapteno-específicas. Como será discutido posteriormente (item 5), as células T CD4+ podem ser efectoras da HSC ao TNP em caso de deficiência de células T CD8+. A razão pela qual as células efectoras da HSC estão confinadas apenas ao pool de células T CD8+ em camundongos normais foi recentemente explicada nos estudos de Martin S et cols, que mostraram que as células T CD8+ induzem apoptose mediada por Fas das células T CD4+, evitando, portanto, o "priming"/a expansão de células T CD4+ hapteno-específicas durante a fase de sensibilização da HSC.²⁴

2.2. "Priming" de CD8+ e CD4+ específicos em órgãos linfóides durante a fase de sensibilização da HSC

Células CD8+ tipo 1 e CD4+ tipo 2

O tempo ideal entre a exposição ao hapteno e o "priming" de células T é de 5 dias em camun-

dongos. Nesse momento, as células T recuperadas de linfonodos são dotadas de potentes atividades proliferativas.^{19,25} A análise da produção de citocinas por subpopulações de células T CD4 e CD8 após reestimulação *in vitro* por CAAs conjugadas a hapteno mostrou que as células T CD8+ produzem citocinas tipo 1, principalmente IFN γ , enquanto as células T CD4+ produzem citocinas tipo 2, incluindo IL-4, IL-5 e IL-10.²¹ A análise da frequência de células T CD8+ DNFB-específicas através de IFN γ ELISPOT mostrou uma média de 50 precursores de células T CD8+/10⁵ células de linfonodos no dia 5 após a sensibilização, um número semelhante ao encontrado em outras respostas imunes antígeno-específicas.²⁶

Restrição do CHP de células T hapteno-específicas

Pesquisadores de diferentes grupos forneceram evidências de que a apresentação de haptenos a células T na HSC era restrita ao CHP, e, portanto, semelhante à apresentação de antígenos protéicos na HTT clássica.^{18,23} A imunização de camundongos com CD pulsadas com hapteno recuperadas da epiderme ou derivadas de precursores da medula óssea é capaz de levar ao estímulo de células T específicas que proliferam em respostas secundárias ao DNFB. Procedimentos de imunização usando CD recuperadas de camundongos deficientes em CHP classe I ou classe II confirmaram os efeitos funcionais opostos de pools de células T CD8 e CD4.¹⁹ Nesses experimentos, as CD expressando CHP classe I (tanto de camundongos normais quanto de camundongos com CHP I+/II-) induziram o "priming" de células T CD8+ nos linfonodos (avaliada por proliferação específica) e a reação de HSC mediante provocação subsequente. De modo inverso, a imunização por CD sem moléculas de CHP classe I (recuperadas de camundongos deficientes em CPH classe I) foi ineficiente em induzir uma reação de HSC, mas foi capaz de levar ao estímulo das células T CD4+. De fato, as células T CD4+ purificadas de linfonodos desses camundongos eram hapteno-específicas, como foi avaliado em respostas proliferativas secundárias.¹⁹ Esses resultados foram confirmados por um estudo recente em camundongos não geneticamente modificados, usando CD derivadas de medula óssea, pulsadas com peptídeos derivados de trinitrofenil (TNP), e administradas intradermicamente para gerar uma reação de HSC. Foram usados dois tipos de peptídeos que possuem afinidade tanto por peptídeos com CHP classe I ou II. Martin et cols mostraram que os peptídeos ligantes classe I induziram respostas de HSC semelhantes à obtida com a aplicação epicutânea de TNP. Em contraste,

CDs pulsadas com peptídeos ligantes classe II não sensibilizaram para uma HSC máxima.²⁷ Baseados nesses fatos, Cavani et cols especularam que a capacidade de haptenos químicos em impelir a ativação das células T CD8+ pode estar associada com sua capacidade de ligarem-se diretamente a peptídeos próprios presentes na fenda das moléculas de CHP classe I ou II.⁶

O "priming" de células T CD8+ não requer auxílio de células T CD4+

Classicamente, a ativação máxima de células T CD8+ não previamente expostas requer sinais recebidos por células T CD4+, conhecidos como auxílio das células T CD4+. Durante a HSC a haptenos fortes, a ativação de células T CD8+ em linfonodos não requer o auxílio de células T CD4+, nem a contribuição da interação de CD40/CD40-L, uma vez que camundongos deficientes em CD40-L desenvolvem uma HSC normal a DNFB.²⁸ Camundongos com deficiência de células T CD4+ induzida tanto por tratamento *in vivo* com mAb anti-CD4 0 por ruptura dos genes de CHP classe II (camundongos KO para CHP classe II) desenvolvem uma forte resposta de HSC a haptenos.¹⁹ O fato de que a HSC pode se desenvolver na ausência de células T CD4+ restritas à classe II foi posteriormente confirmado pela observação de que a HSC poderia ser induzida por imunização com CDs sensibilizadas previamente com haptenos de camundongos classe II^o,¹⁹ e com CDs de camundongos selvagens pulsadas com peptídeos de CHP classe I conjugados a hapteno.²⁷

