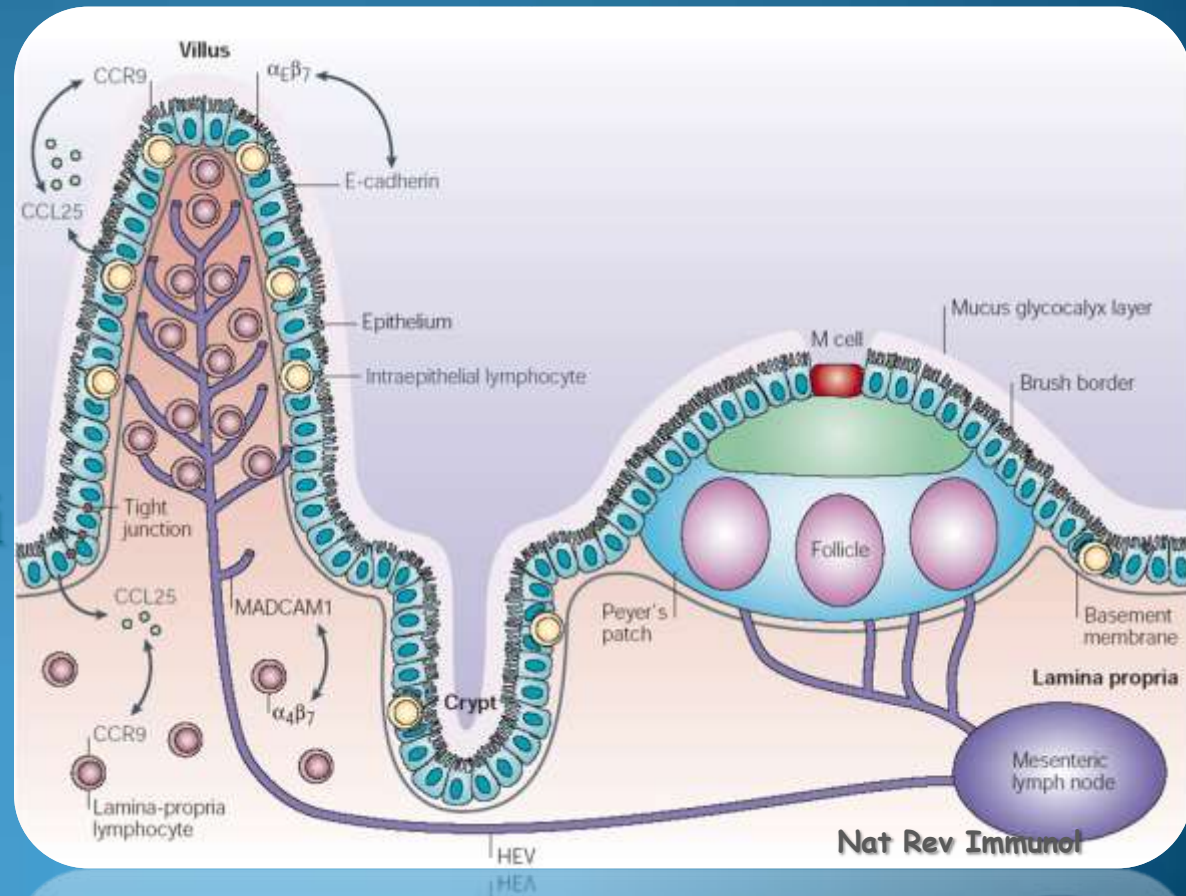


Inmunidad de las mucosas

“MECANISMOS ACTIVOS PARA PROMOVER TOLERANCIA”

Siham Salmen Halabi
Idic-ULA 2011



Sistema inmune común de las mucosas (SIM)

- Objetivos
 - Describir los componentes del sistema inmune común de las mucosas
 - Definir sus funciones
 - Detallar los sitios inductores y los sitios efectores
 - Detallar las funciones de cada uno de sus componentes
 - Describir las funciones de la IgA de las secreciones, como uno de los principales componentes efectores del sistema inmune común de las mucosas

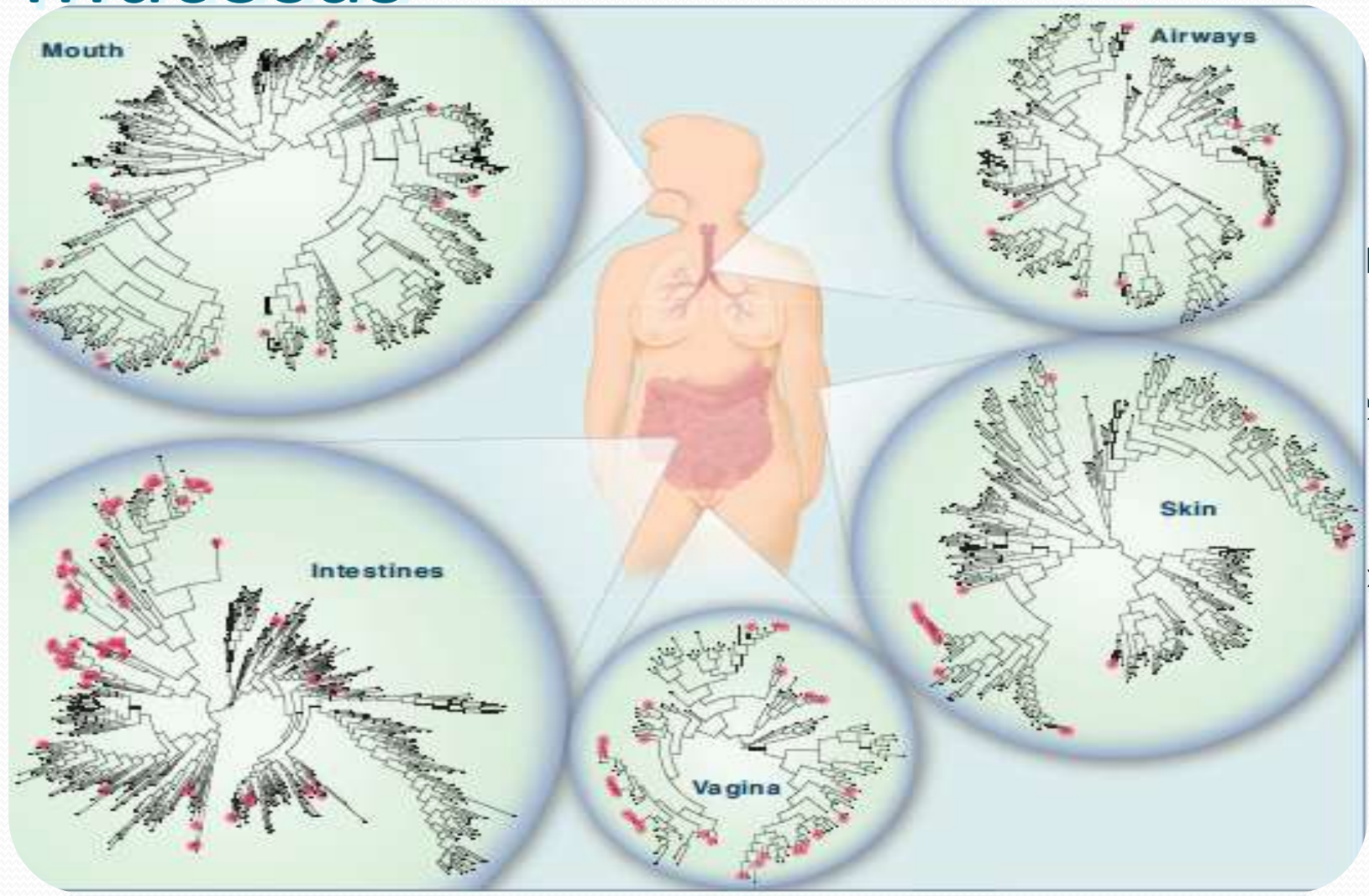
Sistema inmune común de las mucosas: FUNCIONES DE LAS BARRERAS MUCOSAS

- **Funciones principales**

- Transporte de macromoléculas
- Absorción
- Función secretora y de barrera (primera barrera física e inmune) es la principal puerta de entrada de microorganismos
 - Mucinas, defensinas e IgAs
 - **Exclusión de antígenos**
 - Prevenir la colonización por microorganismos potencialmente patógenos
 - Prevenir la captura de Ag no degradados (2.500 kg de proteínas)
 - Uniones entre las células epiteliales no permite el paso de péptidos y macromoléculas antigénicas (hasta 2 kDa de tamaño)

Una respuesta no controlada del SIM conduce a: alergias, hipersensibilidad e inflamación

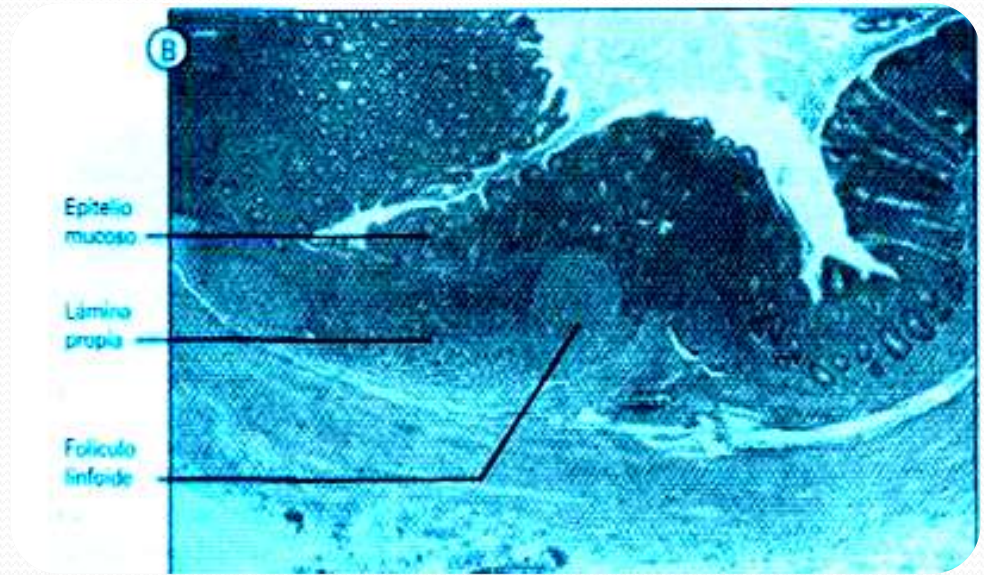
Sistema inmune común de las mucosas



ra
ra

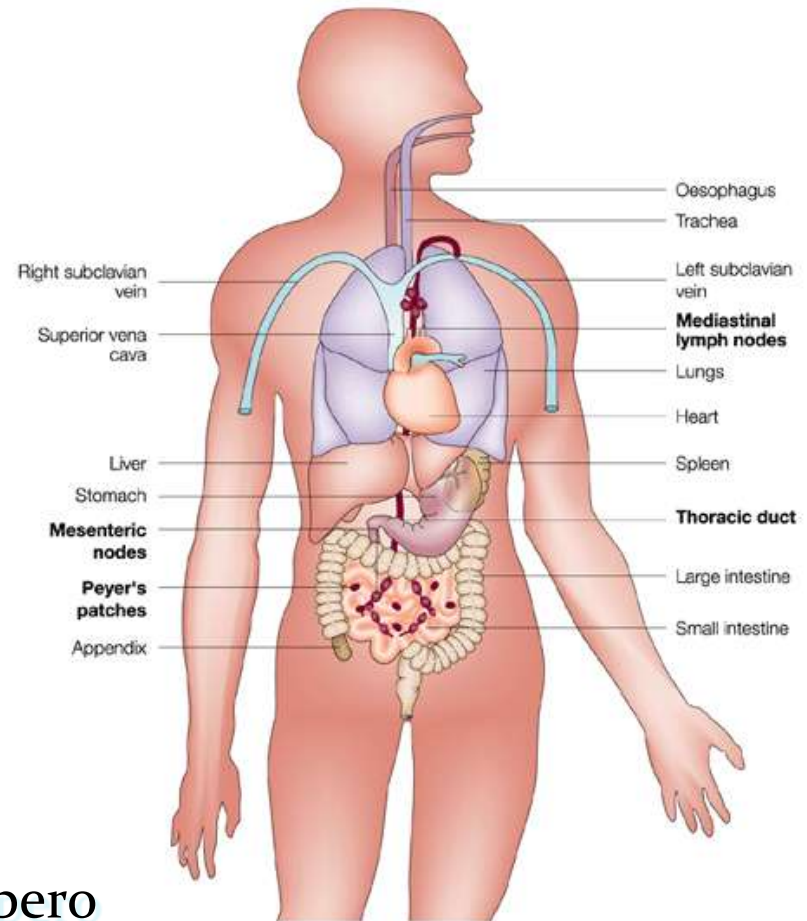
Sistema inmune común de las mucosas: ELEMENTOS QUE LO FORMAN

- Tracto respiratorio
- Tracto genitourinario
- Tracto Gastrointestinal
 - Epitelio
 - Lámina propia
 - Placas de Peyer (tejidos linfoides organizados)
 - Las amígdalas faríngeas

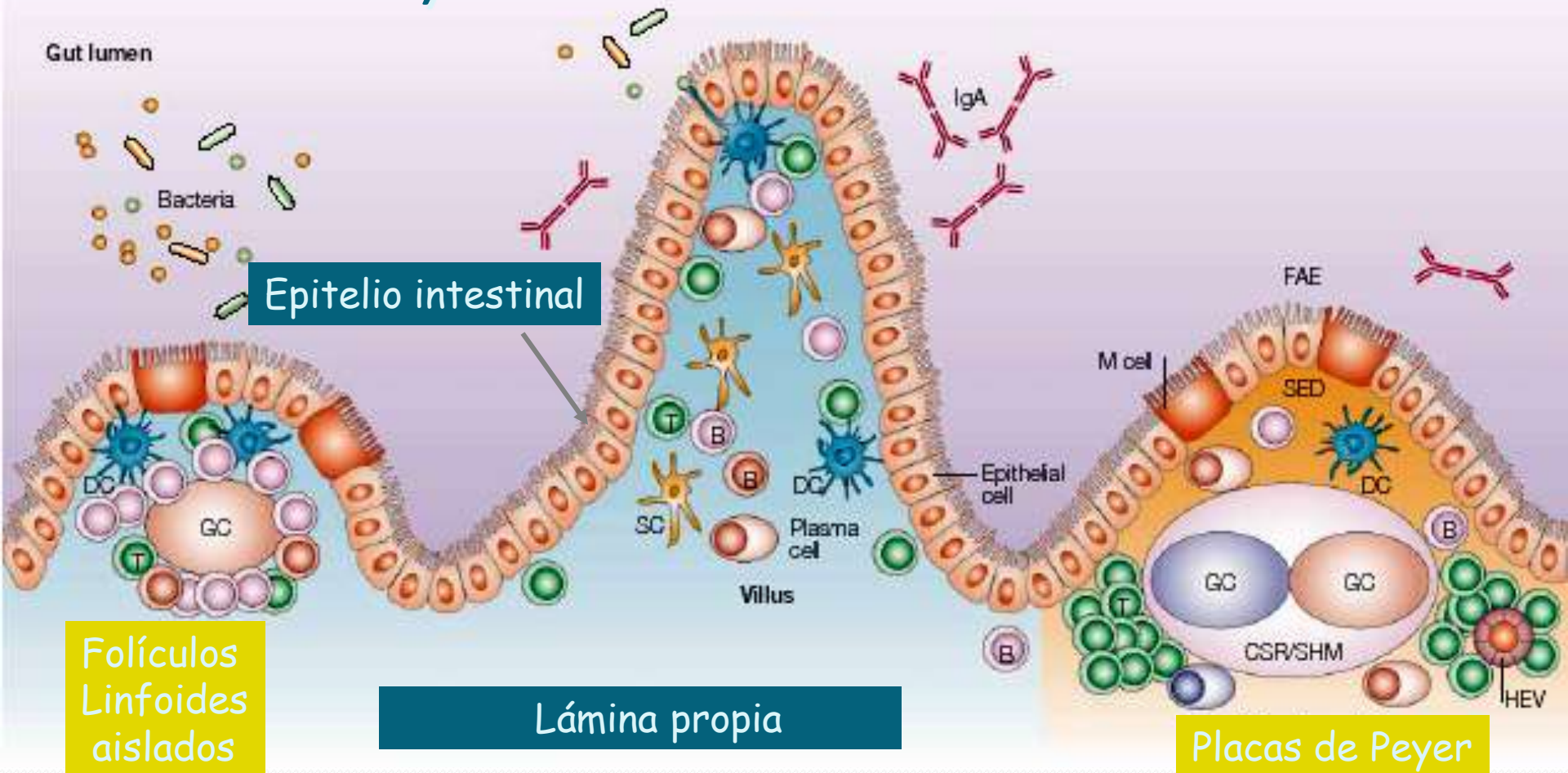


Sistema inmune común de las mucosas

- BALT: asociado al tracto respiratorio
- NALT: asociado al tracto nasofaríngeo
- GALT: asociado al tracto digestivo
 - Tiene vasos linfáticos eferentes pero no aferentes, así limitar la entrada de antígenos sistémicos



