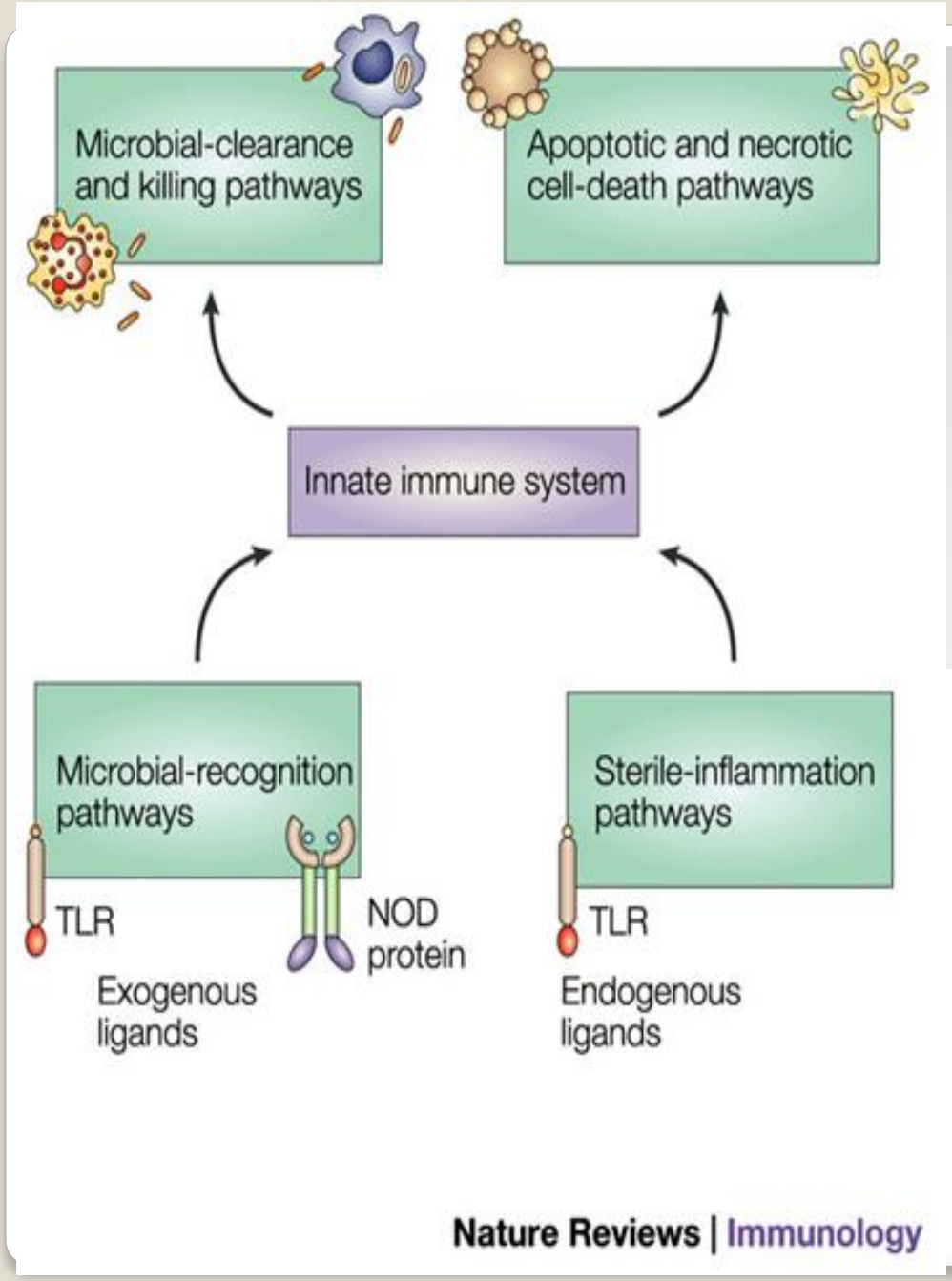
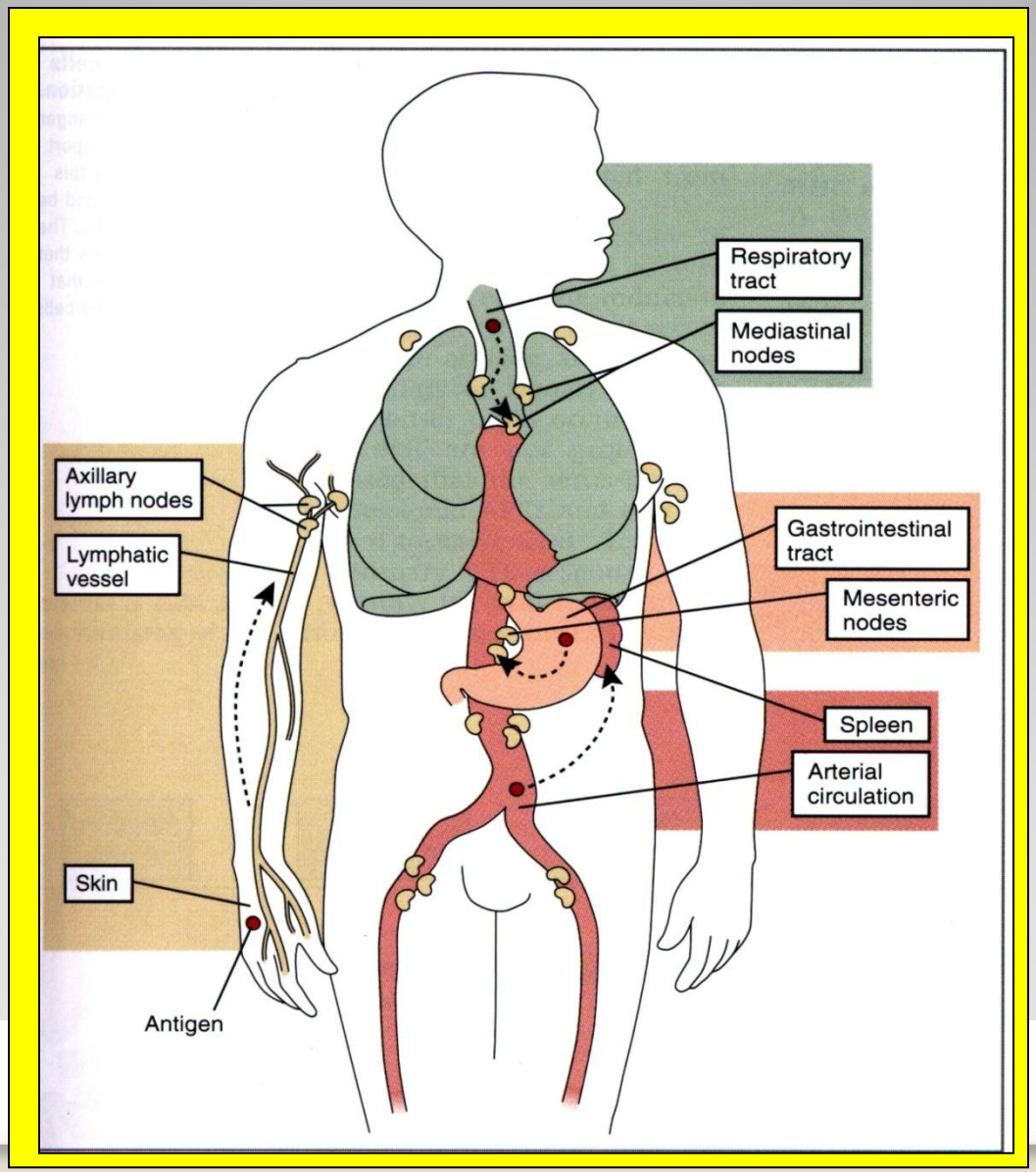