Outros estudos sobre respostas de HTT induzidas por vírus indicaram que a ativação de células T CD8+ não previamente expostas para a geração de respostas imunes restritas a CHP classe I podem ocorrer sem o auxílio de células T.^{29,30} Recentemente, foi demonstrado que o principal parâmetro que determinava a necessidade ou não do auxílio de CD4 foi o número de precursores de LTC que poderiam ser ativados no momento do "priming".^{31,32} As respostas de LTC induzidas por "priming" cruzado podem ser convertidas de CD4-dependentes para CD4-independentes aumentando-se a frequência de precursores de LTC. Na ausência de células T CD4, um grande número de precursores de LTC foram capazes de se expandir e se tornar LTCs efetoras.³² A capacidade de altas frequências de células T CD8 em dispensar ajuda não foi devida a sua capacidade de sinalizar CD40 via expressão de CD154. Esses achados sugerem que quando as frequências de precursores são altas, o "priming" das respostas de células T CD8 pode não requerer o auxílio de células T CD4. Outra explicação para o desenvolvimento de células efetoras

CD8+ é a de que antígenos que possuem a capacidade intrínseca de induzir a maturação de CD dispensam a necessidade de auxílio de CD4 via ativação de CD40.³³ De fato, camundongos depletados de células T CD4+ podem ser estimulados para respostas de LTC por transferência de CD pulsadas por antígenos, ativadas por LPS. Na HSC, a maturação das CD induzida por haptenos com forte capacidade inflamatória pode dispensar a necessidade de auxílio de CD4 via interação de CD40/CD40-L, e pode ser suficiente para desencadear respostas de LTC específicas com uma alta frequência de precursores.

2.3. A fase de indução da HSC é devida ao recrutamento e ativação de células T citotóxicas (LTCs) CD8+

Uma vez que a principal função das células T CD8+ é a citotoxicidade, a observação de que a HSC era mediada por células CD8+ levantou a possibilidade de que a citotoxicidade fosse mandatória para a expressão da HSC. Os LTCs CD8+ são células efetoras do sistema de defesa imune contra vírus e tumores,³⁴ e exercem suas funções líticas através de dois mecanismos independentes principais.³⁵ A via secretora envolve a liberação de perforina e granzimas dos grânulos citolíticos. A via não secretora envolve a interação de Fas-L regulado positivamente durante a ativação de células T, com a molécula Fas indutora de apoptose na célula alvo.

Embora camundongos deficientes tanto em perforina (p°/p°) como em Fas-L (mutante *gld*) fossem igualmente capazes de desenvolver uma resposta de HSC normal a DNFB, e contivessem LTCs CD8+ hapteno-específicos capazes de matar alvos conjugados a haptenos, os camundongos duplamente deficientes em Fas-L e perforina não possuíam LTCs CD8+ e não foram capazes de desenvolver HSC. Isto demonstrou que a citotoxicidade era necessária para o desenvolvimento do processo patológico e que uma via citotóxica poderia compensar a ausência da outra.²⁶ A contribuição dos LTCs à fase efetora da HSC foi posteriormente demonstrada através da análise da pele no local de provocação com o hapteno. Akiba et cols demonstraram que as células T CD8+ eram capazes de infiltrar a pele provocada 9 horas após a exposição da pele e que a cinética do recrutamento de CD8 era paralela ao surgimento de transcriptos de IFN γ e à apoptose das células epidérmicas.²⁰ A dupla coloração para as células com CHP classe II e apoptóticas (coloração de TUNEL) mostrou que os queratinócitos eram o principal alvo dos LTCs. Assim, as células T CD8+ são dotadas de atividade citotóxica *in vivo*, e os queratinócitos comportam-se como célu-

las apresentadoras de antígenos durante a fase de indução da HSC. Ainda não se sabe se outros tipos celulares contribuem para a ativação *in situ* de LTCs hapteno-específicos. De fato, os haptenos difundem-se rapidamente através da epiderme e poderiam ser apresentados como peptídeos conjugados a haptenos por vários tipos celulares expressando a classe I na derme, incluindo as CD, células endoteliais e mastócitos, que poderiam contribuir para a ativação de efetores CD8 recrutados na pele. A esse respeito, Biederman et cols relataram que o recrutamento de neutrófilos via MIP-2 produzido exclusivamente por mastócitos ativados era necessário para o desenvolvimento de HSC.³⁶

Estudos recentes trouxeram uma nova compreensão dos passos precisos que levam ao recrutamento de células T efectoras na pele mediante provocação por hapteno. A equipe de P. Askenase mostrou que a indução da HSC começa por uma reação cutânea inflamatória inata, que é máxima 2 horas após a provocação, chamada de fase de iniciação da HSC, que é seguida de uma reação semelhante à HTT clássica, máxima entre 24-48 horas, conhecida como fase efetora da HSC.³⁷ A fase de iniciação da SC é devida à ligação do hapteno a anticorpos IgM específicos produzidos rapidamente após a sensibilização por células B1-B. Os complexos imunes hapteno-IgM ativam o complemento levando à produção de C5a, que se comporta como um fator quimiotático para as células T.³⁸ Outras quimiocinas têm sido implicadas no recrutamento de células efectoras, entre as quais estão a IL-8, MCP-1 e RANTES.³⁹ O CXCL-1 ($Gro\alpha$) é produzido logo após 30 minutos da provocação e é responsável pela infiltração de neutrófilos na pele, passo mandatório para o recrutamento de células T efectoras.^{40,41}