Sistema inmune común de las mucosas (conecta sitios efectores con inductores)

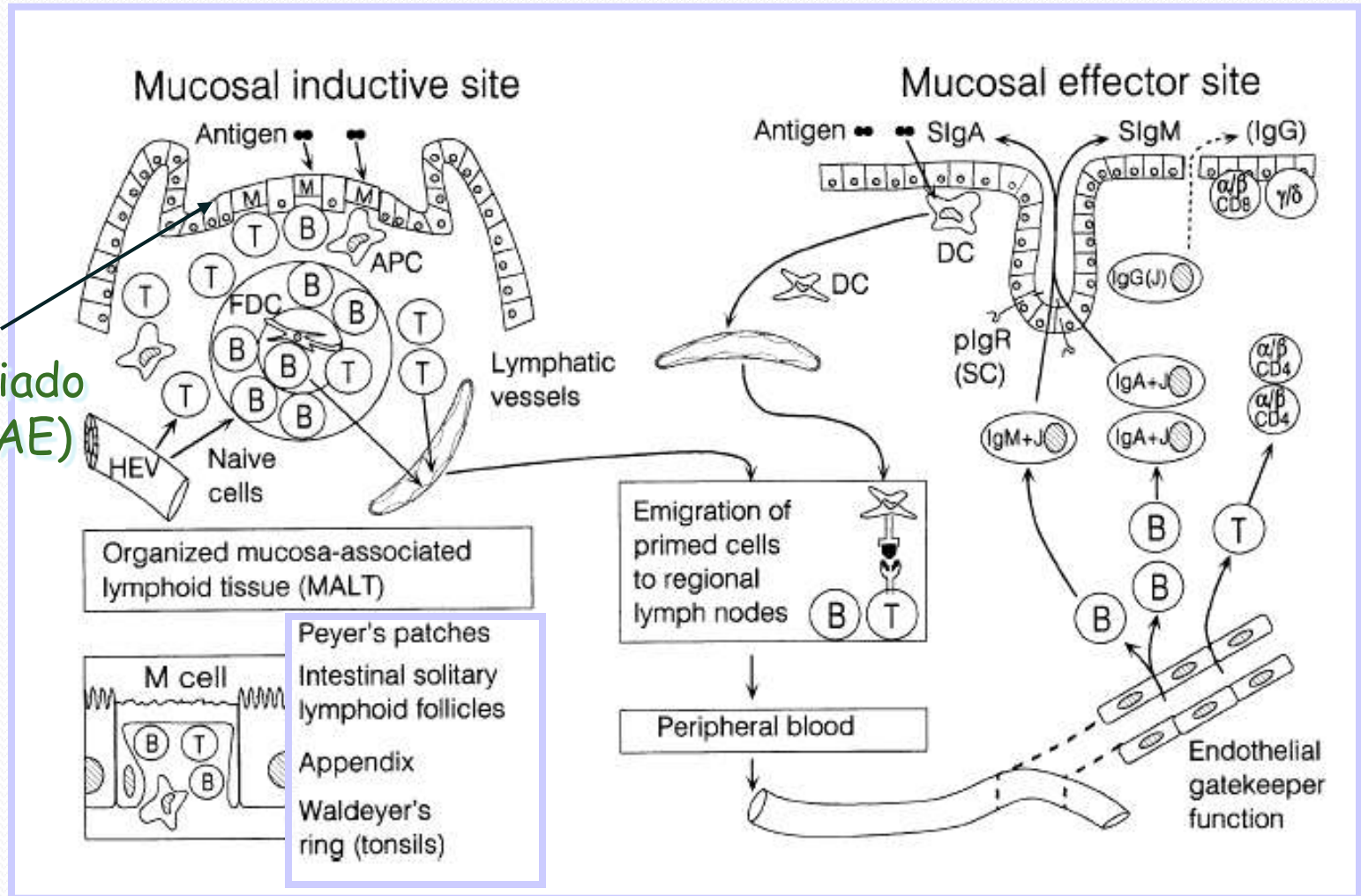


Sistema inmune común de las

mucosas: FUNCIONES DE LAS BARRERAS MUCOSAS

- Sitios inductores
 - Placas de peyer
 - Folículos linfoides aislados
- Sitios efectores
 - Lámina propia
 - Epitelio intestinal

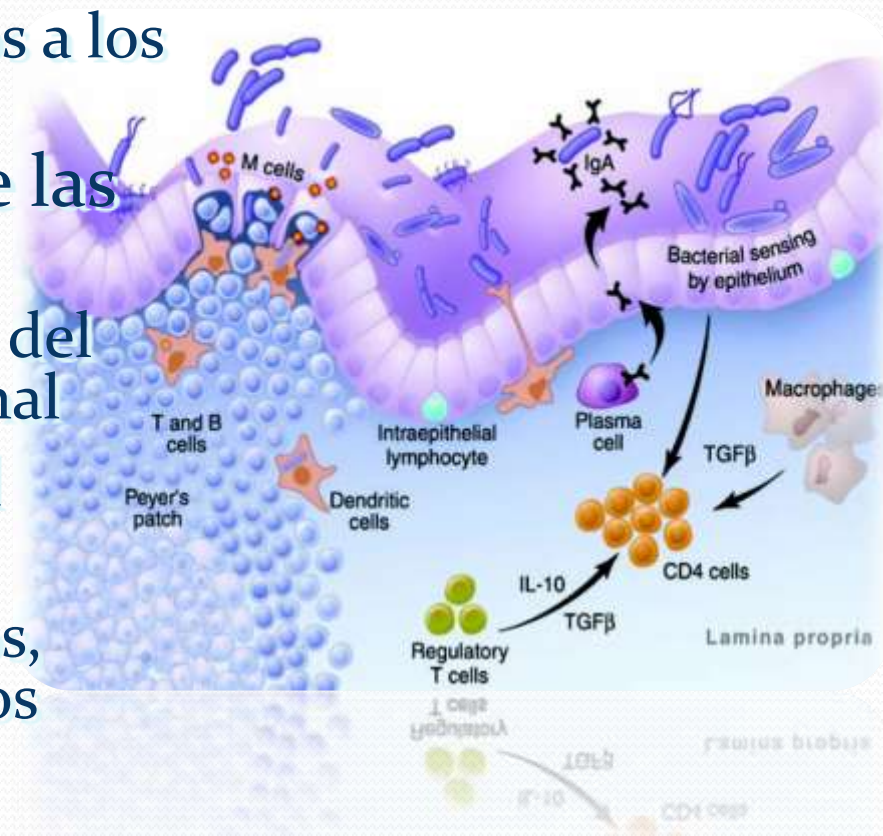
Sistema inmune común de las mucosas : ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL



Epitelio asociado al folículo (FAE)

Sistema inmune común de las mucosas

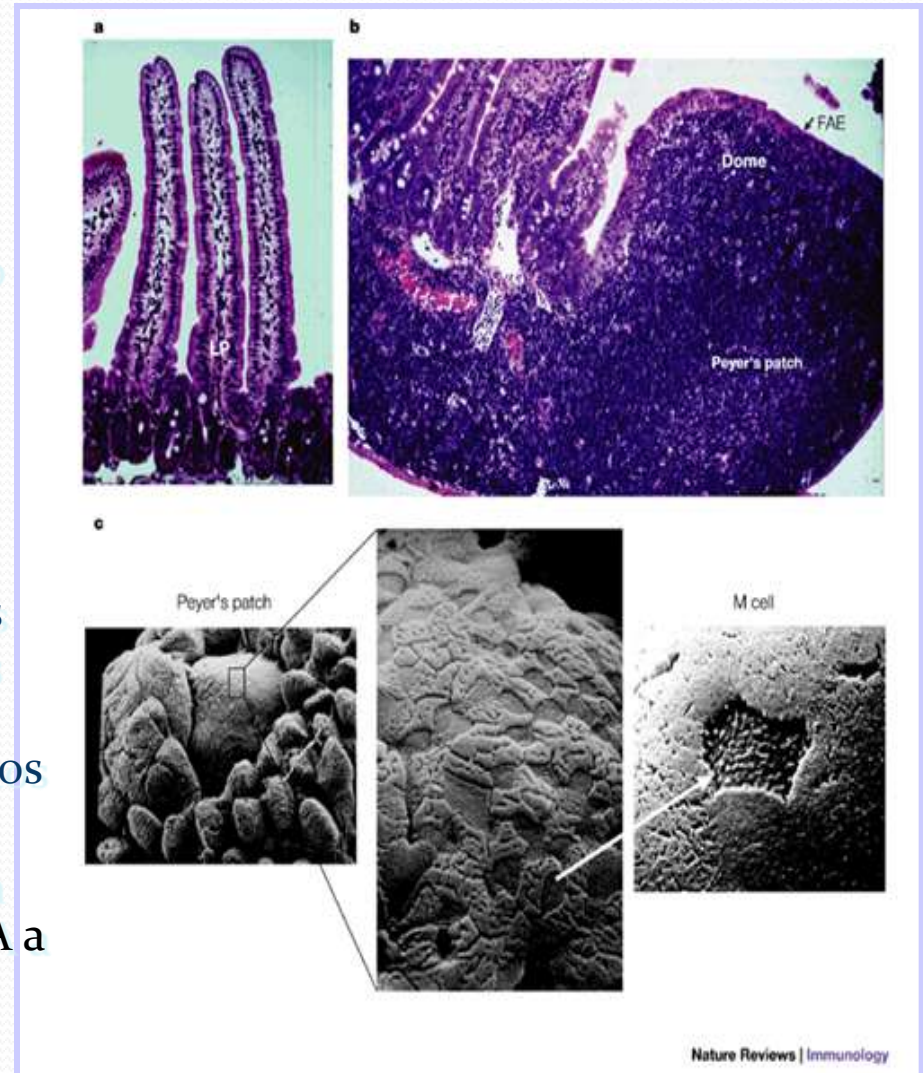
- Cuales son las rutas de captura de antígenos?
 - Células M
 - Pasan los antígenos intactos a los macrófagos y DC
 - Trans-epitelial a través de las células dendríticas
 - Exponen dendritas a través del epitelio hacia la luz intestinal
 - Transferencia a través del epitelio
 - Pasan los antígenos intactos, mecanismos poco conocidos



Sistema inmune común de las mucosas: SITIOS INDUCTORES

• Placas de Peyer

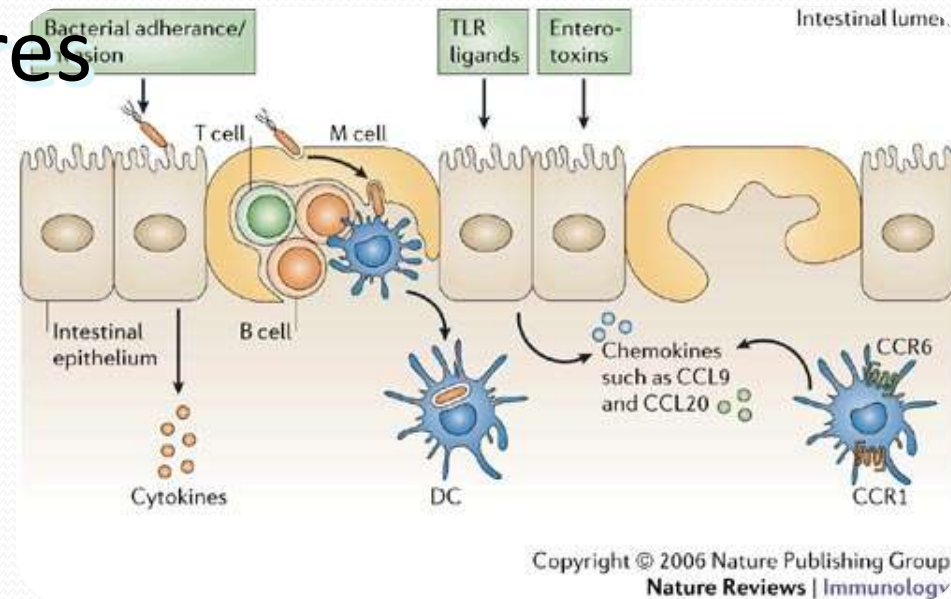
- Células M (por “membranous or microfold cells”)
 - Se ubican en FAE (epitelio asociado al folículo)
 - Borde en cepillo desorganizado,
 - Escaso glicocalix y transportadores asociados con la absorción de alimentos
- Son células epiteliales diferenciadas por influencia de factores liberados por el tejido linfoide organizado adyacente, flora intestinal y linfocitos B intraepiteliales
- Tiene receptores para IgA en región APICAL, median **re-entrada** de IgA a través de las placas de Peyer



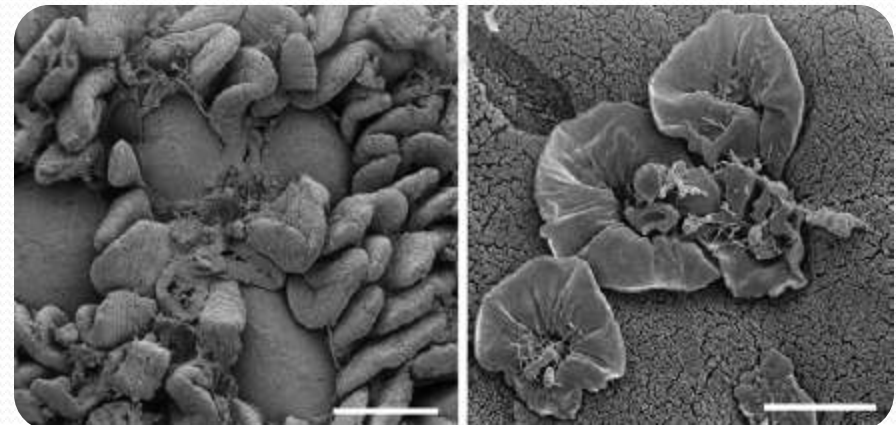
Sistema inmune común de las mucosas: Sitios inductores

• Células M

- Secretan CCL19 y CCL20 para promover el reclutamiento de células dendríticas a las placas de Peyer
- Expresan receptores Toll (su activación incrementa la transcitosis)
- Sitio ideal para la entrada de microorganismos (Salmonella, VIH, priones)