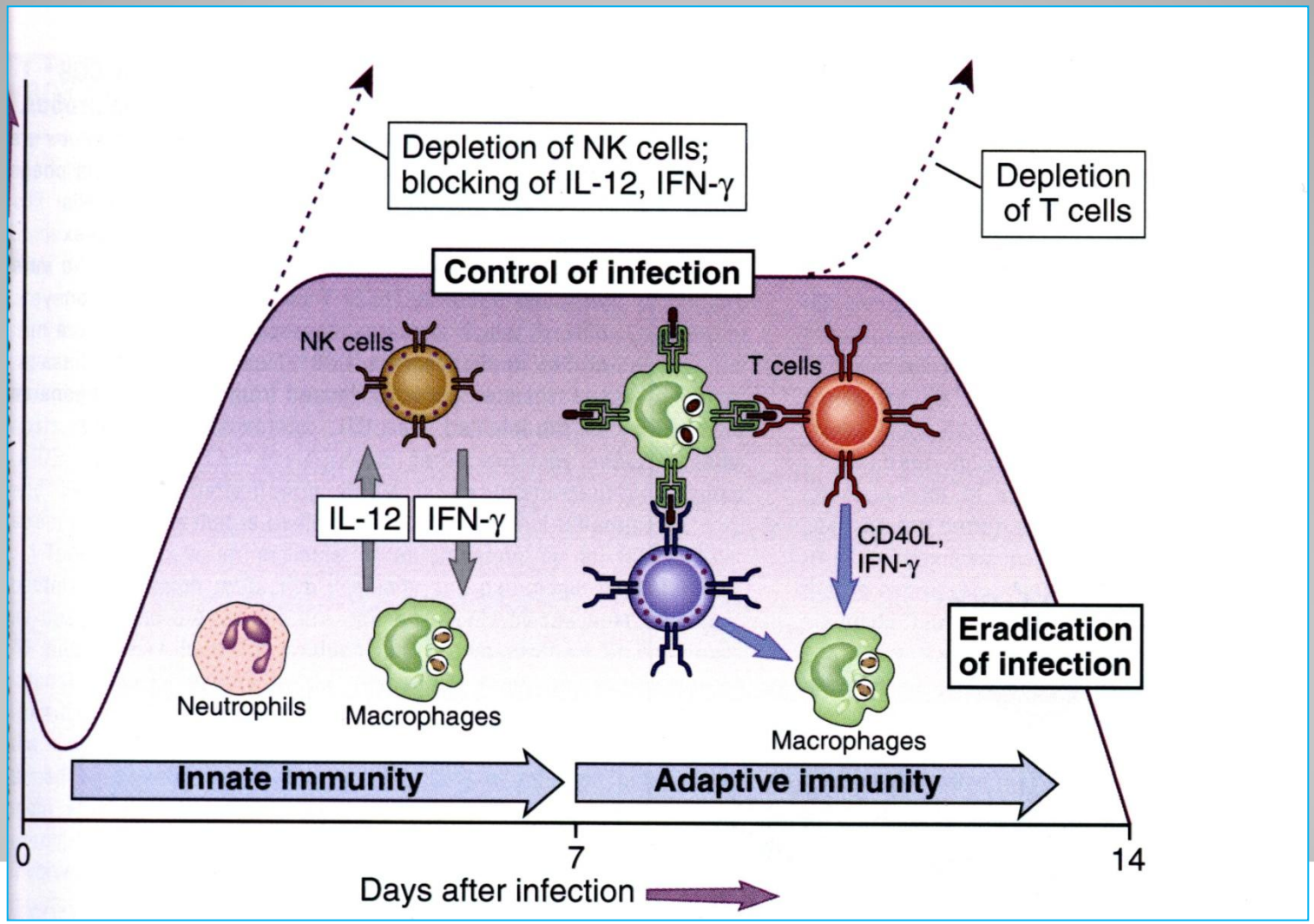

# Fisiología de la RI: Inmunidad Innata

Lisbeth Berrueta,
IDIC-ULA 2010

# Respuesta inmune



# Tipos de respuesta inmune




Abbas A. Et al, 2000

Janeway C.A. And Medzhitov R. Ann Rev Immunol, 2002. 20:197-216

# Sistema inmune innato

- Sistema muy conservado y evolucionado presente en plantas y animales
- Tiene como lecho una respuesta inflamatoria iniciada por macrófagos, polimorfonucleares y mastocitos a través de receptores de la immunidad innata
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales
- Reconocimiento de patógenos mediado por receptores: PAMPs (LPS y CpG de ADN bacteriano)

Janeway C.A. And Medzhitov R. Ann Rev Immunol, 2002. 20:197-216

| Propiedad | Sistema Inmune innato | Sistema inmune adaptativo |
|---|---|---|
| Receptores | Sin rearreglo | Rearreglo implícito |
| Distribución | No clonal | Clonal |
| Reconocimiento | Patrones moleculares conservados | Detalles de la estructura molecular |
| Discriminación entre lo propio y lo extraño | Perfecta, seleccionado Ancestralmente | Imperfecto: seleccionado a nivel celular |
| Tiempo de acción | Inmediato | Retardado |
| Respuesta | Moléculas co-estimuladoras, citocinas y quimiocinas | Expansión clonal o anergia<br>IL-2, citokinas efectoras |

# Componentes de la inmunidad innata

| Componente | Función |
|---|---|
| **Barreras** | |
| Capas del epitelio | Prevenir la entrada de microorganismos |
| Defensinas, linfocitos intraepiteliales | Muerte de microorganismos |
| **Células efectoras circulantes** | |
| Neotrófilos | Fagocitosis temprana, muerte de microorganismos |
| Macrófagos | Fagocitosis, muerte de microorganismos, activación de respuesta inflamatoria |
| Células NK | Muerte de células infectadas, activación de macrófagos |
| **Proteínas efectoras circulantes** | |
| Complemento | Muerte de microorganismos, opsonización, activación de leucocitos |
| Lectina de unión a manosa (colectinas) | Opsonización, activación del complemento |
| Proteína C reactiva (pentraxina) | Opsonización, activación del complemento |
| Factores de coagulación | Compartalización de tejidos infectados |
| **Citocinas** | |
| TNF, IL-1, quimiocinas | Inflamación |
| IFN-α y β | Resistencia a infecciones virales |
| IFN- γ | Activación de macrófagos |
| IL-12, !L-18, IL-23 | Producción de IFN-γ por NK y células T |
| IL-15 | Proliferación de células NK |
| IL-10, TGF- β | Control de la inflamación |

Medzhitov R, Nature review in Immunoogy, 2001,
Akira S and Takeda K, Nature review in Immunology, 2005