A apoptose está envolvida em várias dermatoses, não estando restrita à HSC. Na DCA, vários relatos enfatizaram a existência de processos apoptóticos envolvendo a epiderme.⁵ Mais recentemente, Trautmann et cols demonstraram que as lesões cutâneas da dermatite atópica (DA) estavam associadas à ocorrência de apoptose em massa das células epidérmicas.⁴² Demonstraram também que na DA as células T de memória/efectoras portadoras do antígeno cutâneo associado ao linfócito (ACL) e CD45 RO submetem-se à morte celular induzida por ativação, desviando a resposta imune para as células Th2 sobreviventes.⁴⁵ Embora a contribuição dos LTCs na fisiopatologia da DA não seja conhecida com precisão, esses dados enfatizam que a apoptose das células epidérmicas é um padrão comum nas dermatoses eczematosas, e sugere que as drogas anti-apoptóticas possam ser novas ferramentas para o tratamento dessas doenças.⁴⁴

2.4. As células T CD4+ exercem uma regulação negativa sobre a reação de HSC

As células regulatórias são fundamentais na manutenção da tolerância periférica e no controle de respostas inflamatórias, e há relatos de que inibem o desenvolvimento das respostas autoimunes e imunoalérgicas em muitos modelos experimentais.^{6,45,46} Foram identificados três subpopulações principais de células T CD4+ regulatórias: i) clones de células Tr1 antígeno-específicas, que produzem grandes quantidades de citocina IL-10 imunossupressora; ii) células T CD4+ do tipo Th2 antígeno-específicas, que antagonizam as células T efetoras tipo 1 características da HSC; e iii) células T CD4+CD25+ que ocorrem naturalmente.

Os linfócitos T CD4+ comportam-se como células regulatórias negativas e mais provavelmente regulam tanto a fase de sensibilização quanto a de indução da HSC. A frequência de células T CD8+ produtoras de IFN γ hapteno-específicas nos linfonodos de drenagem cutânea no dia 5 após a sensibilização pelo hapteno é muito maior em camundongos deficientes em células T CD4+ do que em camundongos normais, sugerindo que as células T CD4+ controlam o desenvolvimento do pool de células T CD8+.⁴⁷ Também é possível que as células T CD4+ que migram para o local da provocação contribuam para o controle da inflamação e sua resolução.²⁰ De fato, na ausência de células T CD4+, os camundongos desenvolvem uma inflamação mais pronunciada e persistente.^{14,15,21,48} Além disso, as células T CD4+ são recrutadas na pele provocada várias horas após o recrutamento de células T CD8+.²⁰ Assim, as células T CD4+ regulatórias podem controlar a magnitude da HSC através da regulação *in situ* da ativação e das funções de LTC CD8+ efetoras.

As informações atualmente disponíveis sobre se uma subpopulação particular de células regulatórias está envolvida na regulação da HSC são limitadas. Células Tr1 níquel-específicas (que produzem grandes quantidades de IL-10) foram clonadas de lesões cutâneas de pacientes portadores de DCA, sugerindo que esta subpopulação de células regulatórias pode contribuir para a regulação da fase eferente da sensibilidade de contato.⁹ Evidência indireta para a implicação das células CD4+CD25+ vem da observação de que a proteína de fusão IL-2-IgG2b inibiu a HSC e aumentou o tamanho do compartimento de células T CD4+CD25+.⁴⁹ Nossos próprios dados, no modelo de HSC a DNFB, sustentam um papel das células T CD4+CD25+ regulatórias no controle da resposta inflamatória cutânea e no estabelecimento da tolerância oral a haptenos.⁴⁶ Entretanto, a con-

tribuição relativa das subpopulações de células T CD4+ regulatórias no controle da DCA e da HSC ainda carece de esclarecimento.

Os mecanismos através dos quais as células T CD4+ controlam o desenvolvimento de células T CD8 específicas e a magnitude da reação de HSC ainda são pouco compreendidos. Dados recentes obtidos por Gorbachev e Fairchild sugerem que as células T CD4+ possam regular as respostas de HSC através da eliminação de CAAs apresentadoras de hapteno em órgãos linfóides durante a fase de sensibilização em um mecanismo dependente de Fas-L.⁵⁰ A consequência disto seria um acesso limitado das células T CD8+ a CHP classe I/complexos de hapteno, e sinais co-estimulatórios fornecidos pelas CD durante o "priming" para a resposta de HSC.

3. HSC A HAPTENOS FRACOS COMUNS

Em contraste com a HSC contra haptenos fortes, há poucas informações sobre as células efetoras mediando a HSC a haptenos moderados, fracos e muito fracos. A principal razão é a falta de modelos animais reprodutíveis para esses haptenos fracos. De fato, as tentativas de desenvolver DCA a haptenos fracos em camundongos normais falharam até o momento. Várias hipóteses não mutuamente exclusivas poderiam explicar por que o contato cutâneo repetido com haptenos fracos não é capaz de induzir DCA: i) ao contrário dos haptenos fortes, os haptenos fracos não possuem propriedades pró-inflamatórias intrínsecas e, portanto, não podem emitir sinais de perigo mandatórios para a ativação, diferenciação e migração de CD cutâneas para os linfonodos de drenagem; ii) o contato da pele com haptenos fracos gera células T específicas sem funções efetoras, devido à sua baixa frequência e/ou à baixa afinidade de seus receptores de células T; iii) conseqüentemente, a HSC a haptenos fracos pode ser mais sensível a células T reguladoras/supressoras, o que poderia evitar de forma eficiente o "priming" de células T efetoras específicas.