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology



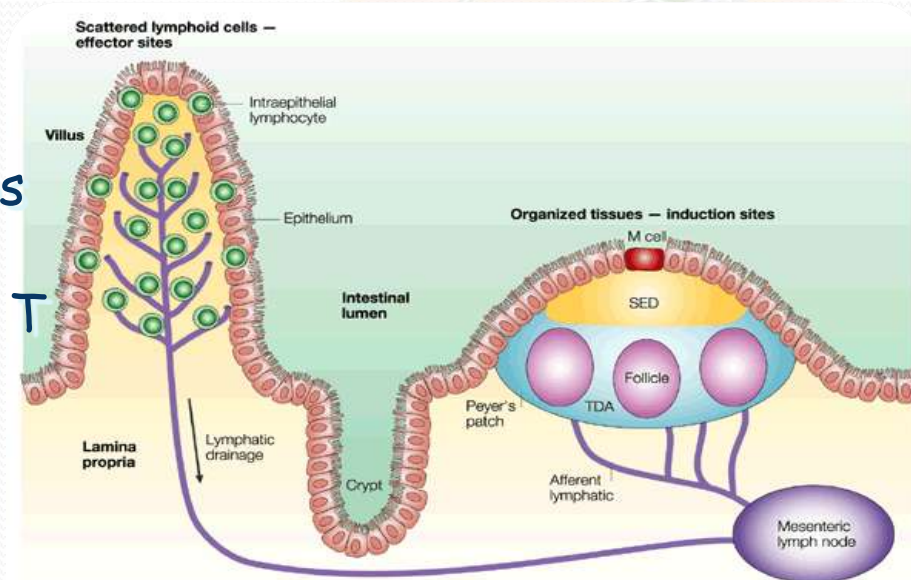
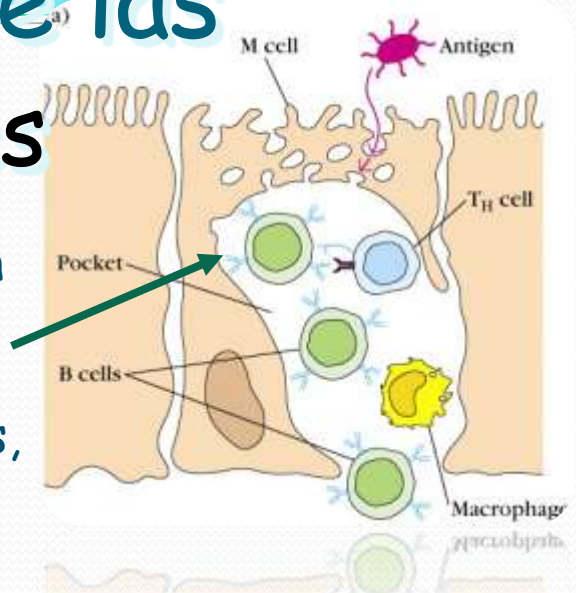
Sistema inmune común de las mucosas: Sitios inductores

• Placas de Peyer

• Células M

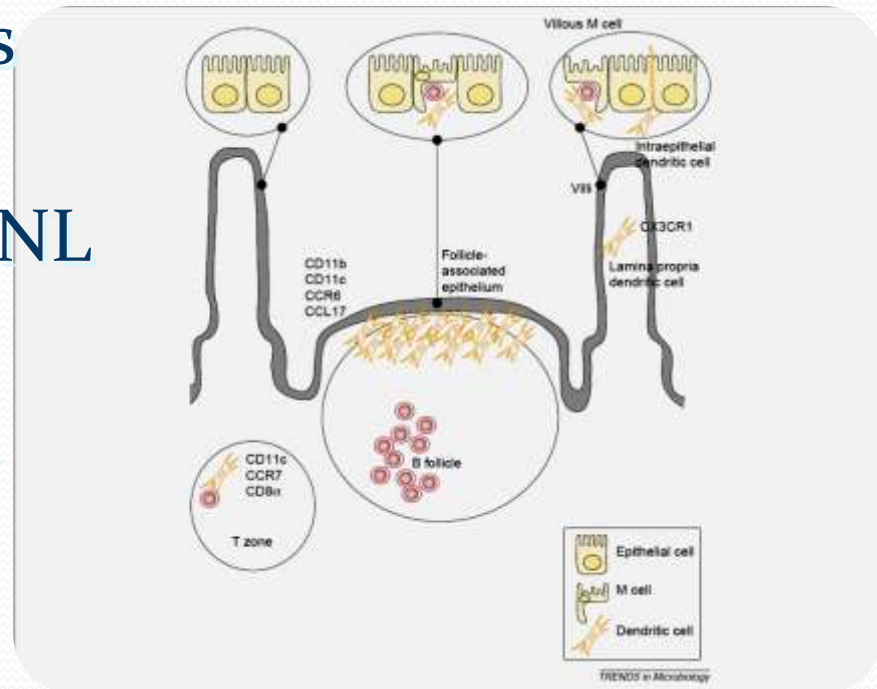
- Ag tomados y liberados directamente a folículos adyacentes
 - Transporte vesicular de Ag
 - Requiere de 10 a 15 minutos para transportar los antígenos
 - Alícuotas pequeñas de Ag dieta = tolerancia (favorecen T CD4 supresoras, productoras de TGF- β , supresión de respuesta Th1 y cambio de isotipo a IgA)
 - Interés para el desarrollo de vacunas

Invaginación basolateral contentivo de linfocitos, DC



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS (DC)

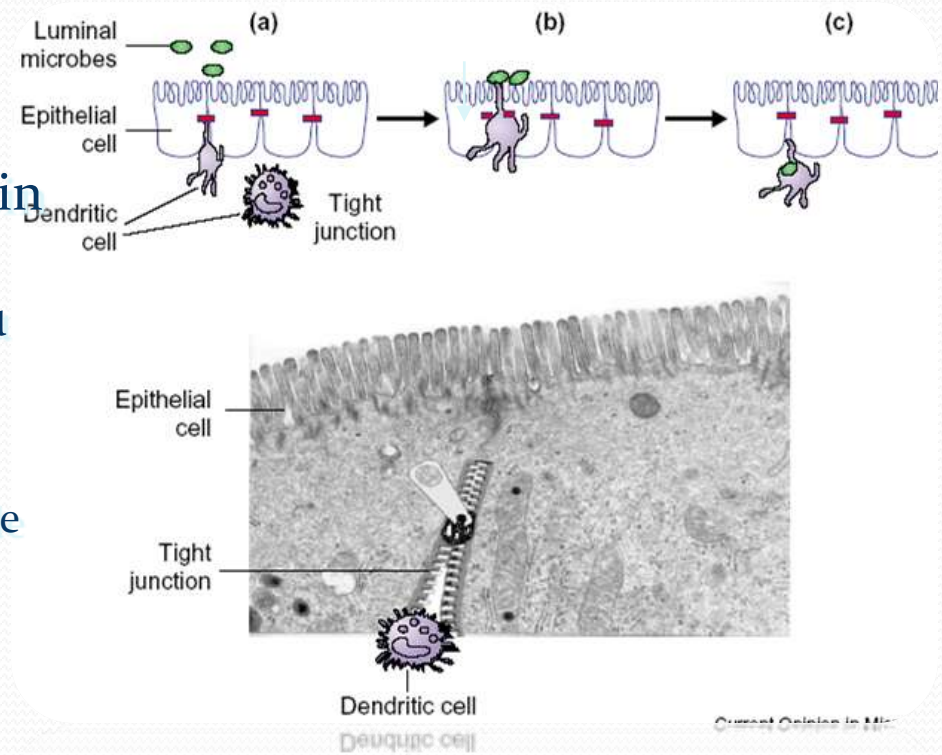
- Localización de las DC
 - DC sub-epiteliales en las placas de Peyer
 - DC zonas de células T y NL mesentéricos
 - DC intraepiteliales en la lámina propia
 - DC de la lamina propia



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS

- Vía independiente de las células M

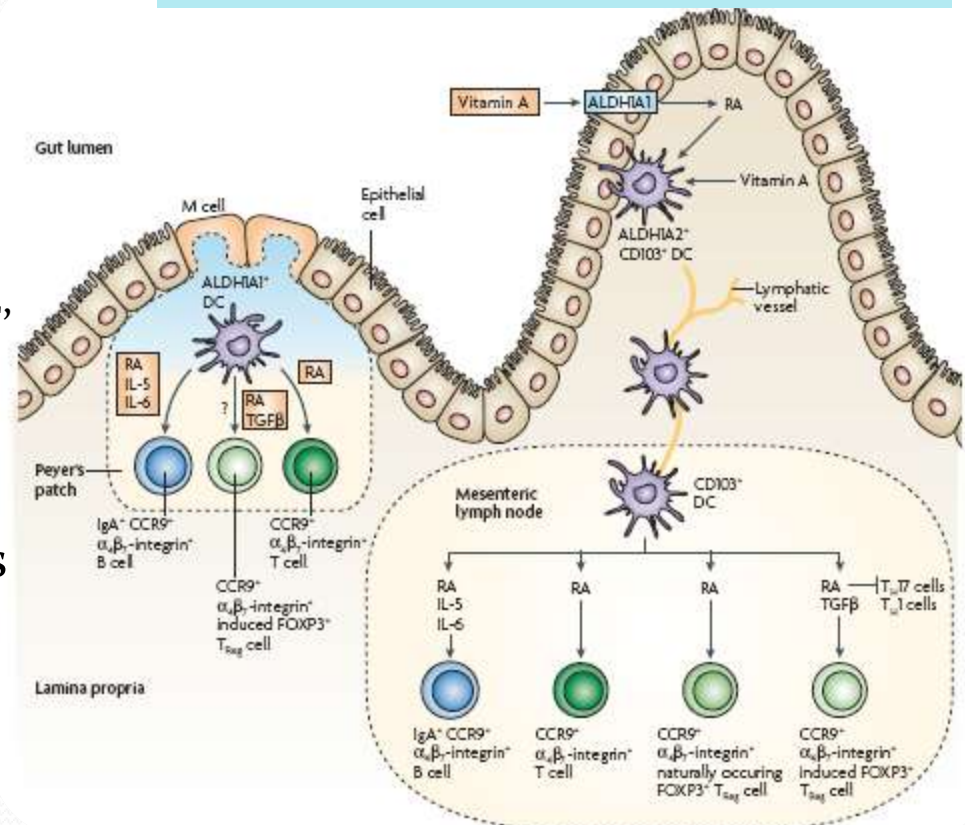
- ¿Como diferencian las Dc entre patógenos de los que no lo son?
- DC toman Ag de la luz intestinal sin alterar la integridad de la mucosa
- Receptores Toll aún no definidos u otros receptores con capacidad inhibitoria
 - NOD₂/CARD5 (nucleotide-binding oligomerization domains), encargado del reconocimiento de comensales
- Adquieren Ag propios de los enterocitos en apoptosis para promover tolerancia



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS (DC)

- Fenotípica y funcionalmente
 - Placas de Peyer:
 - DC CD11b+/IDO+ (Indoleamine 2,3-dioxygenase), productoras de IL-10 (región sub-epitelial), inductoras de Treg
 - DC CD8 α + (región interfolicular) y CD11b-/CD8 α -, productoras de IL-12, inductoras de respuesta Th1
 - Lamina propia
 - DC CD103+, inductoras de Treg
 - Nódulos linfáticos Mesentéricos (NLM)
 - DC CD103+ migran de la lamina propia

Expresan ALDH1 (Familia 1 aldehído deshidrogenasa), media metabolismo de Vit A, hacia ácido retinoico (RA), promueve recirculación diferencia hacia mucosas y desarrollo de Treg



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS

- Principales funciones inmunoreguladores mediante la conversión de novo de Treg, promover respuesta Th-17 y producción de IgA

DC distribution and function in the intestine

DC subset	Localization	Function	Reference
PP			
CX3CR1 ⁺	SED	Unknown	(126)
CCR6 ⁺	SED	Th1-polarizing ability	(126)
CD11b ⁺	SED	Th2-polarizing ability; IgA class switching	(33–35)
CD8 ⁺	IFR	Th1-polarizing ability	(33)
CD11b ⁺ CD8 ⁻ B220 ⁻	SED	Th1-polarizing ability	(33)
B220 ⁺ Ly6C ⁺ (pDC)	SED, IFR	Reduced type I IFN production	(53)
Small intestine			
CD11c ^{hi} CD11b ^{hi} CD103 ⁺	LP	Treg-polarizing ability	(14)
CD11c ^{hi} CX3CR1 ⁺ CD70 ⁺ CD11b ^{hi} CD103 ⁻	Intraepithelial	Th17-polarizing ability	(15, 25)
CD11c ^{hi} CD11b ⁺ TLR5 ⁺	Intraepithelial?	Th17-polarizing ability; IgA class switching	(24)
CD11c ^{hi} iNOS ⁺ TNF- α ⁺	LP	IgA class switching	(36)
MLN			
CD11c ^{hi} CD103 ⁺		Treg-polarizing ability; gut-homing T cell imprinting	(17–19)
CD11c ^{hi} CD103 ⁻		Th stimulatory	(17)
CD11c ^{hi} COX2 ⁺		Oral tolerance	(127)

⁺IFR, interfollicular region; pDC, plasmacytoid DC; SED, subepithelial dome.

hi = high expression; hi = high expression; DC, dendritic cell; SED, subepithelial dome

CD11c^{hi}COX2⁺

CD11c^{hi}CD103⁻

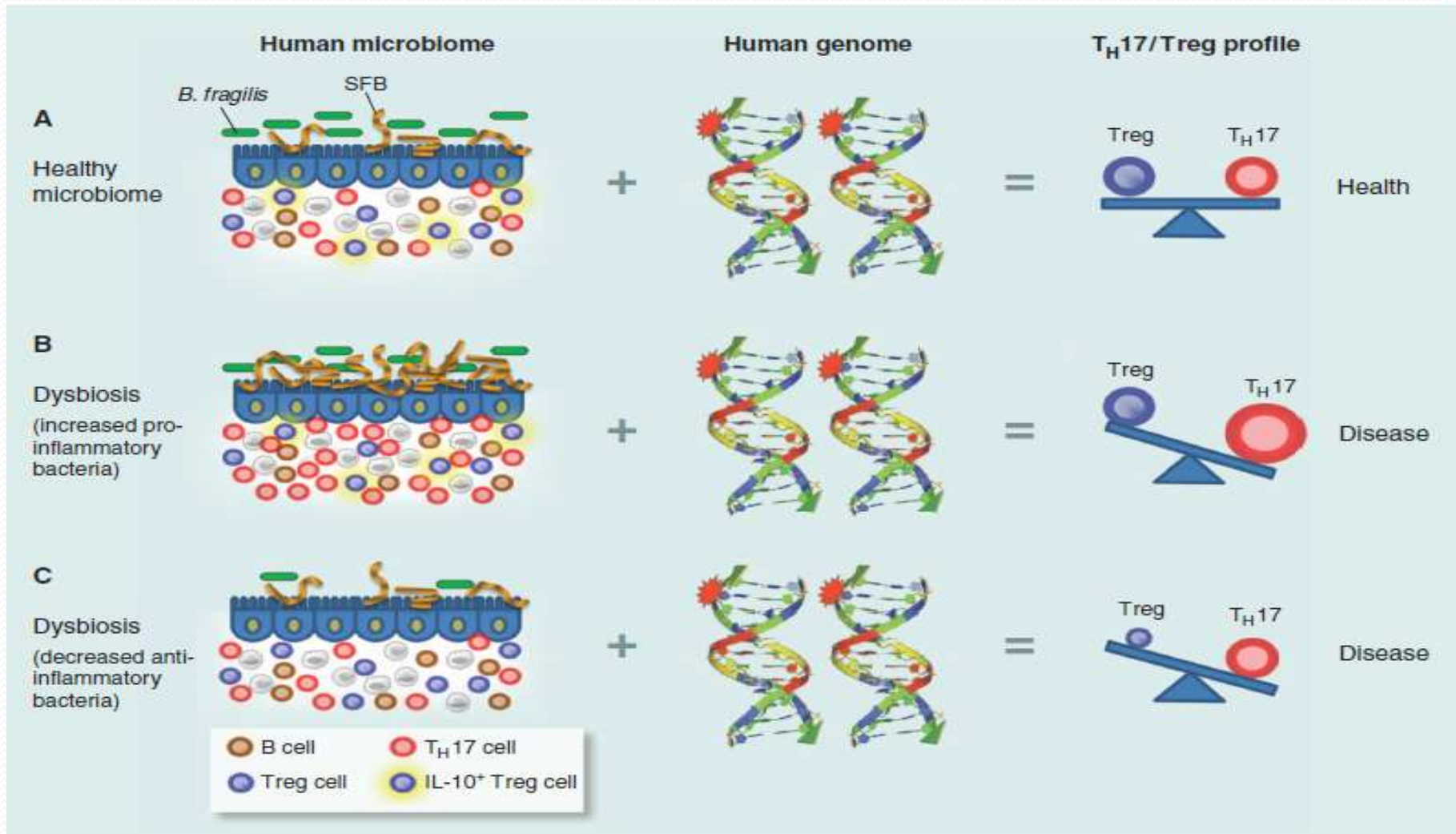
CD11c^{hi}CD103⁺

Oral tolerance

(127)