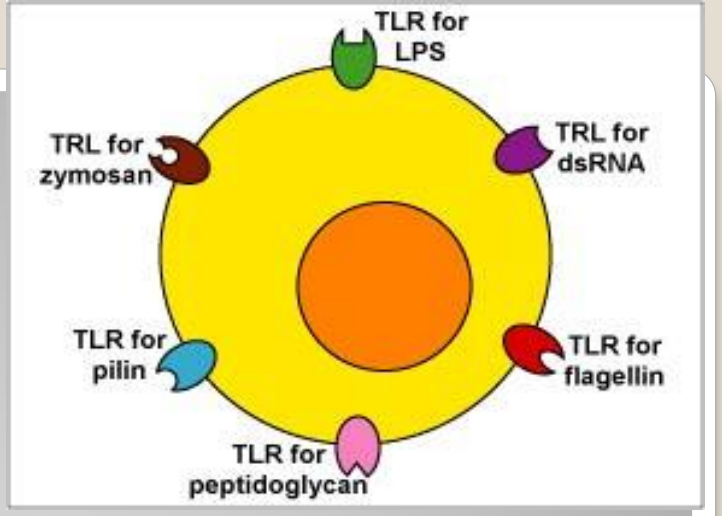
# Reconocimiento inmune innato

- Basado en el reconocimiento de productos constitutivos conservados
- Pertenecientes a vías metabólicas únicas a los microorganismos y ausentes del hospedador, esenciales para la sobrevivencia del microorganismo, Ej: LPS, lipoproteínas, peptidoglicano y ácido lipoteicoico
- Permite la identificación de "huellas dejadas por los microorganismos", ausentes del hospedador: sensores de la presencia de infección

# Receptores de la inmunidad Innata

- Distintas clases de PRR dentro de ellos están los receptores Toll
- Funciones de activación de la cascada del complemento y fagocitosis. Iniciación de cascada de señalización que conduce a activación de la inmunidad innata
- Activación de inmunidad adaptativa
- Control mediante la participación de moléculas coestimuladoras, citocinas y quimiocinas (células dendríticas)

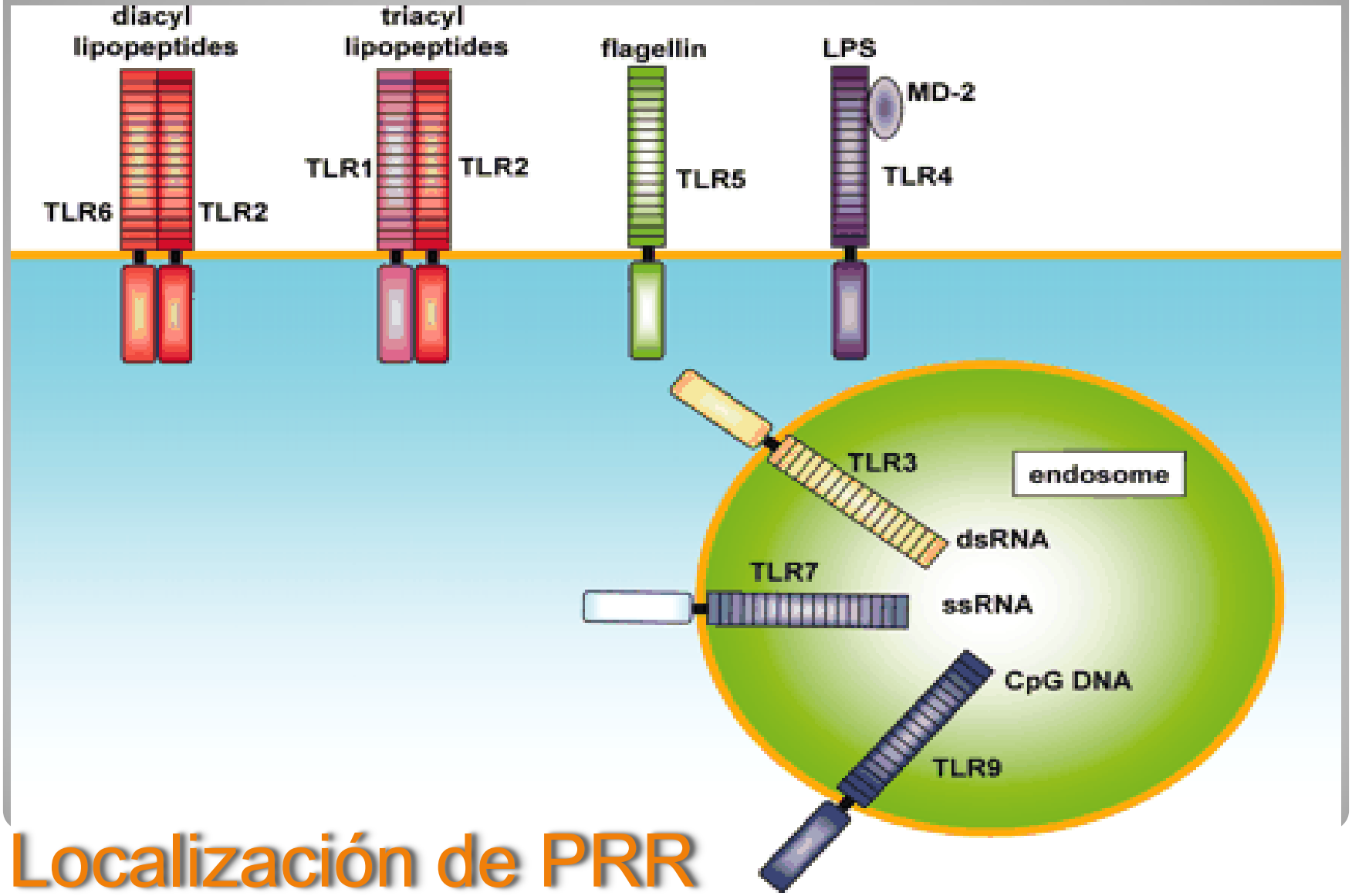
Akira Shizuo. Curr Opin Immunol, 2003, 15:5-11.
Pasare C. And Medzhitov R. Curr Opin Immunol, 2003, 15:1-6.
Goldstein DR. Curr Opin Immunol. 2004)
Takeda K and Akira S. International Immunol. 2005. 17:1, 1-14
Beufler B. Blood 2009




# Receptores Toll (TLR)

- Reconocen bacterias, hongos y virus
- Reconocimiento de motivos altamente conservados: patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS)
- 13 receptores Toll hasta ahora descritos
- Dominio extracelular rico en leucina
- Dominio intracitoplasmático similar al receptor de IL-1 (TIR)
- Señalización a través de: MyD88, kinasa asociada al receptor de IL-1 (IRAK), factor asociado al receptor del TNF (TRAF), Map kinasas y (NF)-κB