Haptenos fortes, por exemplo, o DNCB e a oxazolina, são moléculas tóxicas capazes de emitir sinais de perigo às células cutâneas, resultando em inflamação tecidual dentro de minutos/horas após o contato cutâneo. Em contraste, os haptenos fracos são incapazes de induzir inflamação cutânea no local do contato, ou podem gerar apenas uma leve irritação na pele, mesmo quando utilizados em altas concentrações. Postulamos que a fisiopatologia da DCA a haptenos fracos é semelhante à da DCA a haptenos fortes e envolve efetores CD8 capazes de infiltrar a pele em indivíduos sensibilizados. Estudos em andamento em nosso laboratório estão atualmente testando esta hipótese.

4. CÉLULAS T CD4+ PODEM FUNCIONAR COMO EFETORES DE HSC EM DETERMINADAS SITUAÇÕES

Embora a maioria dos estudos recentes enfatize que as células T CD8+ sejam os principais efetores mediando a HSC, é possível que as células T CD4+ e outros tipos celulares possam agir como efetores de HSC em determinadas condições experimentais.

4.1. Particularidade de algumas substâncias químicas

Postula-se que algumas substâncias químicas, por exemplo, o isotiocianato de fluoresceína (ITCF) e o formaldeído, provoquem a produção preferencial de citocina tipo 2 pelas células T CD4+, que já foram demonstradas como mediadoras da reação de HSC.^{51,52}

4.2. Camundongos deficientes em CD4

Os estudos de Kondo et cols e de Wang et cols concluíram que as células T CD4+ eram efetoras de HSC, mostrando que a HSC a DNFB e oxazolina era bastante comprometida em camundongos CD4^{0/0}, geneticamente deficientes em moléculas de CD4.^{53,54} A razão para a discrepância entre esses resultados e os relatados por outros pesquisadores está mais provavelmente nas importantes diferenças funcionais entre camundongos deficientes em CD4, depletados de células T CD4+ e camundongos deficientes em CHP classe II. De fato, apesar da ruptura do gene de CD4, os camundongos CD4^{0/0} contêm células duplamente negativas CD4- CD8- exercendo as funções normais das células T CD4+ encontradas em camundongos normais. A esse respeito, foi mostrada a ocorrência de maturação tímica eficiente das células T helper em camundongos CD4^{0/0}. De fato, as células CD4^{neg} TCR $\alpha\beta$ + de camundongos CD4^{0/0} permitem que eles controlem infecções por *Leishmania*, sejam mediadoras da mudança de classe de anticorpos e da reação HTT a KLH.⁵⁵⁻⁵⁷ Assim, embora os camundongos CD4^{0/0} não expressem a molécula CD4, eles são capazes de desenvolver respostas restritas a CHP classe II, sugerindo que o co-receptor CD4 é dispensável para o reconhecimento eficiente de antígenos apresentados por moléculas de CHP classe II em células apresentadoras de antígenos.

4.3. As células T CD4+ podem ser efetoras em HSC a haptenos quando as células T CD8+ são deficientes

As células T CD4+ podem ser efetoras na HSC a alguns haptenos quando a população de células T CD8+ é deficiente. A evidência surgiu de estudos de Martin et cols que demonstraram inicialmente que as células dendríticas (CD) pulsadas com peptídeos derivados de TNP que têm afinidade por moléculas classe

II podiam induzir uma reação pequena, embora significativa, de HSC.²⁷ A seguir, utilizaram camundongos C57BL/6 e camundongos classe I^{0/0}, e estudaram a HSC a DNP e TNP. A HSC a DNP foi normal nos camundongos C57BL/6 e ausente nos camundongos classe I^{0/0}, como relatado anteriormente.¹⁵ O TNP foi capaz de induzir uma resposta de HSC nos C57BL/6 que foi inibida pela depleção *in vivo* das células T CD8+ usando-se mAbs específicos. Surpreendentemente, os camundongos classe I^{0/0} foram capazes de desenvolver uma reação de HSC normal ao TNP, que foi anulada pela depleção de células T CD4+.²⁴

4.4. Contribuição de outros tipos celulares na HSC

Além das células T com TCR $\alpha\beta$ + que representam efetores de HSC hapteno-específicos, mostrou-se que outras subpopulações de células linfóides contribuem para a complexa via que finalmente leva à resposta de HSC.^{58,59} As células B-1 são ativadas nos órgãos linfóides dentro de horas após a sensibilização cutânea e produzem anticorpos IgM. Esses anticorpos difundem-se na pele e se ligam ao hapteno imediatamente após a provocação. A presença de complexos imunes dá início à ativação do complemento que parece mandatória para o recrutamento de células T efetoras no local da provocação.⁶⁰ Dados recentes sugerem que o recrutamento de células T depende deste "processo de iniciação" antígeno-específico inicial da HSC, que é mediado pela ativação de células TNK hepáticas produtoras de IL-4. A imunização epicutânea causa um rápido e dramático aumento na percentagem de iTNK hepáticas que duplicam dentro de 2 horas e permanecem elevadas por até 24 horas.³⁷

Os neutrófilos desempenham um importante papel no desenvolvimento da HSC. Em sua ausência a HSC é reduzida. Segundo a literatura, estão envolvidos nas fases de iniciação e efetora da HSC da doença. Os neutrófilos estão entre as primeiras células a serem recrutadas após a provocação de camundongos sensibilizados através do efeito quimiotático de CXCL-1 (Gro α)⁴⁰ e aparecem antes da infiltração de células T CD8 efetoras. Uma vez que as células efetoras tenham sido ativadas, outro influxo de neutrófilos é secundário à ativação de mastócitos que produzem TNF α e CXCL-2 (MIP-2).³⁶