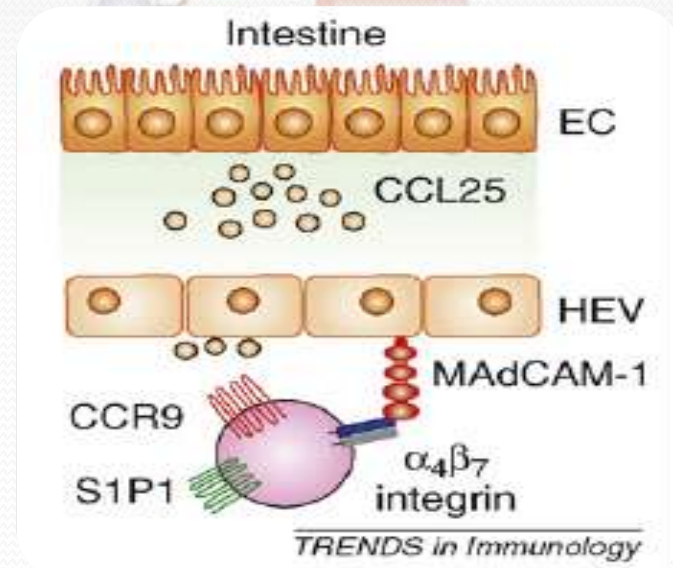
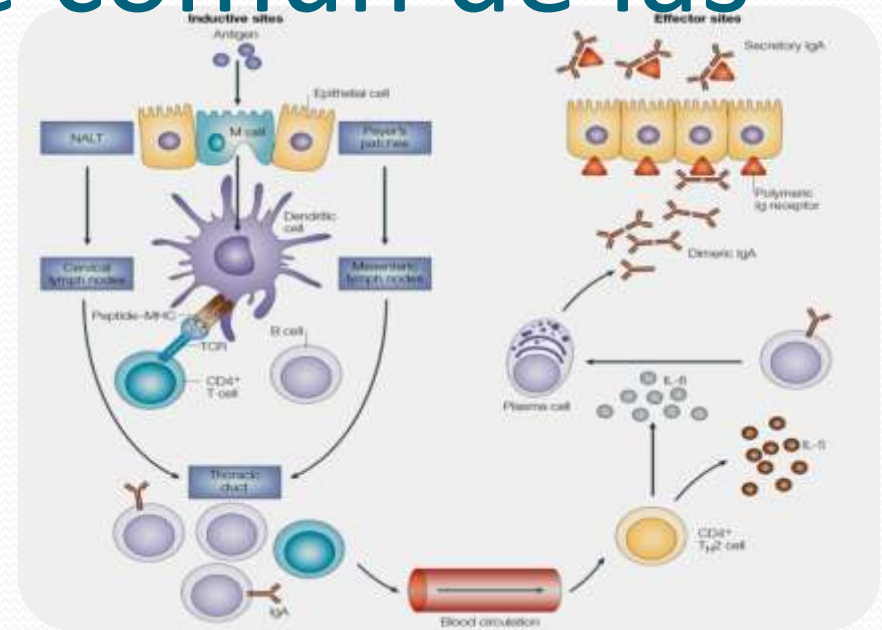
(17–19)

Sistema inmune común de las mucosas: Papel de agentes comensales



Sistema inmune común de las mucosas

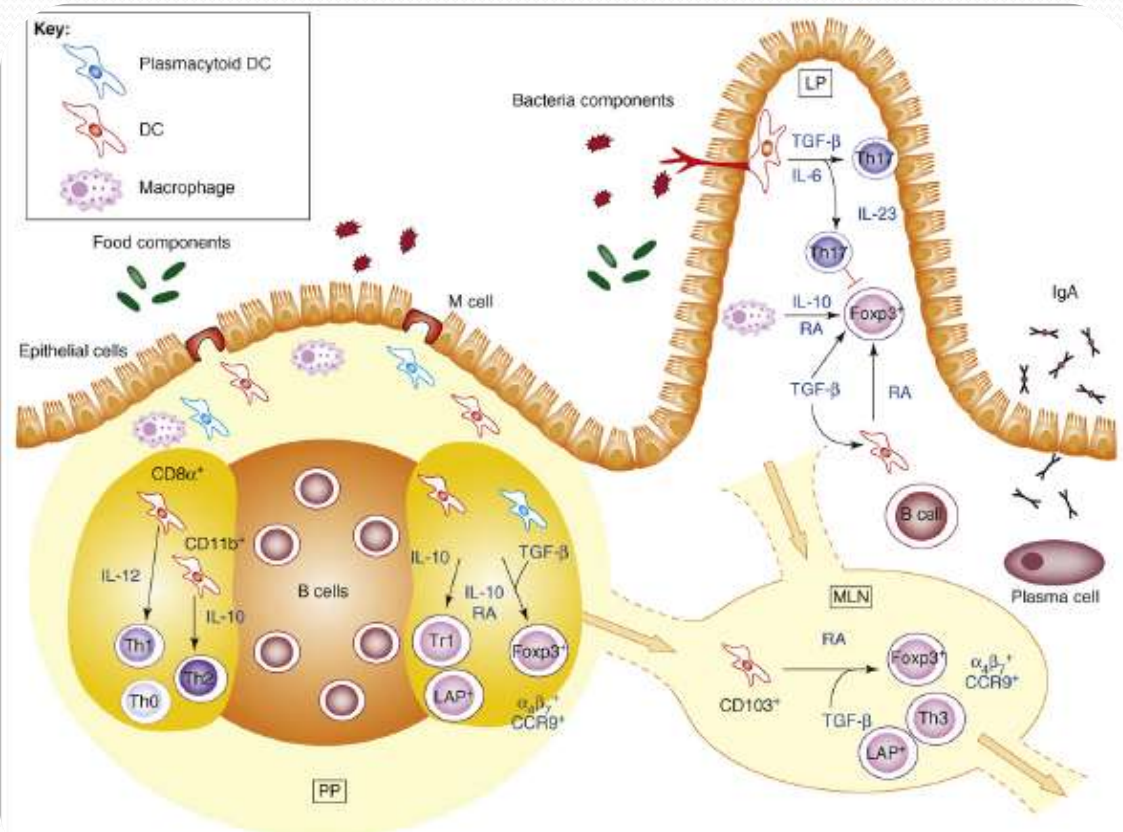
- Conexión entre sitios inductores y sitios efectores
- Linfocitos T activados en la mucosa expresan **CCR9** y la integrina **$\alpha_4\beta_7$** que le permite reingresar a la mucosa por reconocer a **MadCAM-1** de endotelio intestinal, probablemente conducido por DC de las placas de Peyer
- Sphingosine 1-phosphate (S1P), regulador del tráfico de linfocitos



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS (DC)

DC cargadas con Ag-no patogénicos migran desde PP, LP o del epitelio, hacia los NLM

- Células dendríticas con antígenos provenientes de comensales son retenidas en los Nódulos linfáticos mesentéricos evitando su migración sistémicas y prevenir respuesta sistémica comensales específicos



Sistema inmune común de las mucosas : Células Dendríticas

Inducen la respuesta supresora, controlada por las células epiteliales intestinales a través de la liberación de linfopoyetina del estroma tímico (TSLP) y mucinas

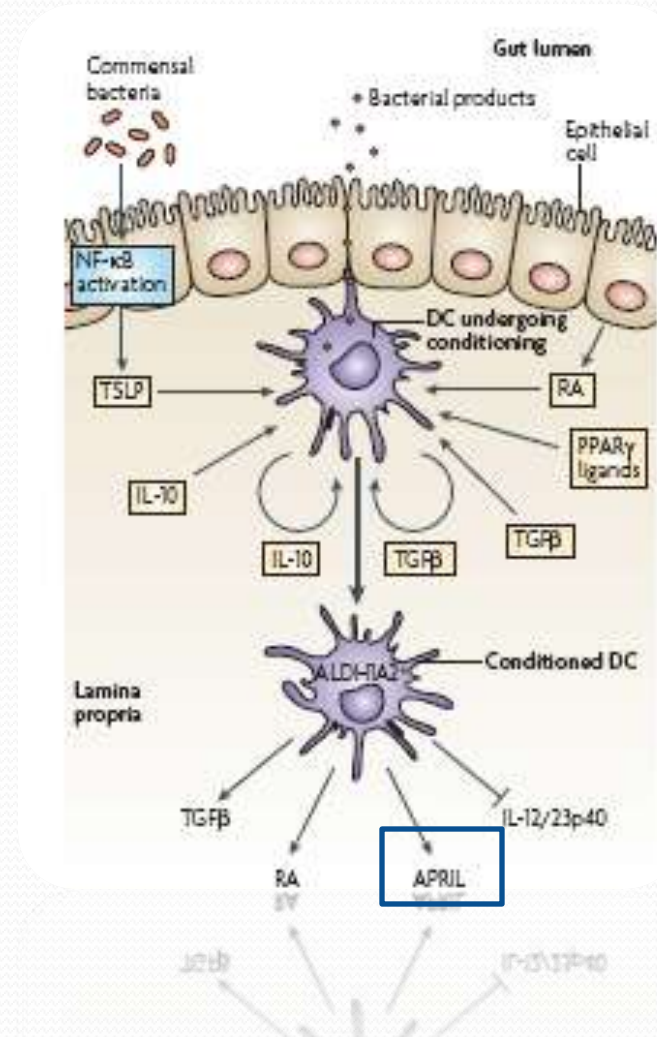
CD40

CD80

CD86

IL-12

IL-10



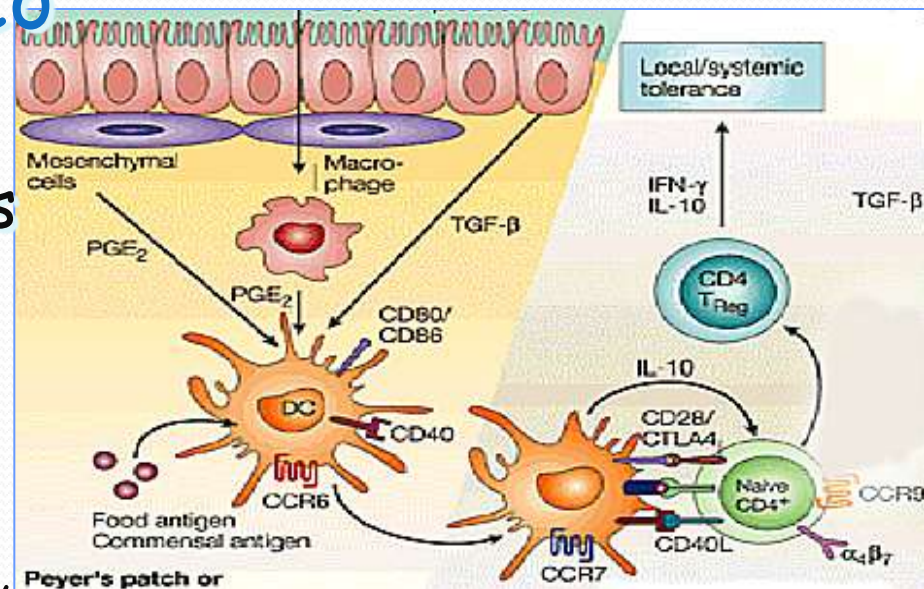
Sistema inmune común de las mucosas : Sitios inductores

- Células dendríticas poco estimuladoras:

- Baja expresión de moléculas co-estimuladoras

- Favorecido por $TGF\beta$ que es responsable del "switch" o cambio de isotipo hacia IgA

- Microambiente rico en $TGF-\beta$, producido tanto por células del estroma como por Treg



Co-estimulación ICOS/ICOSL y PD-1/PD-L conduce a la producción de IL-10

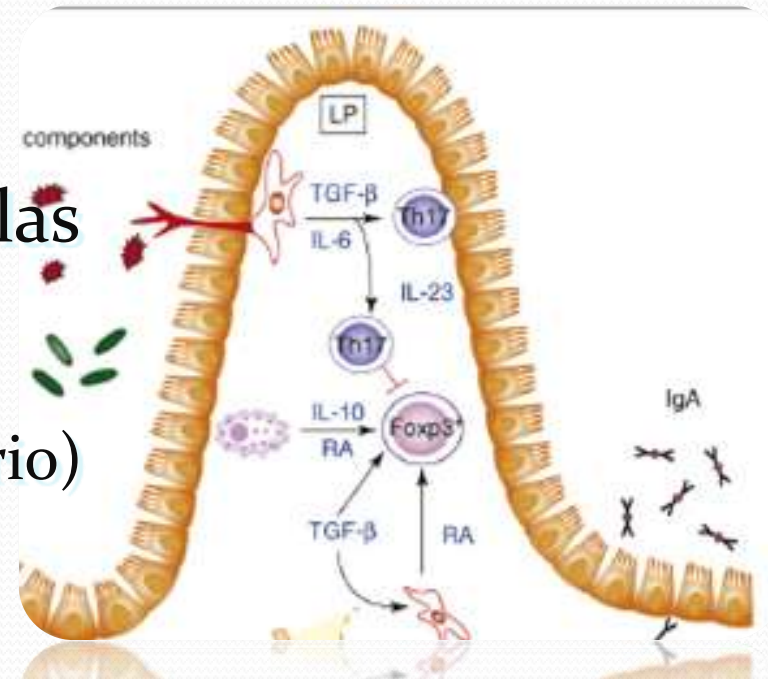
Sistema inmune común de las mucosas : SITIOS EFECTORES

- Lámina propia
 - Poblaciones CD4 y CD8
 - Microambiente de inmunosupresión
 - Células T y macrófagos LP inducen proliferación de células epiteliales intestinales
 - APC poco estimuladoras, IL-10, TGF- β

Sistema inmune común de las mucosas : SITIOS EFECTORES

- LAMINA PROPIA

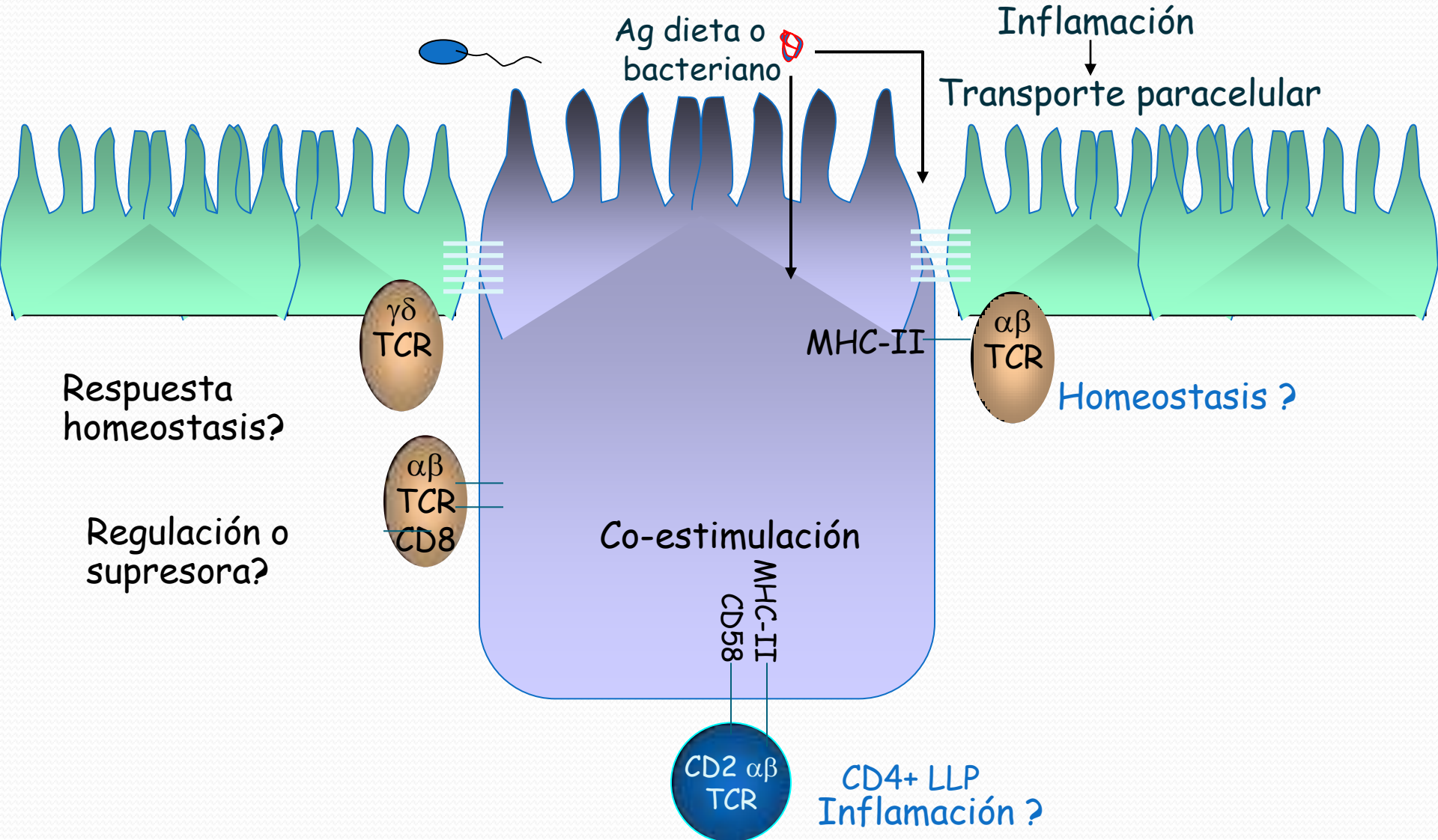
- Gran número de linfocitos B activados y células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos y mastocitos
- Sitio de maduración final de las células plasmáticas
 - 70-90% productoras de IgA (secretan de 3 a 5g de IgA diario)