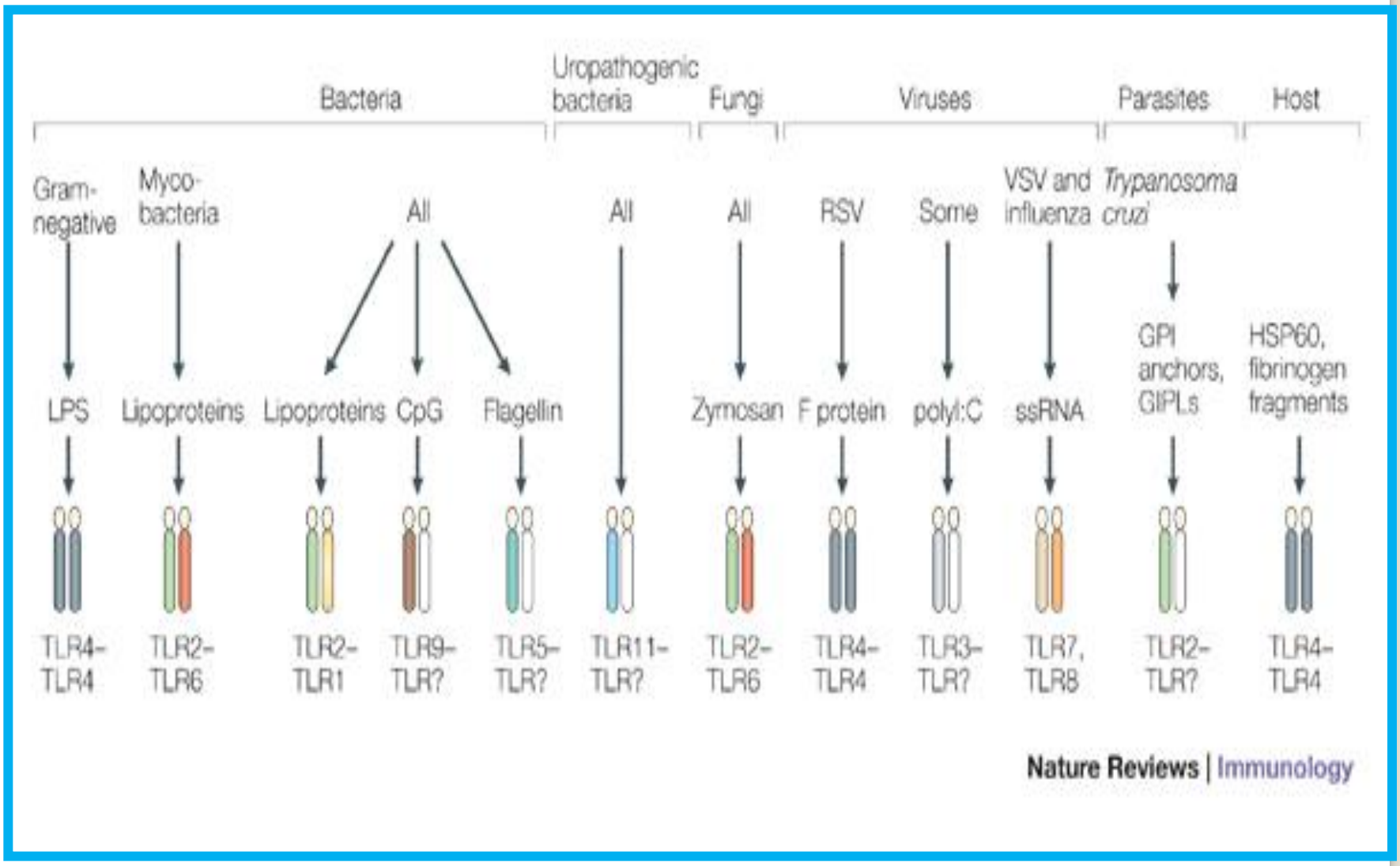
Takeda K and Akira S. International Immunol. 2005. 17:1, 1-14