CONCLUSÕES

Em resumo, a DCA pode ser vista como o resultado da ativação de duas subpopulações distintas de células T dotadas de funções opostas: as células T efetoras e as regulatórias negativas. A gravidade e a duração da inflamação cutânea parecem diretamente relacionadas ao respectivo estado de ativa-

ção e/ou ao tamanho desses dois compartimentos. Assim, uma regulação dominante em indivíduos sensibilizados pode levar à falta de inflamação (tolerância) apesar de exposições repetidas ao hapteno, enquanto defeitos no número ou nas funções das células regulatórias podem explicar a dermatite de

contato crônica. Estudos posteriores deverão abordar a possibilidade de reverter uma DCA estabelecida tanto alvejando a população de células T efetoras, evitando o recrutamento de leucócitos na pele,³⁹ ou aumentando o número ou as propriedades funcionais das células T regulatórias. □

REFERÊNCIAS

1. Saint-Mezard P, Rosieres A, Krasteva M, Berard F, Dubois B, Kaiserlian D, et al. Allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol.* 2004; 14:284-95.
2. Blauvelt A, Hwang ST, Udey MC, Allergic and immunologic diseases of the skin. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111: S560-70.
3. Belsito DV. The diagnostic evaluation, treatment, and prevention of allergic contact dermatitis in the new millennium. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105:409-20.
4. Lepoittevin JP, Leblond I. Hapten-peptide T cell receptor interactions: molecular basis for the recognition of haptens by T lymphocytes. *Eur J Dermatol.* 1997; 7:151-4.
5. Krasteva M, Kehren J, Ducluzeau M-T, Sayag M, Cacciapuoti M, Akiba H, et al. Contact dermatitis I. Pathophysiology of contact sensitivity. *Eur J Dermatol.* 1999; 9:65-77.
6. Cavani A, Albanesi C, Traidl C, Sebastiani S, Girolomoni G. Effector and regulatory T cells in allergic contact dermatitis. *Trends Immunol.* 2001; 22:118-20.
7. Gorbachev AV, Fairchild RL. Regulatory role of CD4+ T cells during the development of contact hypersensitivity responses. *Immunol Res.* 2001;24: 69-77.
8. Watanabe H, Unger M, Tuvel B, Wang B, Sauder DN. Contact hypersensitivity: the mechanism of immune responses and T cell balance. *J Interferon Cytokine Res.* 2002; 22:407-12.
9. Girolomoni G, Sebastiani S, Albanesi C, Cavani A. T-cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy. *Curr Opin Immunol.* 2001;13:733-7.
10. Kalish RS, Askenase PW. Molecular mechanisms of CD8+ T cell-mediated delayed hypersensitivity: implications for allergies, asthma, and autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:192-9.
11. Cumberbatch M, Dearman RJ, Griffiths CE, Kimber I. Epidermal Langerhans cell migration and sensitisation to chemical allergens. *APMIS.* 2003; 111:797-804.
12. Saint-Mezard P, Krasteva M, Chavagnac C, Bosset S, Akiba H, Kehren J. Afferent and efferent phases of allergic contact dermatitis (ACD) can be induced after a single skin contact with haptens: evidence using a mouse model of primary ACD. *J Invest Dermatol.* 2003;120:641-7.
13. Sunday ME, Dorf ME. Hapten-specific T cell response to 4-hydroxy-3-nitrophenyl acetyl. X. Characterization of distinct T cell subsets mediating cutaneous sensitivity responses. *J Immunol.* 1981;127:766-8.
14. Gocinski BL, Tigelaar RE. Roles of CD4+ and CD8+ T cells in murine contact sensitivity revealed by in vivo monoclonal antibody depletion. *J Immunol.* 1990;144: 4121-8.
15. Bour H, Peyron E, Gaucherand M, Garrigue JL, Desvignes C, Kaiserlian D. Major histocompatibility complex class I-restricted CD8+ T cells and class II-restricted CD4+ T cells, respectively, mediate and regulate contact sensitivity to dinitrofluorobenzene. *Eur J Immunol.* 1995;25:3006-10.
16. Cosgrove D, Gray D, Dierich A, Kaufman J, Lemeur M, Benoist C, et al. Mice lacking MHC class II molecules. *Cell.* 1991; 66:1051-66.
17. Chan SH, Cosgrove D, Waltzinger C, Benoist C, Mathis D. Another view of the selective model of thymocyte selection. *Cell.* 1993; 73: 225-36.
18. Boulouc A, Cavani A, Katz SI. Contact hypersensitivity in MHC class II-deficient mice depends on CD8 T lymphocytes primed by immunostimulating Langerhans cells. *J Invest Dermatol.* 1998; 111:44-9.
19. Krasteva M, Kehren J, Horand F, Akiba H, Choquet G, Ducluzeau MT, et al. Dual role of dendritic cells in the induction and down-regulation of antigen-specific cutaneous inflammation. *J Immunol.* 1998; 160: 1181-90.
20. Akiba H, Kehren J, Ducluzeau MT, Krasteva M, Horand F, Kaiserlian D. Skin inflammation during contact hypersensitivity is mediated by early recruitment of CD8+ T cytotoxic 1 cells inducing keratinocyte apoptosis. *J Immunol.* 2002; 168:3079-87.
21. Xu H, DiIulio NA, Fairchild RL. T cell populations primed by hapten sensitization in contact sensitivity are distinguished by polarized patterns of cytokine production: interferon gamma-producing (Tc1) effector CD8+ T cells and interleukin (IL) 4/IL-10-producing (Th2) negative regulatory CD4+ T cells. *J Exp Med.* 1996;183:1001-12.
22. Anderson C, Hehr A, Robbins R, Hasan R, Athar M, Mukhtar H. Metabolic requirements for induction of contact hypersensitivity to immunotoxic polyaromatic hydrocarbons. *J Immunol.* 1995;155:3530-7.
23. Kolesaric A, Stingl G, Elbe-Burger A. MHC class I+/II-dendritic cells induce hapten-specific immune responses in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol.* 1997;109:580-5.
24. Martin SF, Dudda JC, Delattre V, Bachtanian E, Leicht C, Burger B. Fas-mediated inhibition of CD4+ T cell priming results in dominance of type 1 CD8+ T cells in the immune response to the contact sensitizer trinitrophenyl. *J Immunol.* 2004;173:3178-85.
25. Fehr BS, Takashima A, Matsue H, Gerometta JS, Bergstresser PR, Cruz PD Jr. Contact sensitization induces proliferation of heterogeneous populations of hapten-specific T cells. *Exp Dermatol.* 1994;3:189-97.