Sistema inmune común de las mucosas: EPITELIO INTESTINAL

- **Células epiteliales intestinales**
 - Son células no fagocíticas que bajo condiciones no inflamatorias están equipadas para prevenir la invasión a través del epitelio
 - Expresan receptores Toll (TLR), como sensor para la detección de componentes de agentes infecciosos
 - Función de APCs no profesionales
 - No expresan B7.1 ni B7.2, ICAM-1
 - Ausencia de adecuadas moléculas co-estimuladoras = anergia

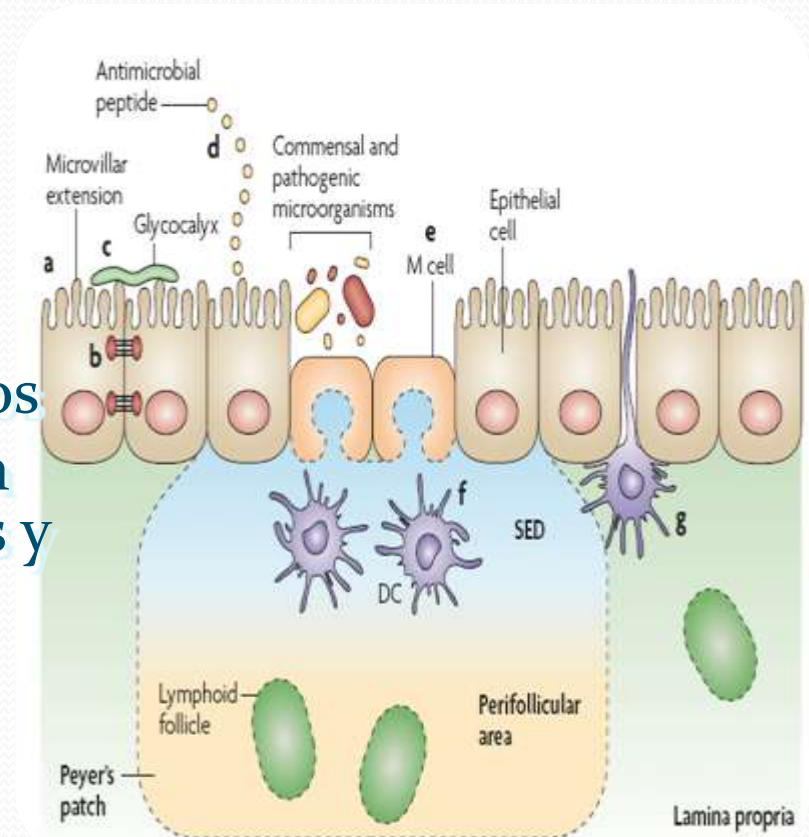
Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL



Sistema inmune común de las mucosas : SITIOS EFECTORES

Células epiteliales intestinales

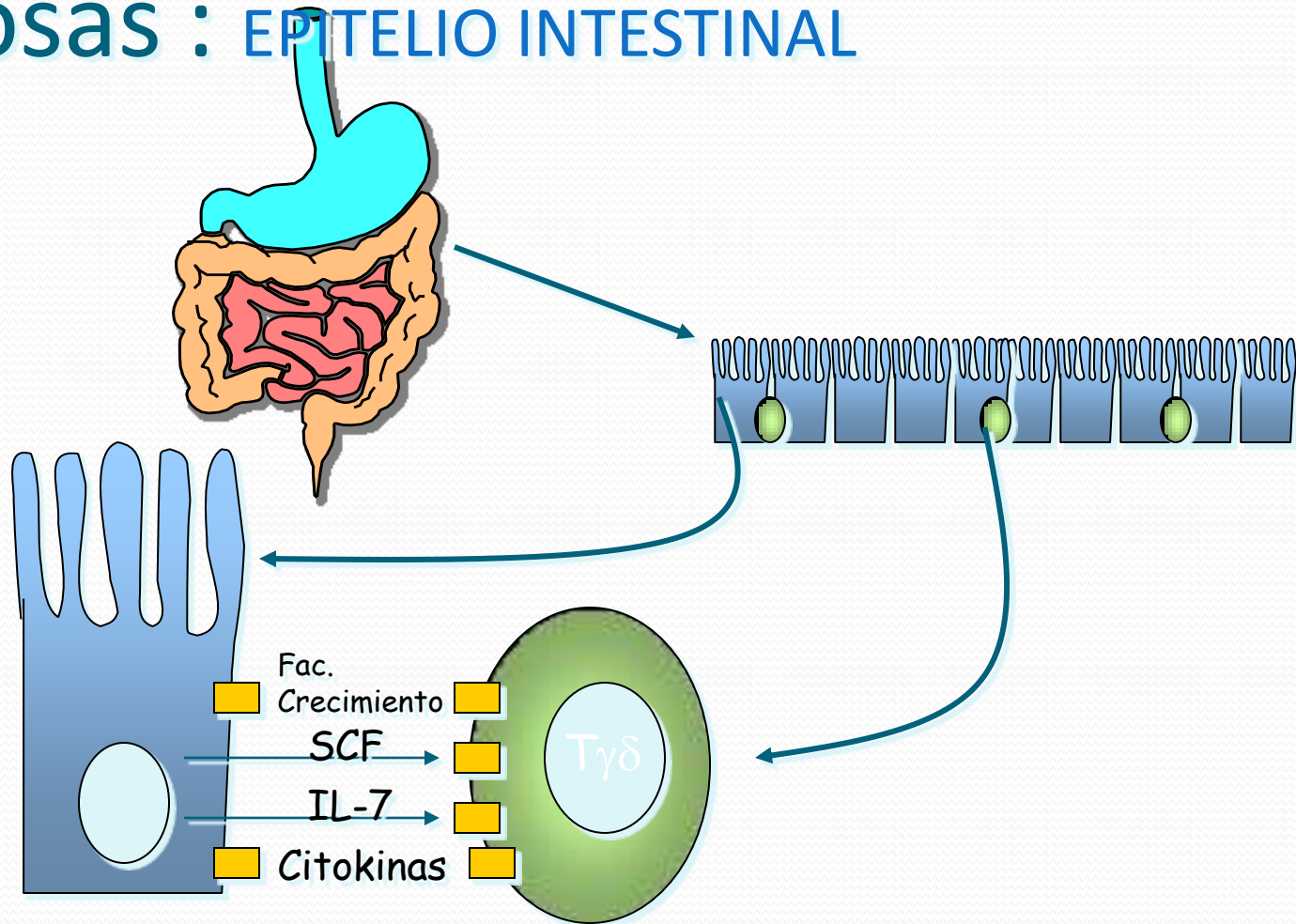
- Barrera para Ag extraños (alimentos y bacterianos)
- Pueden transportar Ag intactos
- Mantiene íntimo contacto con los linfocitos T intraepiteliales y lámina propia
 - Proyecciones basolaterales contactan con linfocitos T de la lámina propia



Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL

- Células epiteliales intestinales
 - Liberan defensinas
 - Producen y modulan la expresión de citokinas
 - Liberan: IL-1 α , IL-1 β , antagonista IL-1R, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α , IGF-II, GM-CSF, TGF- α , TGF- β ₁₋₃
 - α -Quemokinas que atraen neutrófilos (durante el proceso inflamatorio)
 - Expresan IDO, cyclooxygenase-2 y prostaglandina E₂
 - IL-7, papel en la ontogenia extratímica

Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL



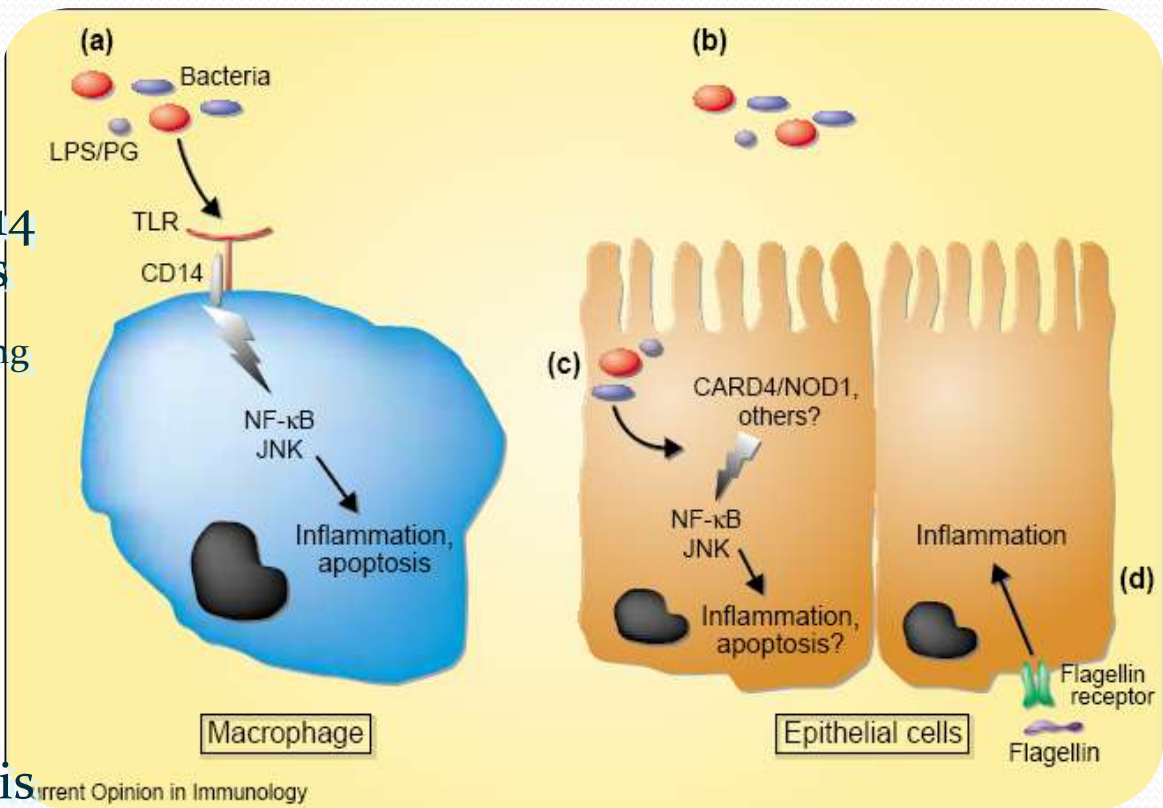
Linfocitos T intraepiteliales promueve la destrucción de IEC dañadas o infectadas. Interviene en el crecimiento y desarrollo de IEC

Sistema inmune común de las mucosas :

EPITELIO INTESTINAL

- CE discrimina entre patógeno o no, mediado por localización del reconocimiento (apical, intracelular o basolateral)
- Expresan TLR4, pero no CD14 bajo condiciones fisiológicas
- NOD2/CARD5 (nucleotide-binding oligomerization domains) media inhibición de señales proinflamatorias activadas por TLR2
- Mutaciones en NOD1, promueve alteración de la permeabilidad de la barrera epitelial y desarrollo de colitis

TRL2 confiere protección a la barrera epitelial, fortalece unión entre CE/CE

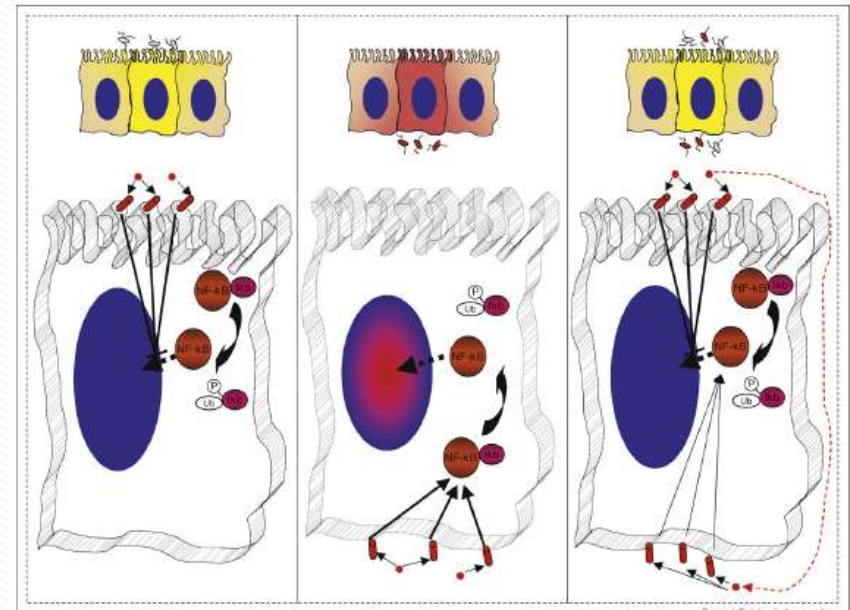


TLR5 basolateral, expresión de TIR (inhibidor de las señales de TLR4/TLR2)

Sistema inmune común de las mucosas: EPITELIO INTESTINAL

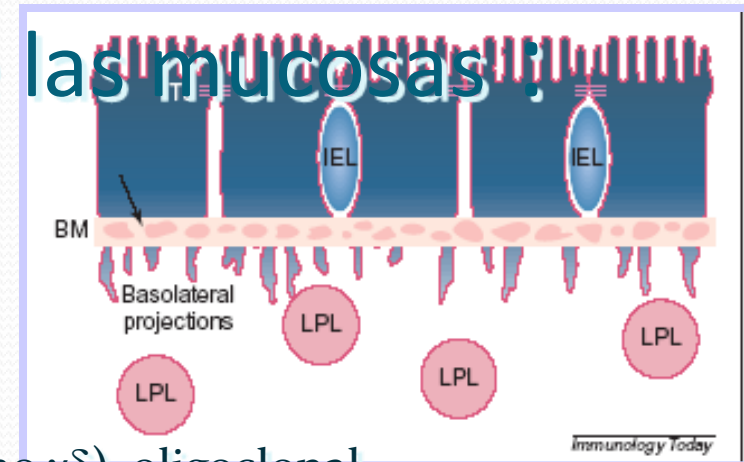
- Una porción de TLR₉, expresado tanto apical como basolateral en las células epiteliales (reconoce residuos CpG no metilados contenido en ADN bacterial)
- Comensales conducen a activación parcial de Nf- κ B, sin traslado al núcleo
- Invasores, activación completa de Nf- κ B (activación basolateral generación de respuesta inflamatoria)
- Señales apicales pueden contrarrestar la generación de respuesta inflamatoria activada por TLR₉ basolateral

TLR3, TLR7, TLR8 and TLR9, expression intracelular



Sistema inmune común de las mucosas !