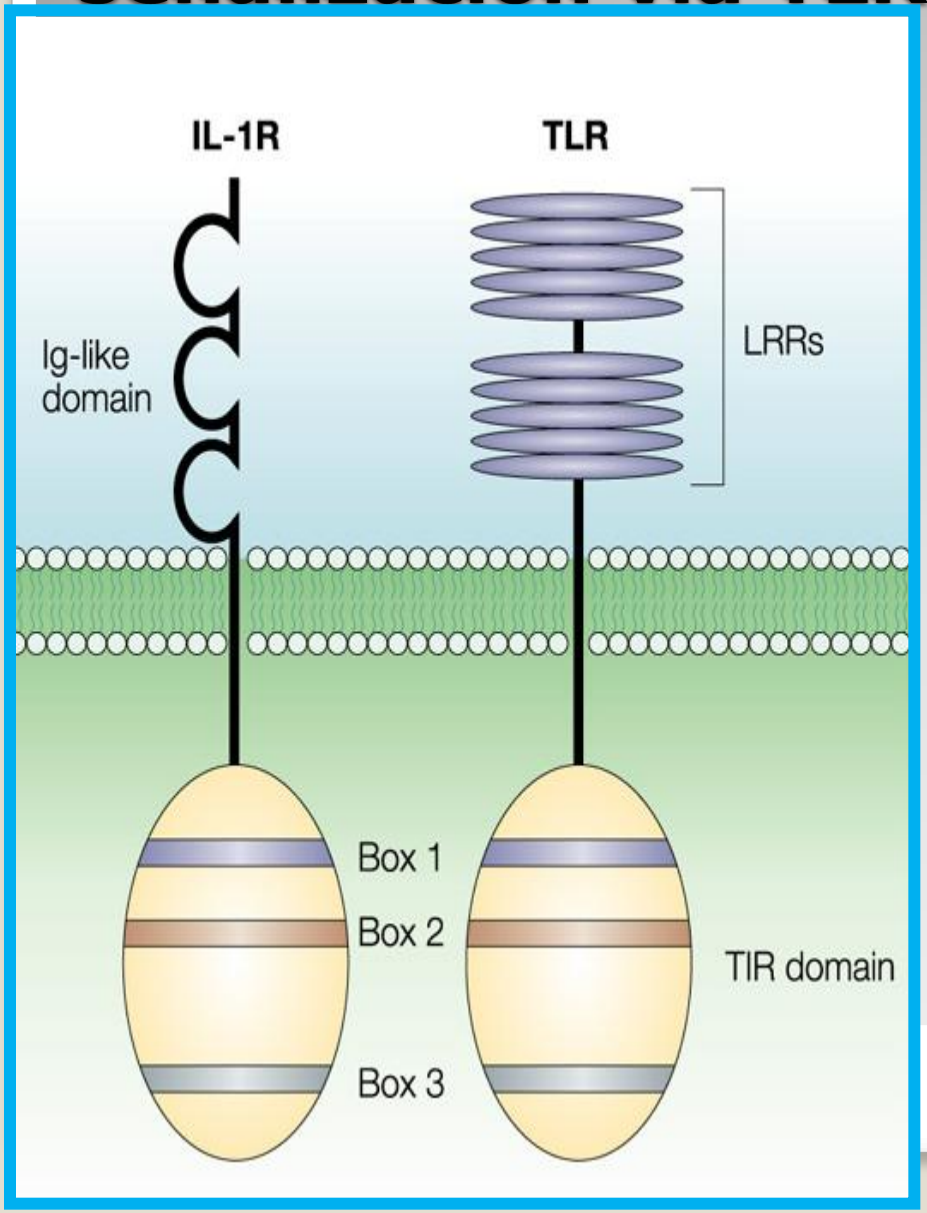

# Localización de PRR

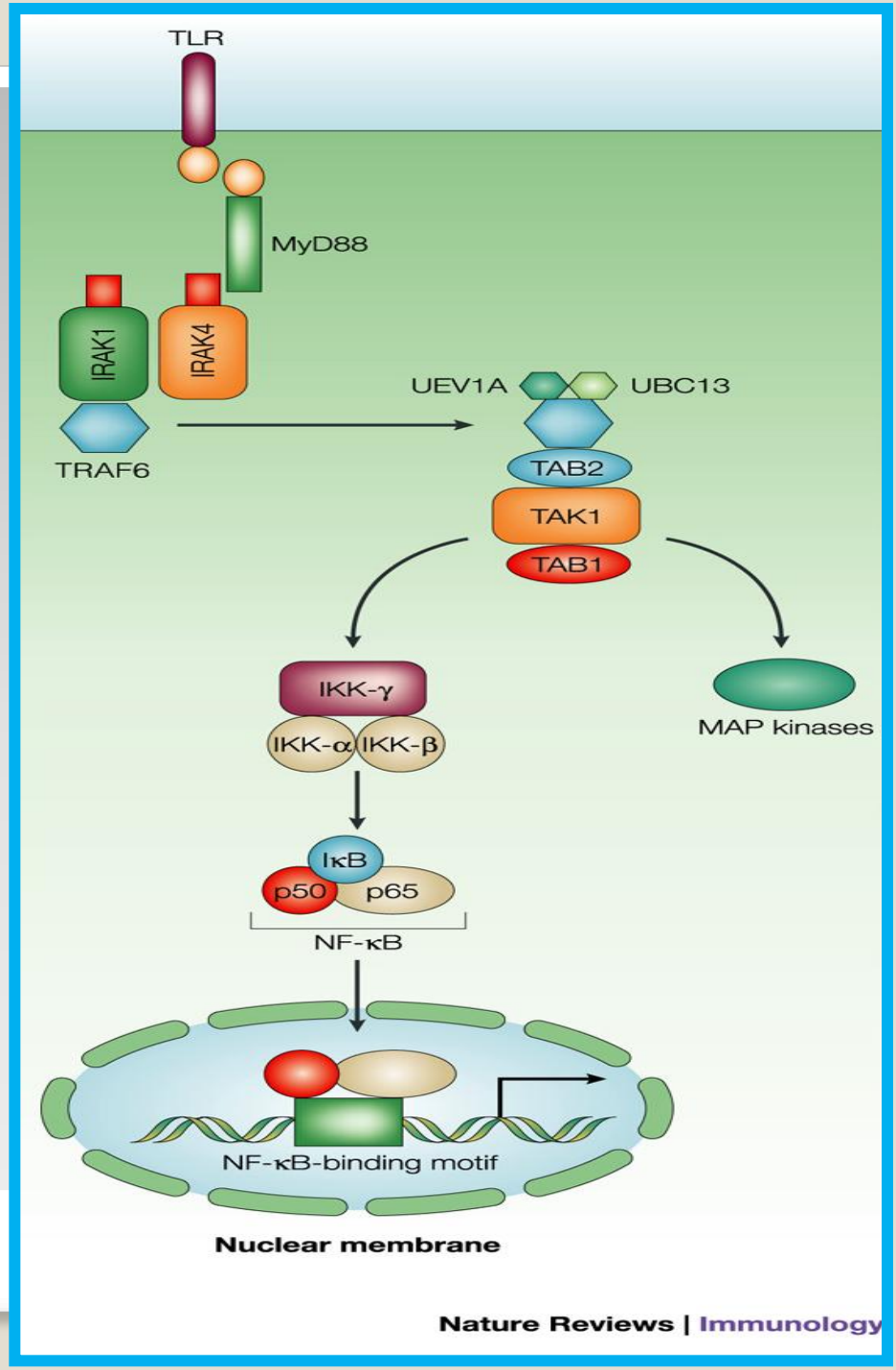
Liew F, et al Nature Review Immunol, 5: 2005

# Especificidad de los receptores Toll

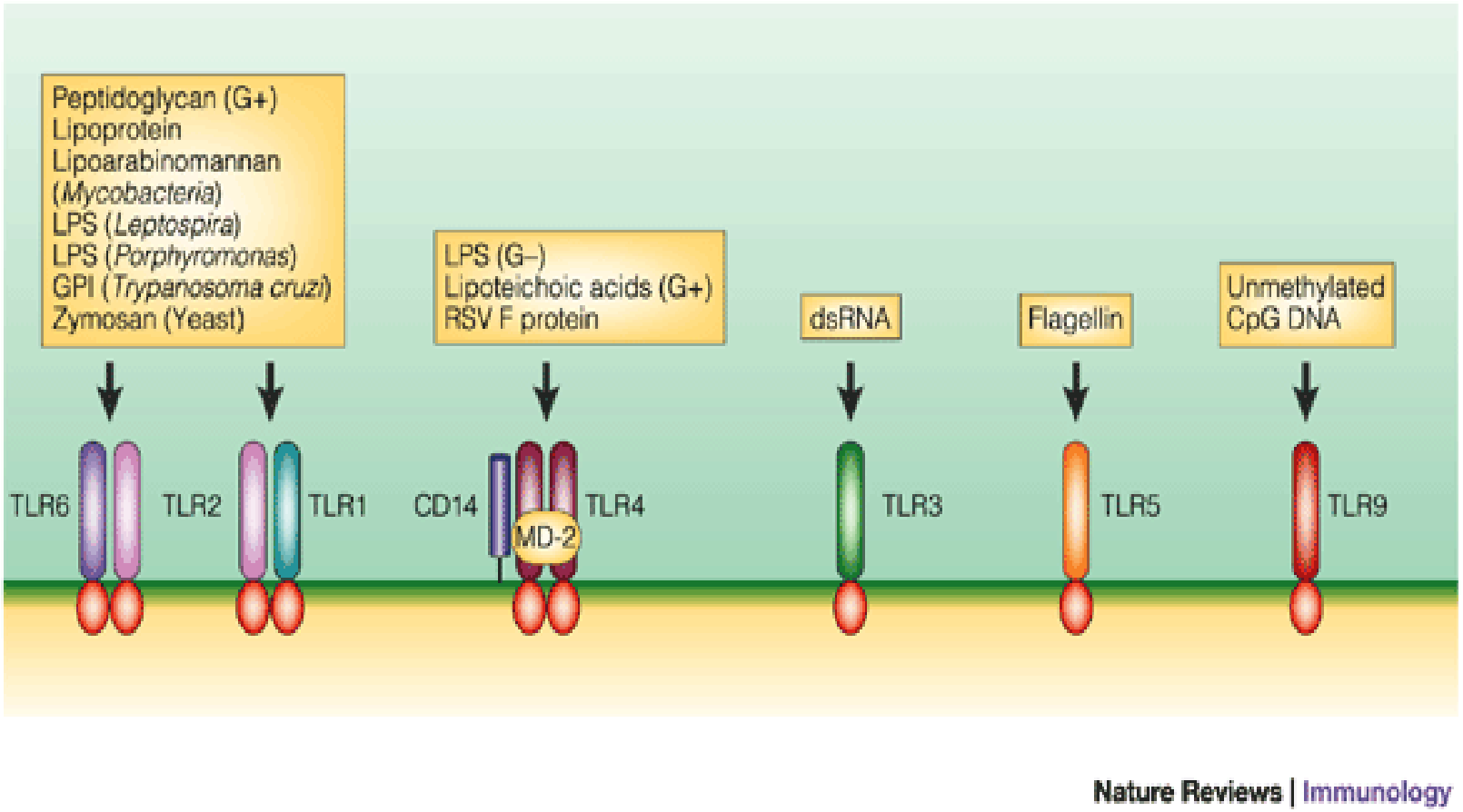


# Estructura y señalización vía TLR



# Especificidad de los receptores Toll



Akira Shizuo, Curr Opin Immunol, 2003, 15:5-11.
Medzhitov R, Nature review in Immunoogy, 2001