26. Kehren J, Desvignes C, Krasteva M, Ducluzeau MT, Assossou O, Horand F, et al. Cytotoxicity is mandatory for CD8(+) T cell-mediated contact hypersensitivity. *J Exp Med.* 1999;189:779-86.
27. Martin S, Lappin MB, Kohler J, Delattre V, Leicht C, Preckel T, et al. Peptide immunization indicates that CD8+ T cells are the dominant effector cells in trinitrophenyl-specific contact hypersensitivity. *J Invest Dermatol.* 2000; 115: 260-6.
28. Gorbachev AV, Heeger PS, Fairchild RL. CD4+ and CD8+ T cell priming for contact hypersensitivity occurs independently of CD40-CD154 interactions. *J Immunol.* 2001;166:2323-32.
29. Buller RM, Holmes KL, Hugin A, Frederickson TN, Morse HC. Induction of cytotoxic T-cell responses in vivo in the absence of CD4 helper cells. *Nature;* 328:77-9.
30. Rahemtulla A, Fung-Leung WP, Schilham MW, Kundig TM, Sambhara SR, Narendran A, et al. Normal development and function of CD8+ cells but markedly decreased helper cell activity in mice lacking CD4. *Nature.* 1991;353:180-4.
31. Wang B, Norbury CC, Greenwood R, Bennink JR, Yewdell JW, Frelinger JA. Multiple paths for activation of naive CD8+ T cells: CD4-independent help. *J Immunol.* 2001;167:1283-9.
32. Mintern JD, Davey GM, Belz GT, Carbone FR, Heath WR. Cutting edge: precursor frequency affects the helper dependence of cytotoxic T cells. *J Immunol.* 2002;168:977-80.
33. Schuurhuis DH, Laban S, Toes RE, Ricciardi-Castagnoli P, Kleijmee MJ, van der Voort EI, et al. Immature dendritic cells acquire CD8(+) cytotoxic T lymphocyte priming capacity upon activation by T helper cell-independent or -dependent stimuli. *J Exp Med.* 2000;192:145-50.
34. Berke, G. The CTL's kiss of death. *Cell.* 1995;81:9-12.
35. Corazza N, Muller S, Brunner T, Kagi D, Mueller C. Differential contribution of Fas- and perforin-mediated mechanisms to the cell-mediated cytotoxic activity of naive and in vivo - primed intestinal intraepithelial lymphocytes. *J Immunol.* 2000;164:398-403.
36. Biedermann T, Kneilling M, Mailhammer R, Maier K, Sander CA, Kollias G, et al. Mast cells control neutrophil recruitment during T cell-mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein 2. *J Exp Med.* 2000;192:1441-52.
37. Askenase PW, Szczezanik M, Itakura A, Kiener C, Campos RA. Extravascular T-cell recruitment requires initiation begun by Valpha14+ NKT cells and B-1 B cells. *Trends Immunol.* 2004; 25:441-9.
38. Tsuji RE, Kawikova I, Ramabhadran R, Akahira-Azuma M, Taub D, Hugli TE, et al. Early local generation of C5a initiates the elicitation of contact sensitivity by leading to early T cell recruitment. *J Immunol.* 2000;165:1588-98.
39. Pastore S, Mascia F, Mariotti F, Dattilo C, Girolomoni G. Chemokine networks in inflammatory skin diseases. *Eur J Dermatol.* 2004;14:203-8.
40. Dilulio NA, Engeman T, Armstrong D, Tannenbaum C, Hamilton TA, Fairchild RL. Galpha-mediated recruitment of neutrophils is required for elicitation of contact hypersensitivity. *Eur J Immunol.* 1999; 29:3485-95.
41. Engeman T, Gorbachev AV, Kish DD, Fairchild RL. The intensity of neutrophil infiltration controls the number of antigen-primed CD8 T cells recruited into cutaneous antigen challenge sites. *J Leukoc Biol.* 2004;76:941-9.
42. Trautmann A, Akdis M, Kleemann D, Altnauer F, Simon HU, Graeve T, et al. T cell-mediated Fas-induced keratinocyte apoptosis plays a key pathogenetic role in eczematous dermatitis. *J Clin Invest.* 2000;106:25-35.
43. Akdis M, Trautmann A, Klunker S, Daigle I, Kucuksezer UC, Deglmann W, et al. T helper (Th) 2 predominance in atopic diseases is due to preferential apoptosis of circulating memory/effector Th1 cells. *Faseb J.* 2003;17:1026-35.
44. Trautmann A, Akdis M, Schmid-Grendelmeier P, Disch R, Brocker EB, Blaser K, et al. Targeting keratinocyte apoptosis in the treatment of atopic dermatitis and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:839-46.
45. Grabbe S, Schwarz T. Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. *Immunol Today.* 1998;19:37-44.
46. Dubois B, Chapat L, Goubier A, Kaiserlian D. CD4+CD25+ T cells as key regulators of immune responses. *Eur J Dermatol.* 2003;13:111-6.
47. Desvignes C, Etchart N, Kehren J, Akiba I, Nicolas JF, Kaiserlian D. Oral administration of hapten inhibits in vivo induction of specific cytotoxic CD8+ T cells mediating tissue inflammation: a role for regulatory CD4+ T cells. *J Immunol.* 2000;164:2515-22.
48. Desvignes C, Bour H, Nicolas JF, Kaiserlian D. Lack of oral tolerance but oral priming for contact sensitivity to dinitrofluorobenzene in major histocompatibility complex class II-deficient mice and in CD4+ T cell-depleted mice. *Eur J Immunol.* 1996; 26:1756-61.
49. Ruckert R, Brandt K, Hofmann U, Bulfone-Paus S, Paus R. IL-2-IgG2b fusion protein suppresses murine contact hypersensitivity in vivo. *J Invest Dermatol.* 2002;119:370-6.
50. Gorbachev AV, Fairchild RL. CD4+ T cells regulate CD8+ T cell-mediated cutaneous immune responses by restricting effector T cell development through a Fas ligand-dependent mechanism. *J Immunol.* 2004;172: 2286-95.
51. Dearman RJ, Kimber I. Role of CD4(+) T helper 2-type cells in cutaneous inflammatory responses induced by fluorescein isothiocyanate. *Immunology.* 2000;101: 442-51.
52. Takeshita K, Yamasaki T, Akira S, Gantner F, Bacon KB. Essential role of MHC II-independent CD4+ T cells, IL-4 and STAT6 in contact hypersensitivity induced by fluorescein isothiocyanate in the mouse. *Int Immunol.* 2004; 16: 685-95.
53. Kondo SBS, Wang B, Fujisawa H, Kooshesh F, Stratigo A, Granstein RD, et al. Hyporesponsiveness in contact hypersensitivity and irritant contact dermatitis in CD4 gene targeted mouse. *J Invest Dermatol.* 1996;106:993-1000.
54. Wang B, Fujisawa H, Zhuang L, Freed I, Howell BG, Shahid S, et al. CD4+ Th1 and CD8+ type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development

