

# Frequência de Linfócitos T e Células NK Produtoras de TNF-alfa em Fumadores

Nogueira A., ESTSC

## Objectivo

É objectivo do nosso estudo avaliar a frequência de linfócitos T e células NK produtores TNF- $\alpha$ , e analisar a relação do hábito tabágico com a resposta imune, num grupo de 7 indivíduos fumadores e 10 não fumadores.

## Introdução

O hábito tabágico causa uma resposta inflamatória crónica nos pulmões, sendo caracterizada pelo aumento do número de neutrófilos e macrófagos na circulação pulmonar, é responsável por uma supressão da resposta imune humoral, tendo também influência na resposta celular. Assim, o número absoluto de linfócitos T CD3+, e da subpopulação CD4+ CD29+ apresenta-se mais elevado nos indivíduos fumadores do que nos não fumadores, não existindo diferença no número de linfócitos T CD8+ entre fumadores e não fumadores. O número de células NK parece não se alterar com o facto de fumar ou não, porém, a sua actividade citotóxica está diminuída nos fumadores.

O TNF- $\alpha$  é um importante mediador na patogénia de uma variedade de processos inflamatórios, leva à formação do granuloma e perpetua a libertação de quimiocinas e o afluxo de mais monócitos.. É uma das citocinas envolvidas na proliferação e geração dos linfócitos T citotóxicos, podendo assim representar alvos para novas terapias. Células mononucleares dos fumadores mostram uma produção aumentada das citocinas pro-inflamatórias IL-1, IL-6, IL-16 e TNF- $\alpha$ , e uma resposta proliferativa aumentada aos antígenos, quando comparada com a população dos não fumadores.

A doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD) é a maior causa de morbilidade e mortalidade em todo o mundo. O hábito tabágico é o factor com maior responsabilidade na COPD, mas isto acontece apenas numa minoria de fumadores, sendo que só 10 a 20% dos fumadores desenvolvem doença pulmonar. Nas vias aéreas do parênquima pulmonar, a presença de células T, predominantemente células T CD8+, podem distinguir-se entre fumadores com COPD, onde estão aumentadas, de fumadores sem COPD. Os níveis pulmonares de TNF- $\alpha$  estão elevados nos indivíduos com COPD, quando comparados com aqueles sem COPD.

## Material e Métodos

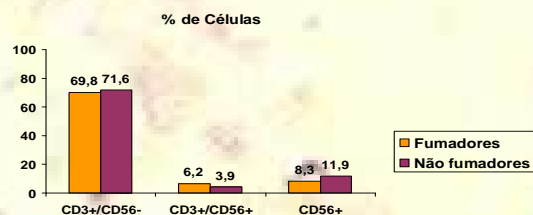
A população do estudo incluiu dezassete indivíduos considerados saudáveis e foi dividida em dois grupos:

- Dez indivíduos não fumadores com idade compreendidas entre os 23 e 45 anos (a média  $\pm$  desvio padrão de idades foi de  $31 \pm 5$ ).
- Sete indivíduos fumadores, todos com idades de 22 anos (a média  $\pm$  desvio padrão de idades foi de  $22 \pm 0$ ).

Todas as amostras foram obtidas a partir da colheita de sangue periférico para tubos com heparina, para posterior análise citométrica. Para esse efeito, activámos as células do sangue periférico com PMA e Ionomicina, após marcação intracelular através de anticorpos monoclonais, quantificámos por citometria de fluxo a percentagem de linfócitos T e células NK e avaliámos a produção de TNF- $\alpha$  nessas células, nos dois grupos em estudo.

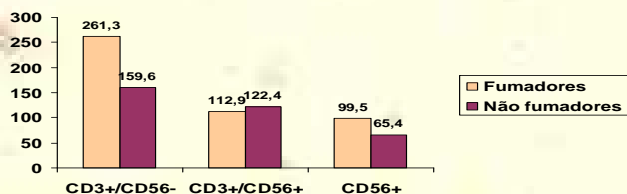
## Resultados e discussão

Verificou-se um aumento estatisticamente significativo na percentagem das células T CD3+/CD56+ nos indivíduos fumadores. Nas células T CD3+/CD56- não há diferença na sua percentagem entre fumadores e não fumadores. Nas células NK CD56+ dos indivíduos fumadores, verificámos uma diminuição estatisticamente significativa na sua percentagem em relação aos não fumadores.

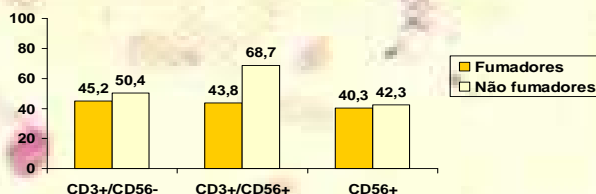


No grupo controlo verificámos que as células NK eram aquelas que se encontravam a produzir menos TNF- $\alpha$ , ao contrário das células T CD3+/CD56- que eram as que produziam mais TNF- $\alpha$ . As células T CD3+/CD56+, produtoras de TNF- $\alpha$ , existem em maior percentagem, enquanto, as células NK, produtoras de TNF- $\alpha$ , existem em menor percentagem. Nas células T CD3+/CD56-, não há diferença na percentagem de células a produzir TNF- $\alpha$ , mas as células dos indivíduos fumadores produzem maior quantidade TNF- $\alpha$ , também as células NK CD56 dos indivíduos fumadores produzem maior quantidade de proteína, não havendo diferenças nas percentagens de células NK que se encontram a produzir TNF- $\alpha$ , o que parece indicar uma actividade inflamatória mais elevada, talvez estimulada pelos agentes do fumo do cigarro.

M.I.F de TNF-alfa



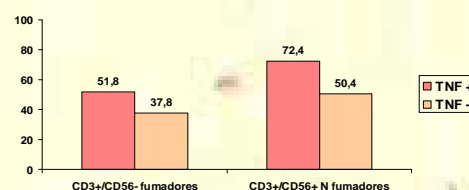
% de Células a produzir TNF-alfa



A activação com PMA e ionomicina induz uma regulação negativa da expressão da molécula de CD3 na superfície das células, uma vez que a média de intensidade de fluorescência (M.I.F) observada na população das células T CD3+/CD56-, que se encontra a produzir TNF- $\alpha$  é menor do que nas células T CD3+/CD56-, que não produzem TNF- $\alpha$ .

O contrário parece suceder em relação a molécula CD56, isto é a M.I.F nas células CD3+/CD56+ que produzem TNF- $\alpha$  é maior do que naquelas que não produzem TNF- $\alpha$ . Parecendo deste modo, como seria esperado, ser o subtipo CD56+ aquele que produz maior quantidade de TNF- $\alpha$  e provavelmente, apresentam maior actividade citotóxica.

Expressão do CD56 nas células produtoras de TNF-alfa (M.I.F)



## Conclusão

Este estudo permitiu verificar que os linfócitos T CD3+/CD56- e as células NK dos indivíduos fumadores, apresentam uma maior tendência para produzir TNF- $\alpha$ , o que pode estar associado a um processo inflamatório residual causado pelo fumo do cigarro.