# Reconocimiento de PAMPS mediado por TLR

- TLR4: Primer receptor Toll reconocido, expresado en macrófagos y células dendríticas
  El LPS en circulación es capturado por LBP (proteína de unión de LPS). LPS-LBP es transferido a CD14 en la superficie de fagocitos.
  Participación de la molécula MD2, asociada a TLR4

Medzhitov R, Nature review in Immunoogy, 2001

# Señalización vía TLR4

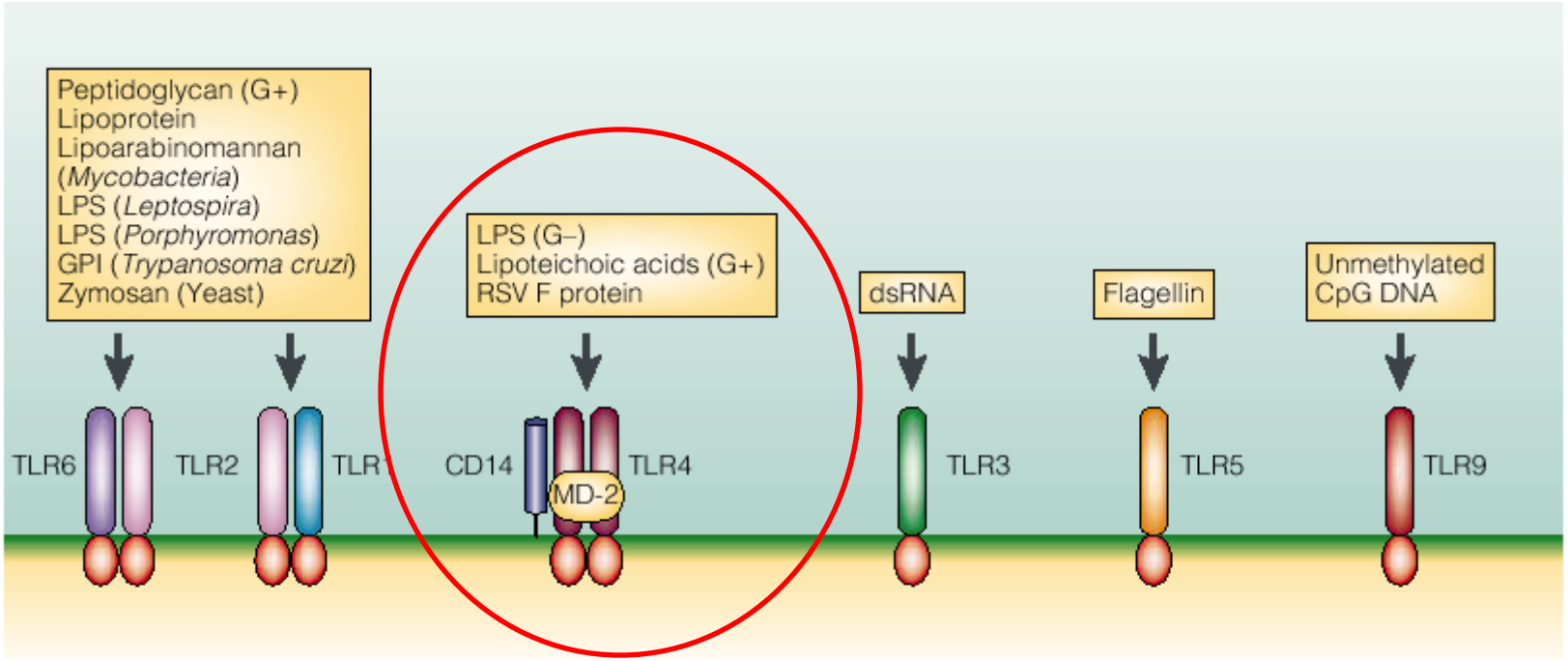



Figure 3 | **Ligand specificities of TLRs.** Toll-like receptors (TLRs) recognize a variety of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Recognition of lipopolysaccharide (LPS) by TLR4 is aided by two accessory proteins: CD14 and MD-2. TLR2 recognizes a broad range of structurally unrelated ligands and functions in combination with several (but not all) other TLRs, including TLR1 and TLR6. TLR3 is involved in recognition of double-stranded (dsRNA). TLR5 is specific for bacterial flagellin, whereas TLR9 is a receptor for unmethylated CpG motifs, which are abundant in bacterial DNA. G+, Gram-positive; G–, Gram negative; GPI, glycophosphoinositol; RSV, respiratory syncytial virus.

Akira Shizuo, Curr Opin Immunol, 2003, 15:5-11
Medzhitov R, Nature review in Immunoogy, 2001

# Reconocimiento de PAMPS mediado por TLR

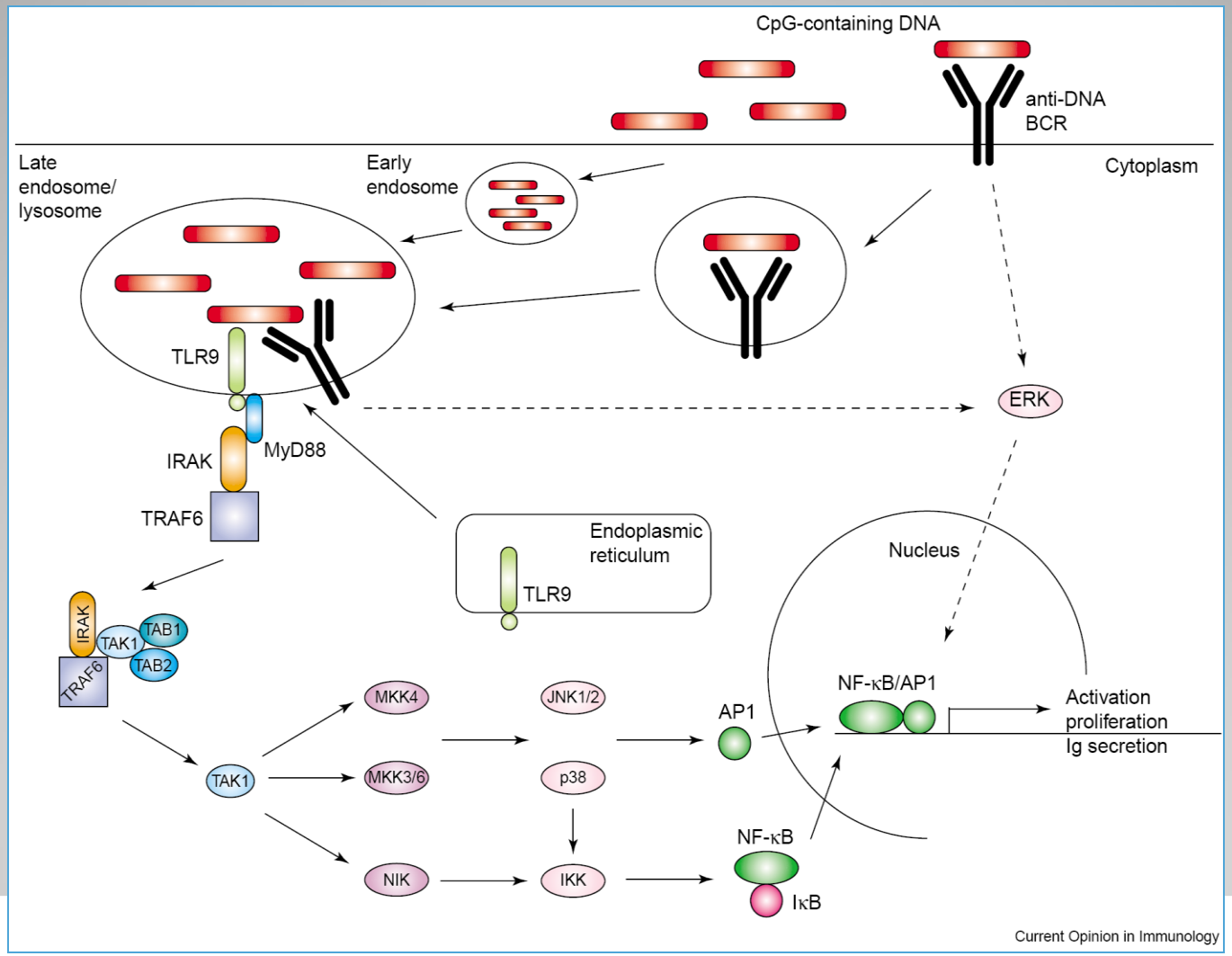
- **TLR2**
  Reconoce, peptidoglicano de las bacterias gram+, zimosan, glicofosfatidilinositol de *T. Cruzi*. Reconoce LPS atípico proveniente de leptospira. Cooperación con TLR1 y TLR6
- **TLR5**
  La flagelina es un poderoso inflamatorio cuya señal está mediada por TLR5. Es expresado en la cara basolateral mas no en la apical de la superficie intestinal
- **TLR9** respuesta a ADN bacteriano y viral y oligonucleótidos sintéticos que contienen dinucleótidos CpG no metilados.
- **TLR3**. Expresado casi exclusivamente en células dendríticas. Funciona como receptor para RNA de doble cadena