- of contact hypersensitivity. *J Immunol.* 2000; 165:6783-90.
55. Bachmann MF, Oxenius A, Mak TW, Zinkernagel RM. T cell development in CD8^{-/-} mice. Thymic positive selection is biased toward the helper phenotype. *J Immunol.* 1995;155: 3727-33.
56. Hornquist CE, Ekman L, Grdic KD, Schon K, Lycke NY. Paradoxical IgA immunity in CD4-deficient mice. Lack of cholera toxin-specific protective immunity despite normal gut mucosal IgA differentiation. *J Immunol.* 1995;155: 2877-87.
57. Locksley RM, Reiner SL, Hatam F, Littman DR, Killeen N. Helper T cells without CD4: control of leishmaniasis in CD4-deficient mice. *Science.* 1993; 261: 1448-51.
58. Askenase PW. Yes T cells, but three different T cells (alphabeta, gammadelta and NK T cells), and also B-1 cells mediate contact sensitivity. *Clin Exp Immunol.* 2001;125:345-50.
59. Yokozeki H, Watanabe K, Igawa K, Miyazaki Y, Katayama I, Nishioka K. Gammadelta T cells assist alphabeta T cells in the adoptive transfer of contact hypersensitivity to para-phenylenediamine. *Clin Exp Immunol.* 2001; 125:351-9.
60. Campos RA, Szczepanik M, Itakura A, Akahira-Azuma M, Sidobre S, Kronenberg M, et al. Cutaneous immunization rapidly activates liver invariant Valpha14 NKT cells stimulating B-1 B cells to initiate T cell recruitment for elicitation of contact sensitivity. *J Exp Med.* 2003;198:1785-96.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