EPITELIO INTESTINAL



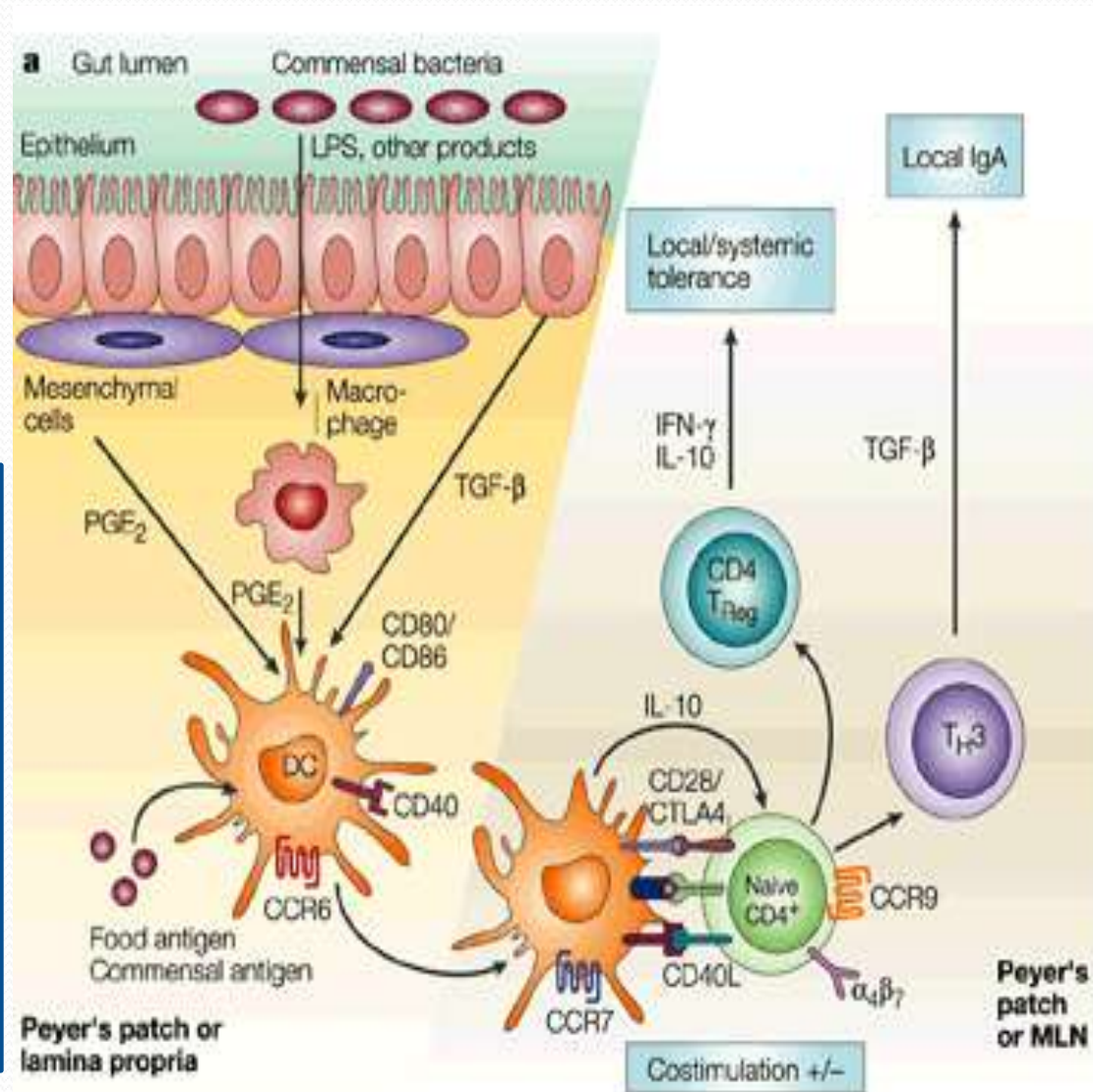
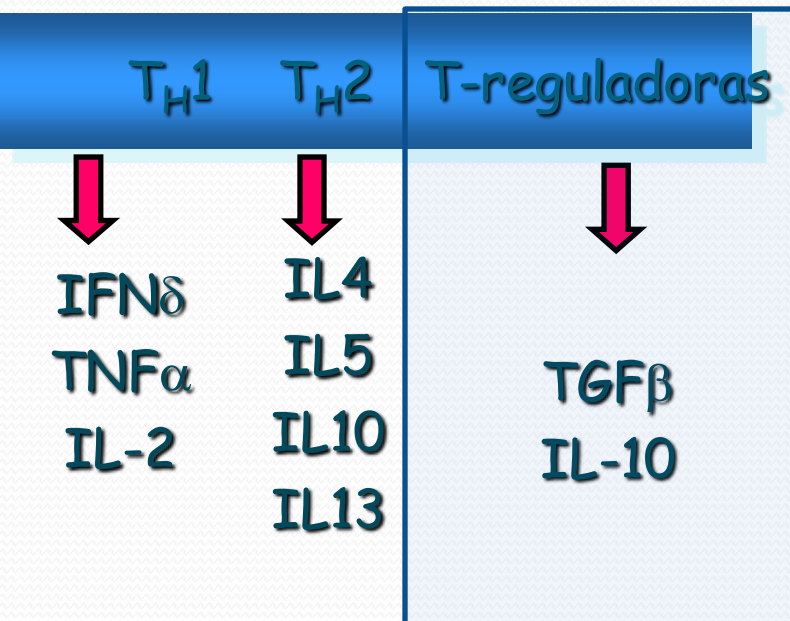
- Linfocitos T intraepiteliales:
 - Especificidad limitada de TCR (tanto $\alpha\beta$ como $\gamma\delta$), oligoclonal
 - 40% son TCR $\gamma\delta$
 - Criptas intestino delgado ontogenia de linfocitos T $\gamma\delta$
 - Linfocitos T CD8 $\alpha\alpha$
 - Celulas NK
- T-TCR $\gamma\delta$
 - Regulan la producción de IgAs
 - Involucrados en prevenir autoinmunidad y reparación del tejido dañado durante la inflamación
 - Reconocen Ag sin procesamiento previo

Sistema inmune común de las mucosas : SECRECIÓN DE LA IgAS

- Características de la IgA
 - Inmunoglobulina no inflamatoria, une débilmente el complemento
 - Abunda en las secreciones
 - En la circulación se encuentra en forma monomérica, mientras que en las secreciones está en forma dimérica
 - Componente secretor la protege de las enzimas proteolíticas

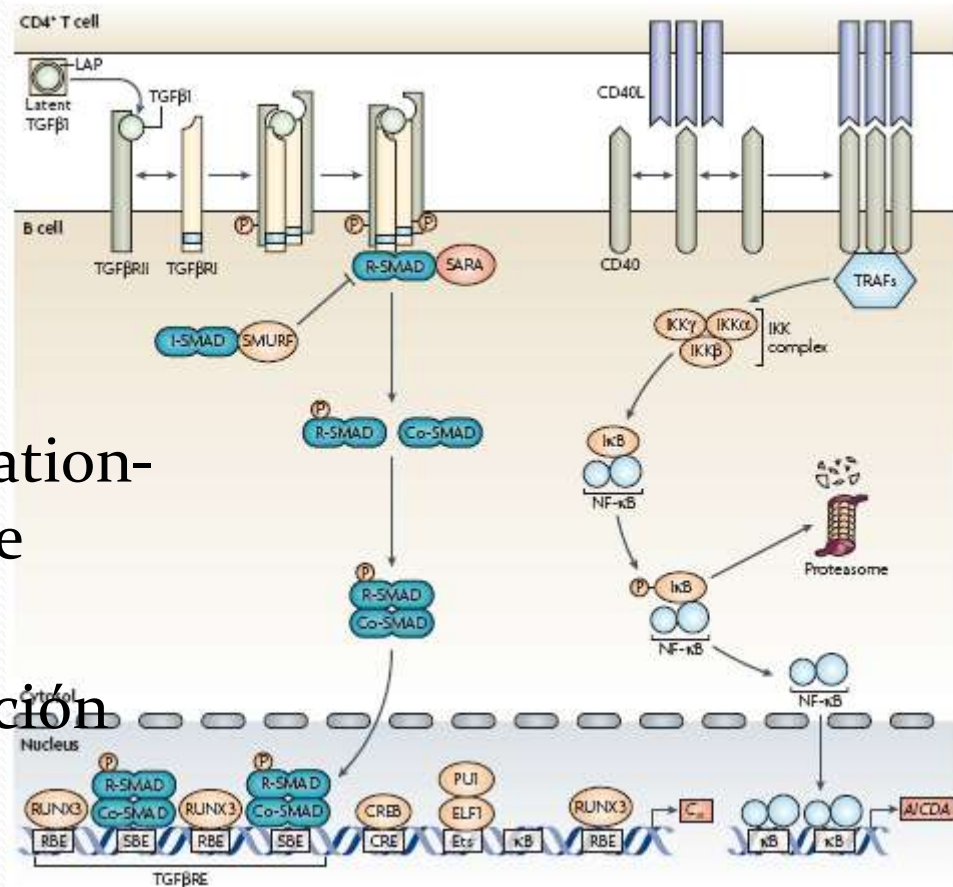
Sistema inmune común de las mucosas : Control de la producción de IgAs

- Células efectoras y reguladoras

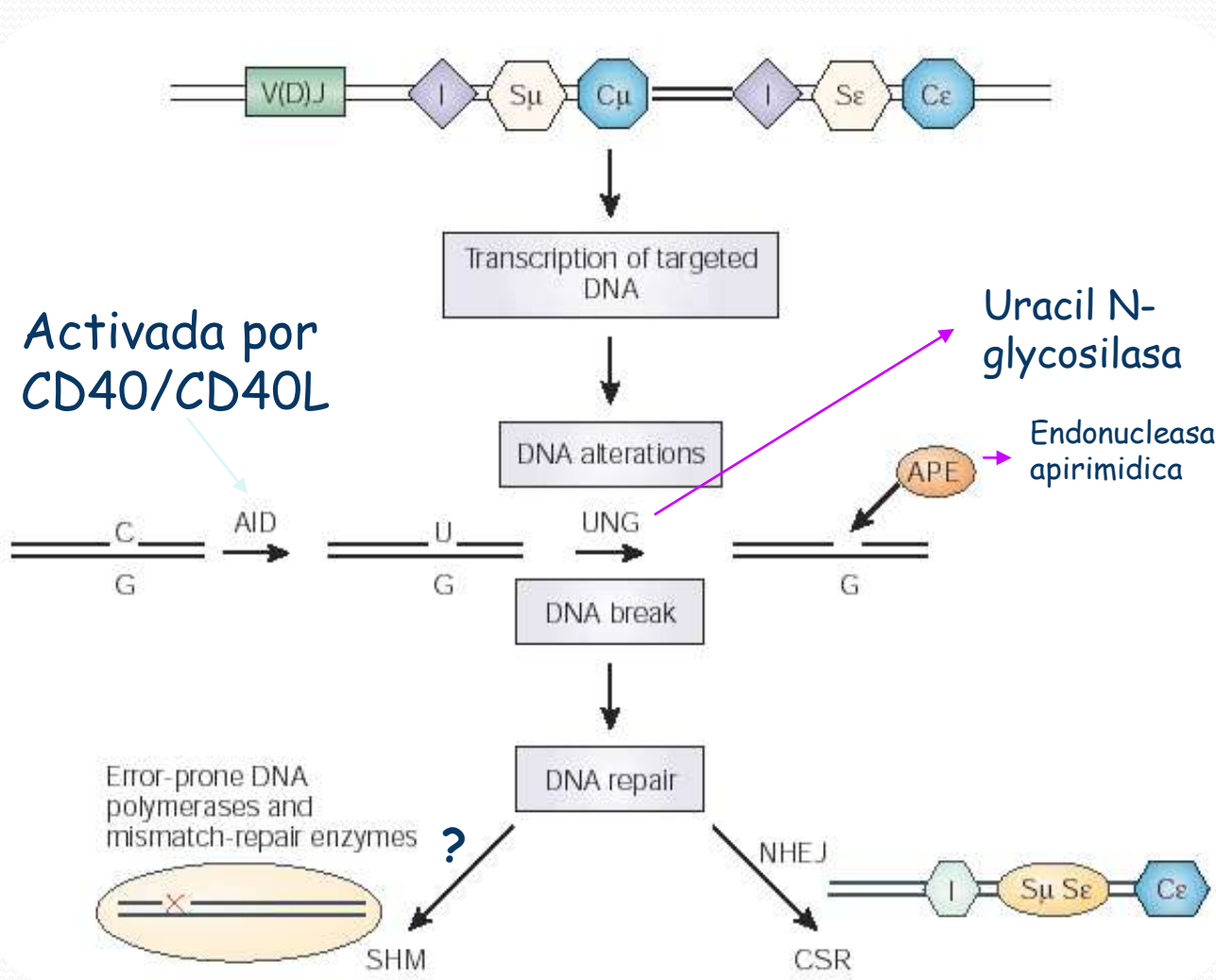


Sistema inmune común de las mucosas : Control de la producción de IgAs

- Producción de IgA dependiente de células T
 - Participación de señales dependiente de TGF- β y de CD40-CD40L
 - CD40-CD40L activa a activation-induced cytidine deaminase (AICD)
 - Señales de TGF- β transcripción de cadena contante alfa



Hipermutaciones somáticas y cambio de isotipo

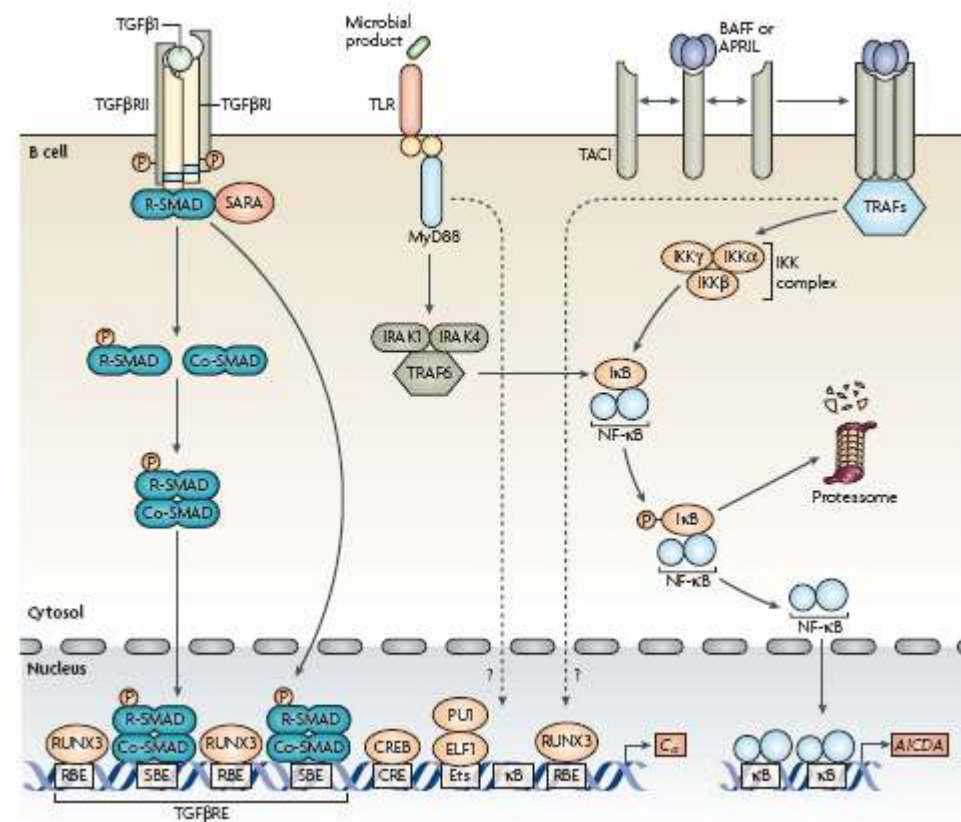


Citidin deaminasa inducida por activación (AID)
Cada isotipo es regulado por citoquinas