Lanzavechiia A and Federica Sallusto, Curr Opin Immunol, 2007

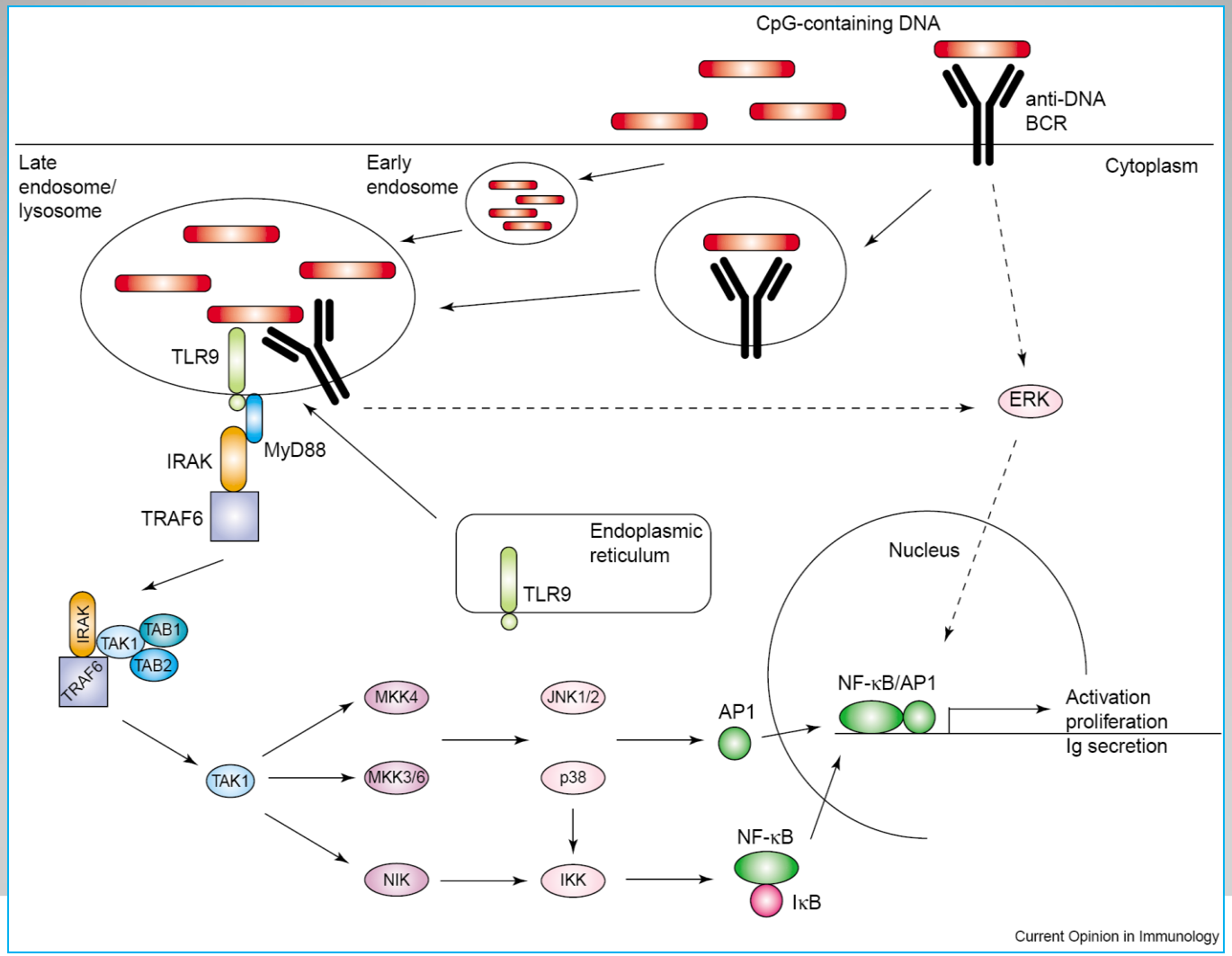
- Expresión significativa de TLR7 y TLR9 en linfocitos B y en células dendríticas plasmocitoides
- TLR presentes en endosomas y reconocen ácidos nucleicos bacterianos y de origen endógeno
- Los complejos de Ig que contienen ADN activan linf B autorreactivos para producir antiIgG propia (Factor Reumatoide) en una cascada BCR-TLR9 intracelular
- Los complejos inmunes son captados por las células dendríticas activando la producción de IFN lo que conlleva a incrementar la expresión de TLR7