JF Nicolas

Inserm U 503

IFR 128 Biosciences Lyon-Gerland, 21 av T

Garnier, 69007 Lyon - França

E-mail: nicolas@cervi-lyon.inserm.fr

Questões e resultados das questões

1. Haptenos são:
 - a) substâncias químicas de baixo peso molecular
 - b) compostos eletrofílicos
 - c) capazes de se ligar a resíduos nucleofílicos
 - d) todas as anteriores
2. As células dendríticas expressam:
 - a) moléculas de CHP classe I
 - b) moléculas de CHP classe II
 - c) moléculas de adesão
 - d) todas as anteriores
3. Quando um alérgeno de contato é aplicado sobre a pele, ele é captado por:
 - a) células de Langerhans
 - b) linfócitos T
 - c) linfócitos B
 - d) eosinófilos
4. As células T hapteno-específicas são ativadas por:
 - a) haptenos livres
 - b) peptídeos extracelulares conjugados a hapteno
 - c) peptídeos conjugados a hapteno ancorados nas fendas de ligação de antígeno das moléculas de CHP
 - d) haptenos ligados a imunoglobulinas
5. A ativação de células T hapteno-específicas sem exposição prévia ocorre:
 - a) na epiderme
 - b) na derme
 - c) nos linfonodos de drenagem
 - d) no sangue
6. Durante sua migração para os linfonodos, as CL sofrem:
 - a) modificações morfológicas
 - b) modificações fenotípicas
 - c) modificações funcionais
 - d) todas as anteriores
7. Os peptídeos conjugados a hapteno podem ser expressos na superfície das células dendríticas como resultado de:
 - a) interação direta com peptídeos ancorados nas fendas de ligação de antígeno das moléculas do CHP
 - b) endocitose de peptídeos extracelulares conjugados a haptenos e expressão em associação com moléculas do CHP classe II
 - c) penetração direta da parede celular e expressão em associação com moléculas do CHP classe I
 - d) todas as anteriores
8. As células T CD8+ hapteno-específicas são ativadas pela apresentação de peptídeos conjugados a hapteno por:
 - a) moléculas do CHP classe I
 - b) moléculas do CHP classe II
 - c) moléculas co-estimulatórias
 - d) imunoglobulinas
9. A expressão da reação de sensibilidade de contato envolve a ativação de:
 - a) queratinócitos
 - b) células endoteliais
 - c) células T efectoras
 - d) leucócitos que migram para a derme superficial
10. A reação inflamatória é regulada negativamente por:
 - a) células B
 - b) granulócitos
 - c) células T produtoras de citocinas tipo 1
 - d) células T CD4+
11. A fase eferente da hipersensibilidade de contato se caracteriza por:
 - a) ocorrer após poucas horas do contato subsequente com o hapteno
 - b) durar cerca de 72 horas no ser humano
 - c) envolver a produção de quimiocinas e IFN γ
 - d) todas as anteriores
12. As células citotóxicas CD8+ :
 - a) inibem o infiltrado inflamatório da hipersensibilidade de contato
 - b) produzem IFN γ e amplificam a inflamação cutânea
 - c) produzem quimiocinas e inibem apoptose de queratinócitos
 - d) todas as anteriores
13. A hipersensibilidade de contato a haptenos fortes:
 - a) envolve a produção de IL-1 e IL-2 pelas células de Langerhans
 - b) ocorre através de toxicidade química que estimula células CD4+
 - c) ocorre após ativação de células da resposta imune inata
 - d) não pode acontecer após única exposição

14. Em camundongos nocauteados para CHP classe II:
- as células circulantes são CD8+ com ausência de HSC a haptenos fortes
 - as células circulantes são CD4+ com ausência de HSC a haptenos fortes
 - existe deficiência de células CD8+ com presença de HSC a haptenos fortes
 - existe deficiência de células CD4+ com presença de HSC a haptenos fortes
15. Durante a fase de sensibilização da HSC:
- as células CD4+ produzem IL-4, IL-5, IL-10
 - as células de Langerhans produzem IL-12 e diversas quimiocinas
 - as células CD8+ não possuem atividade proliferativa
 - rodas as anteriores
16. Durante a fase de indução da dermatite de contato:
- as células de Langerhans produzem quimiocinas que estimulam a célula CD4+
 - os queratinócitos podem apresentar antígenos e serem alvo de citotoxicidade
 - a citotoxicidade é mediada principalmente por células CD4+
 - nenhuma das anteriores
17. O recrutamento de células T na pele após provocação por haptenos:
- ocorre após ativação de complemento e produção de C5a
 - envolve a participação de IL-8, MCP-1 e RANTES
 - é precedido pela infiltração de neutrófilos
 - todas as anteriores
18. A apoptose de células epidérmicas:
- é descrita na dermatite de contato
 - pode ocorrer na dermatite atópica e em outros eczemas
 - pode vir a ser alvo de tratamento com o uso de drogas anti-apoptose
 - todas as anteriores
19. A atividade regulatória das células CD4+:
- ocorre através de mecanismo desconhecido
 - se dá através da eliminação por citotoxicidade, das células CD8+
 - envolve a eliminação de células apresentadoras de antígeno em órgãos linfóides
 - nenhuma das anteriores
20. No futuro, a estratégia terapêutica para controlar a dermatite de contato:
- deverá ter como alvo as células T efectoras
 - deverá considerar a inibição do recrutamento de leucócitos na pele
 - deverá estimular a função das células regulatórias
 - todas as anteriores

GABARITO

Síndrome antifosfolípide. 2005;80(3):225-39.

- | | |
|-------|-------|
| 1. a | 11. d |
| 2. d | 12. a |
| 3. a | 13. a |
| 4. c | 14. d |
| 5. a | 15. b |
| 6. c | 16. c |
| 7. d | 17. c |
| 8. b | 18. d |
| 9. c | 19. d |
| 10. b | 20. d |