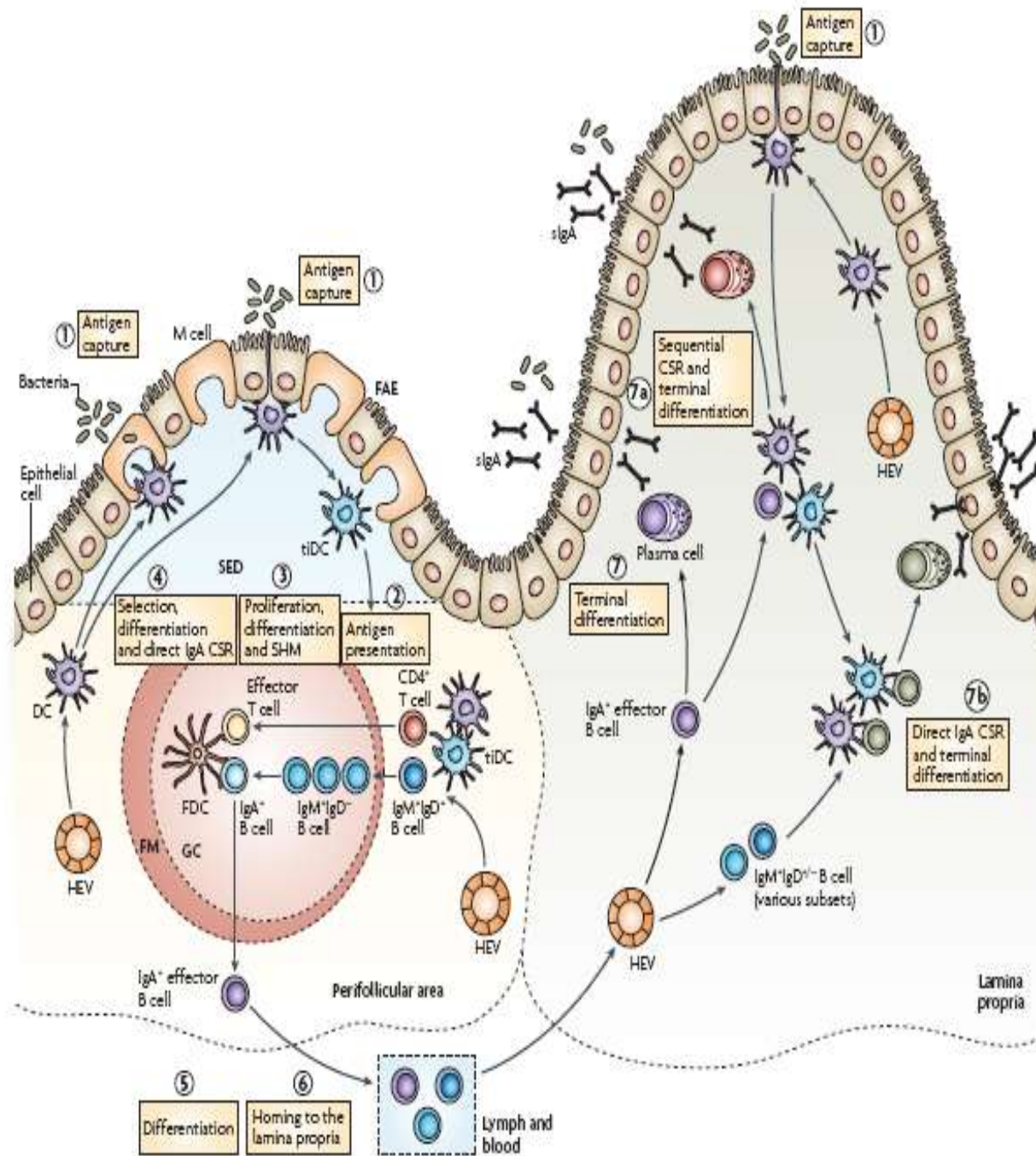
Sistema inmune común de las mucosas : Control de la producción de IgAs

TSLP induce expresión de BAFF y APRIL sobre las células dendríticas

- Señales T-independientes
- Requiere de la colaboración de DC y expresión de BAFF (B₁, dependiente de B cell activating factor of the TNF family), APRIL (A-proliferation-inducing ligand)

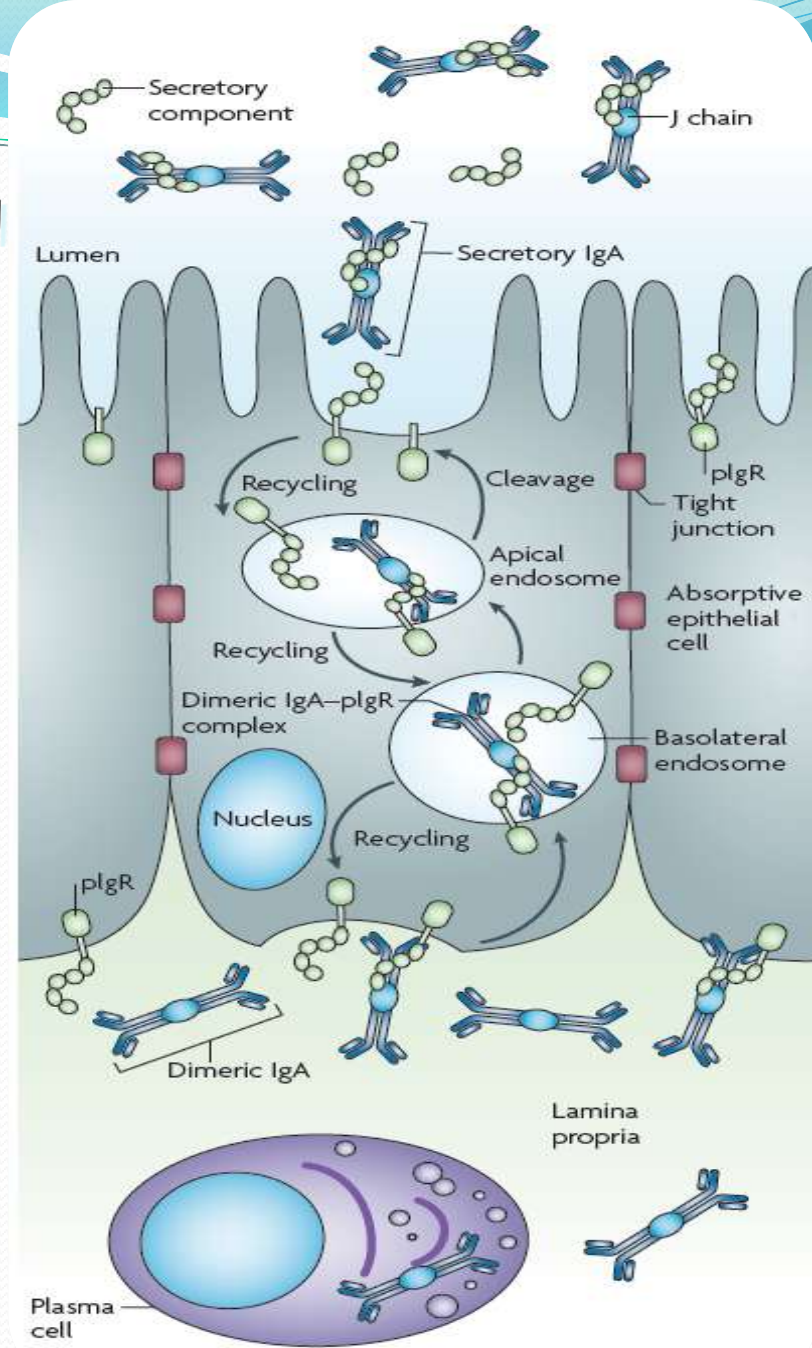


El 80% de las células plasmáticas ubicadas en la lámina propia son productoras de IgA



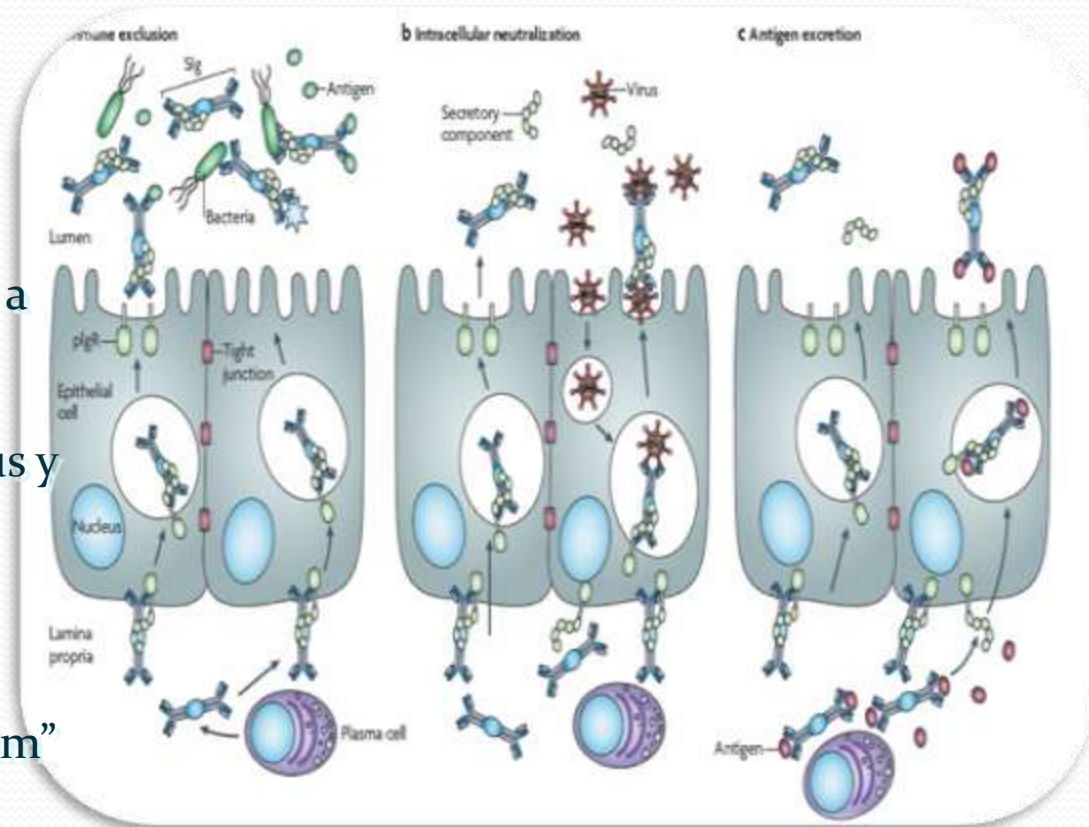
Sistema inmune común de las mucosas: Transporte de IgA a través del Epitelio

- Predominantemente en forma dimerica, por la unión a la cadena J
- Permite su asociación con el receptor de inmunoglobulina polimérica (pIgR)
- Favorece transcitosis de IgA hacia la luz a través de CE
- Componente secretor confiere propiedades mucofilicos



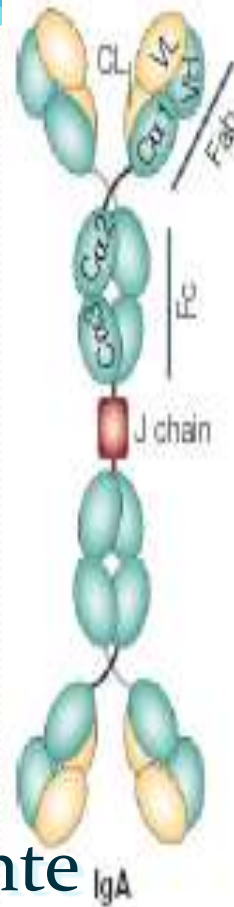
Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

- Funciones de la IgA secretoria (IgAS)
 - Exclusión antigénica, impide la entrada de antígenos
 - Expulsa antígenos de la lámina propia utilizando en transporte a través del receptor de Ig polimérica
 - Neutraliza la replicación de virus y Ag pro-inflamatorios por promover su exporte
 - Incapacidad para activar complemento
 - Favorece la formación de “biofilm” que permite crecimiento de comensales y atenúa patógenos



Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

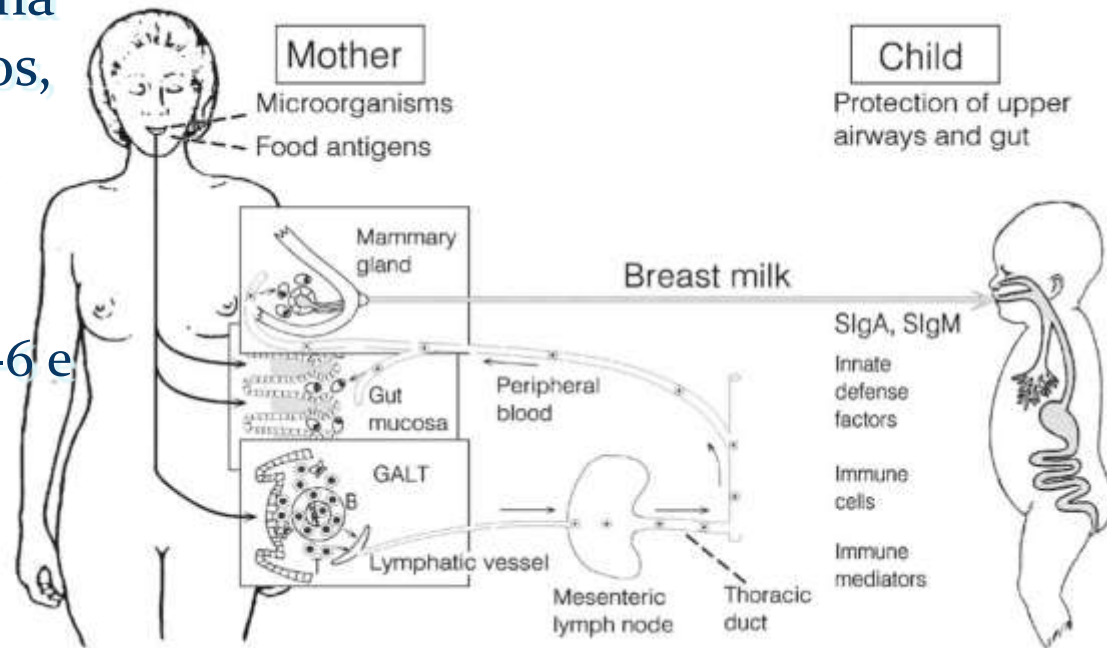
- Factores que favorecen la liberación de IgAs
 - TGF β media el cambio de isotipo
 - IL-6 inductor de la producción de IgA
 - TNF α induce la liberación del componente secretor
- Lactancia materna, calostro, rico en estas citokinas



Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

- Lactancia materna e inmunidad de las mucosas
 - Mayor protección contra infecciones, alergias y asma
 - Calostro tienen monocitos, neutrófilos y linfocitos, captados por el epitelio y liberan factores inmunorreguladores
 - Interleukinas (TGF- β , IL-6 e IL-10) involucradas en la inducción de IgA

Promueve mutualismo, ausente en el neonato previo a la exposición con microorganismos y en ratones "germ-free"

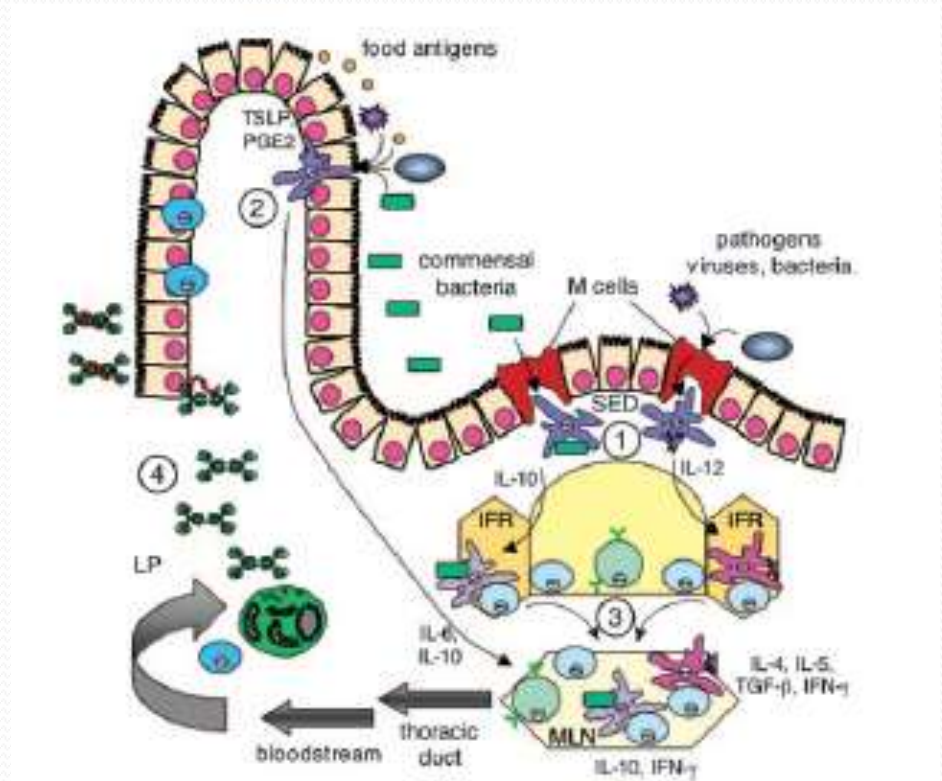


Sistema inmune común de las mucosas

- Hipótesis de la higiene
 - Países desarrollados tienen alta incidencia de enfermedades alérgicas
 - La ausencia de exposición temprana a microorganismos conduce a respuesta aberrante frente a los antígenos inocuos
 - Alternativamente: la alteración de la microflora intestinal (uso de antibióticos o tipo de dieta), podría conducir a la alteración de la tolerancia
 - La tolerancia oral no puede generarse en animales libres de gérmenes comensales

Resumen

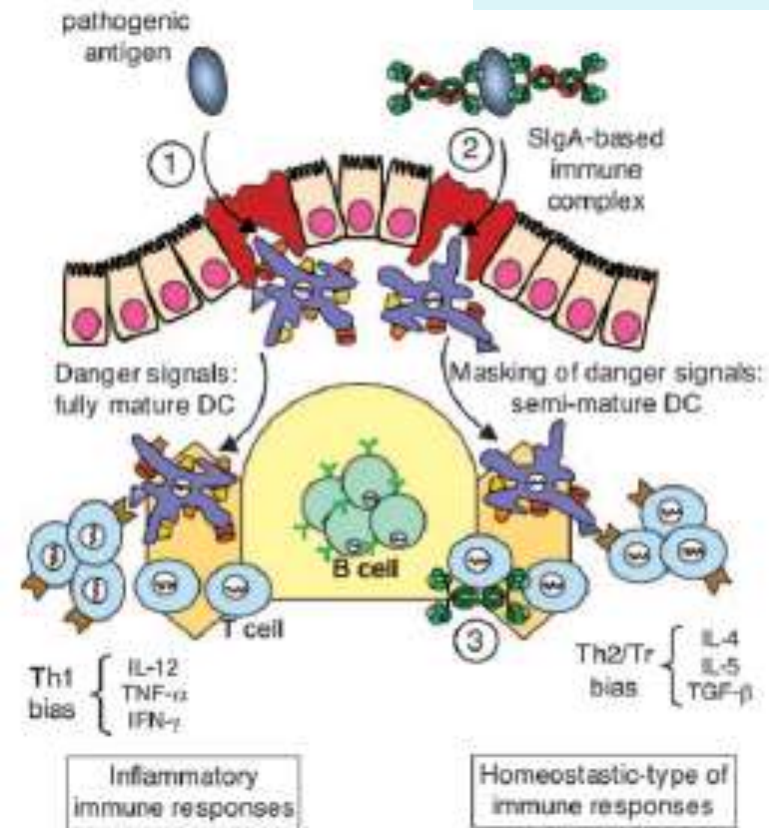
- 1. Microorganismos son transportados por las células M y capturados por las DC inmaduras en el DSE. Induce activación de DC y migración hacia las zona T (interfolicular) y al los NLM (dos principales sitios de presentación Ag a T naïve)
- 2. Captura de Ag directamente del lumen por digitaciones propias de las DC a través del epitelio y viajan a los NLM adyacente y presentan el Ag (no se sabe si difiere en la respuesta efectora inflamatoria)
- 3. El grado de activación y propiedades migratorias dependerá del tipo de Ag, microambiente local, y de la condición e integridad del epitelio
- 4. La IgAS en la lamina propia



Sistema inmune común de las mucosas: Sitios inductores

- Caso 1: Antígeno proveniente de un patógeno, entra a través de las Células M conduce a una respuesta local pro-inflamatoria que genera producción de IgA neutralizante
- 2. Caso 2: segundo desafío antigénico por re-exposición al patógeno, formación de complejos inmune, captura vía receptor de IgA por las Células M, previene activación de señales proinflamatoria
 - Interacción de IgAS con células T CD4, regulación negativa de su activación, mantenimiento de la homeostasis

Complejos inmunes/IgAS son capturados preferencialmente por DC CD11c+/CD11b+, productoras de IL-10

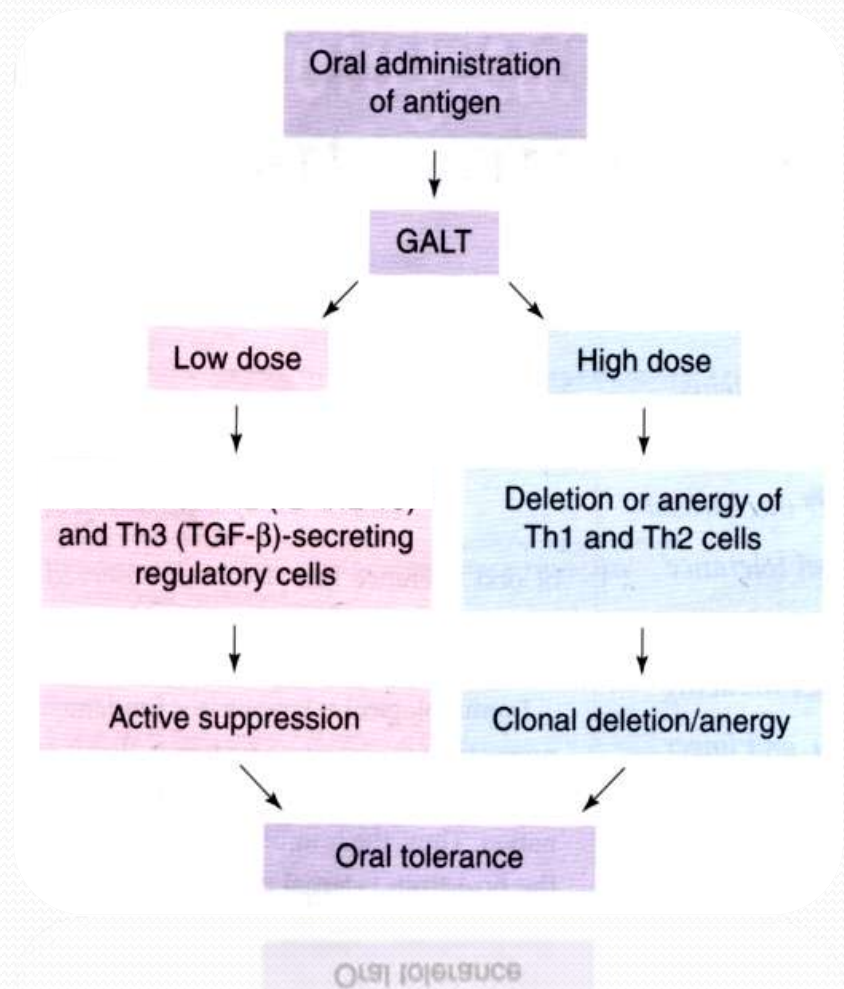


Sistema inmune común de las mucosas

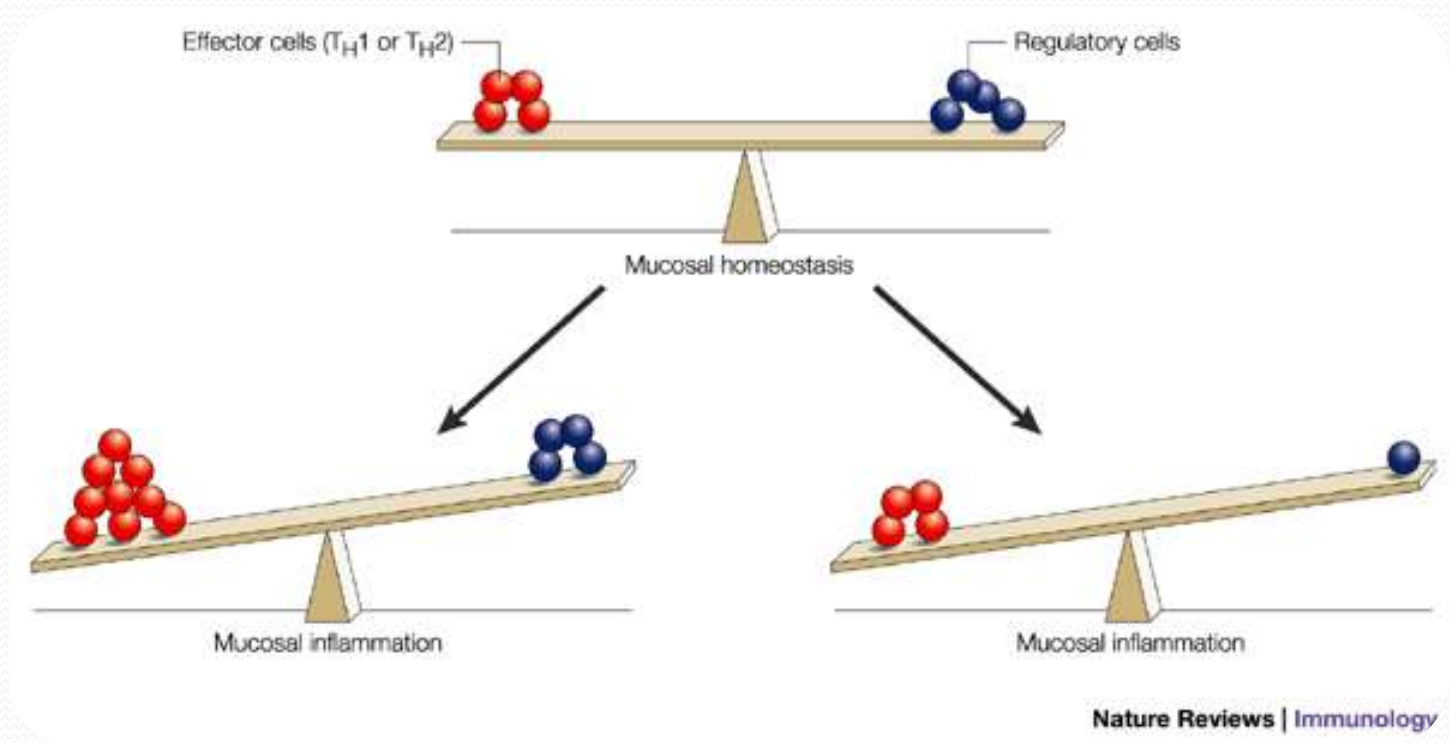
- Porque los microorganismos comensales no activan la respuesta inmune?
 - No inducen maduración de las células dendríticas, y activan subpoblaciones diferentes, en ausencia de microambiente inflamatorio
 - Señales diferenciales recibidas por receptores Toll aún no identificados ???? , además de compartalización de estos receptores (basolateral e intracelular)
 - Mutualismo entre las células epiteliales y comensales (activación de TLR2 y TLR9 incrementa funciones de barrera y efecto anti-inflamatorio)
 - El epitelio intestinal puede evaluar si se trata de un comensal o patógeno

Sistema inmune común de las mucosas: TOLERANCIA ORAL

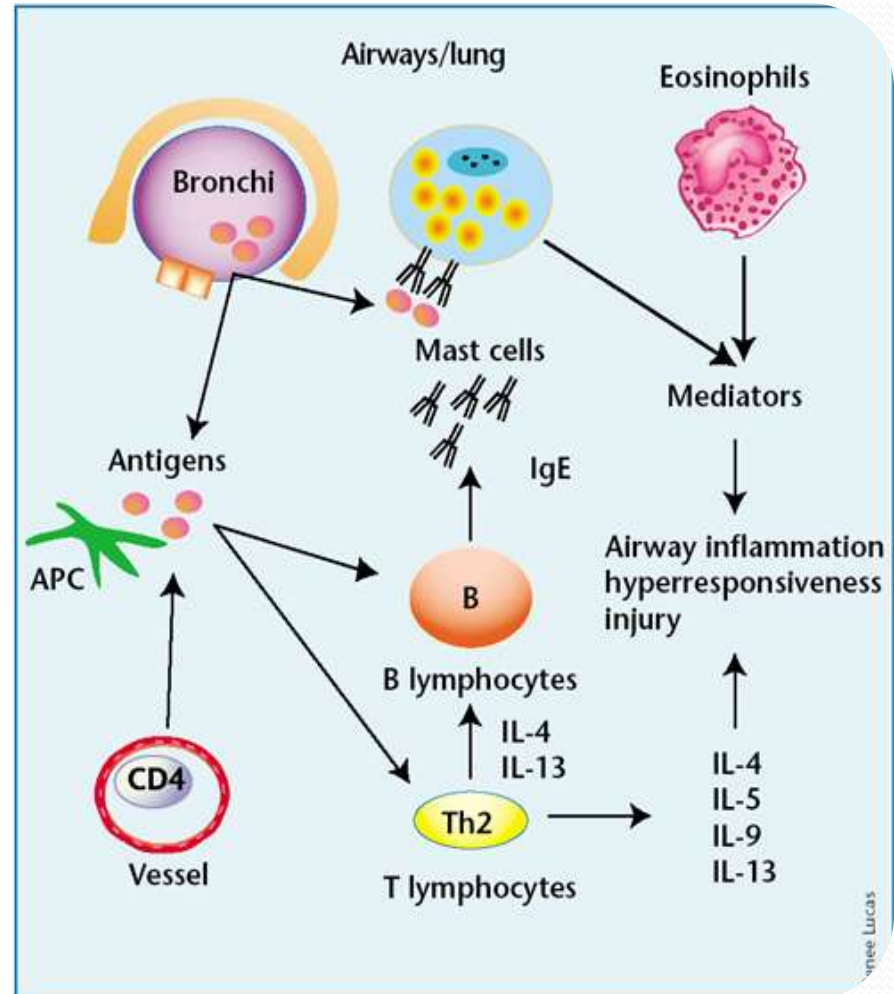
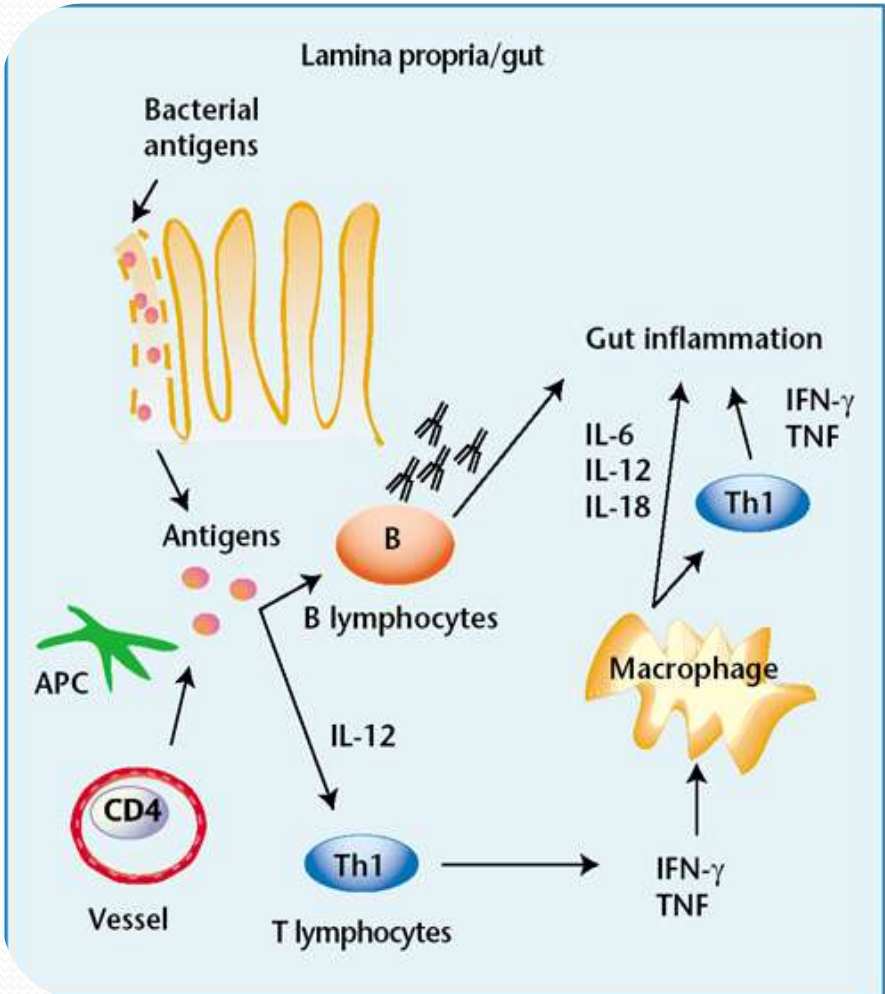
- Posible utilidad en el tratamiento de enfermedades autoinmunes
- Mecanismos:
 - Supresión celular activa
 - Eliminación clonal
 - Anergia



Sistema inmune común de las mucosas



Sistema inmune común de las mucosas



Sistema inmune común de las mucosas