# Señalización vía receptores Toll en linfocitos B

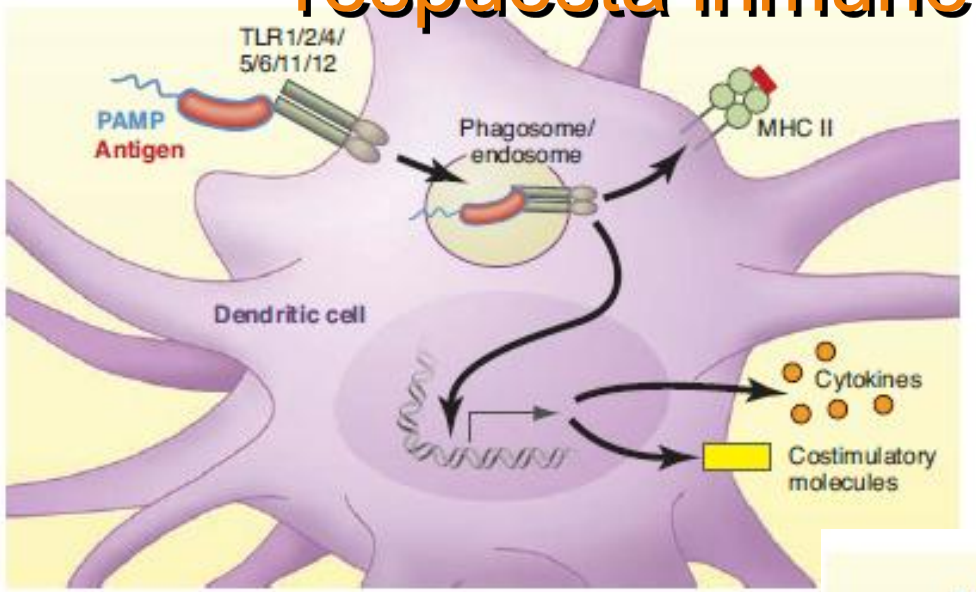
# Señalización vía receptores Toll en linfocitos B

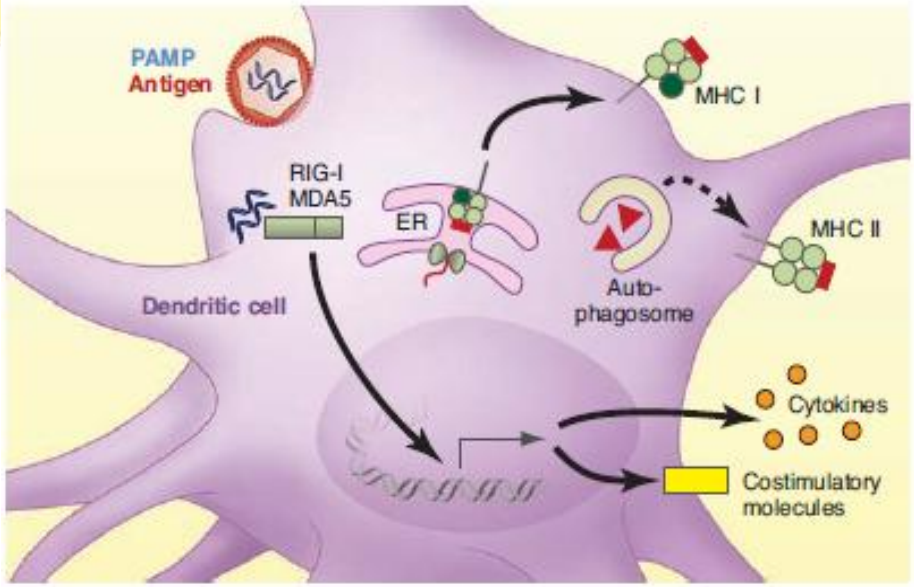


# Señalización vía receptores Toll en linfocitos B



# Papel de los receptores Toll en la respuesta inmune adaptativa



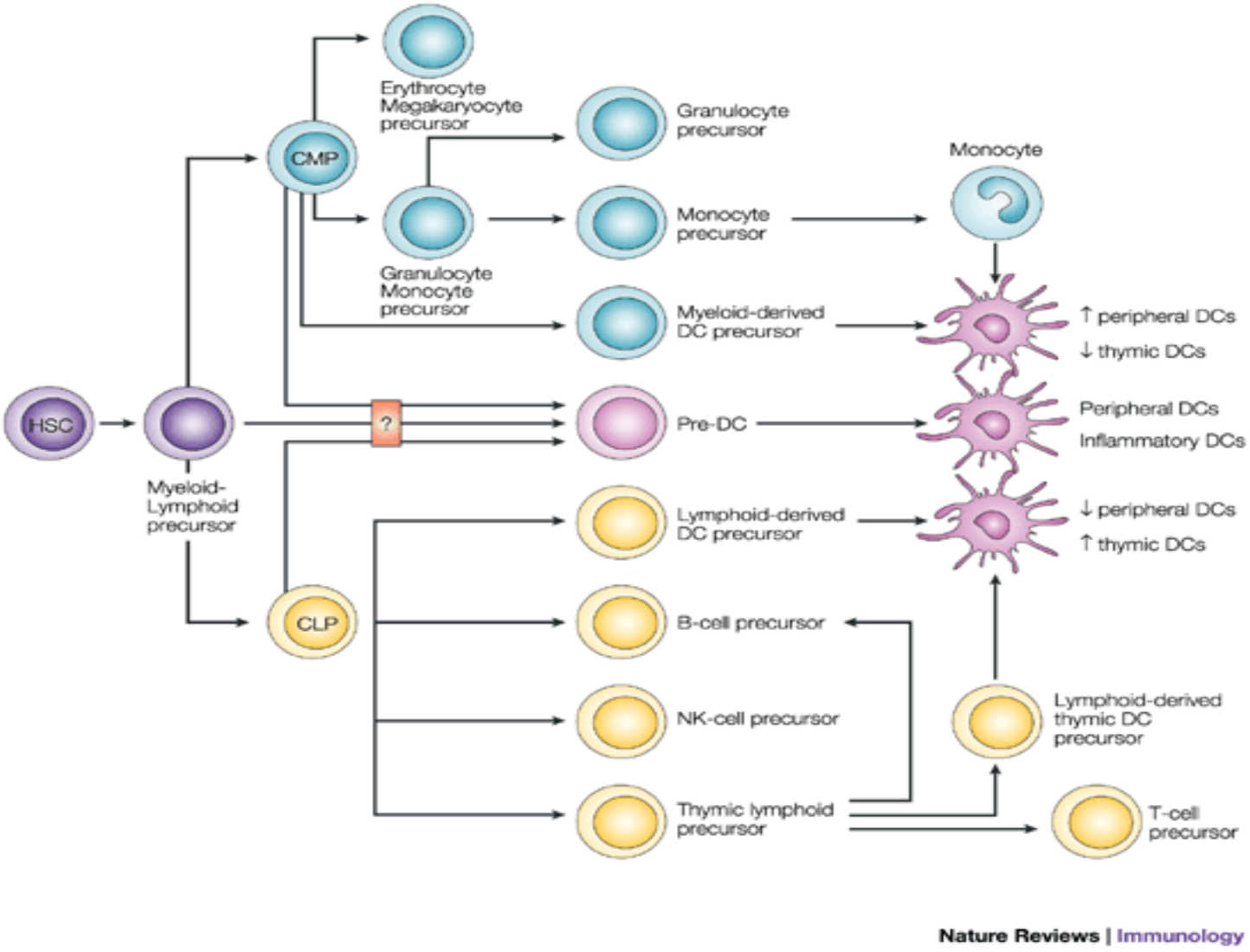




Akiko Iwasaki et al, Science 2010

- La expresión de diferentes grupos de receptores Toll en diferentes poblaciones de células dendríticas programadas para desencadenar repuestas Th1 o Th2 puede facilitar la función de la respuesta inmune adaptativa
- Ratones deficientes en MyD88 no generan respuesta celular a LPS, se desvía la respuesta Th1 hacia un patrón Th2

# Papel de la señalización via Toll en la respuesta inmune adaptativa

# Diferenciación de células dendríticas

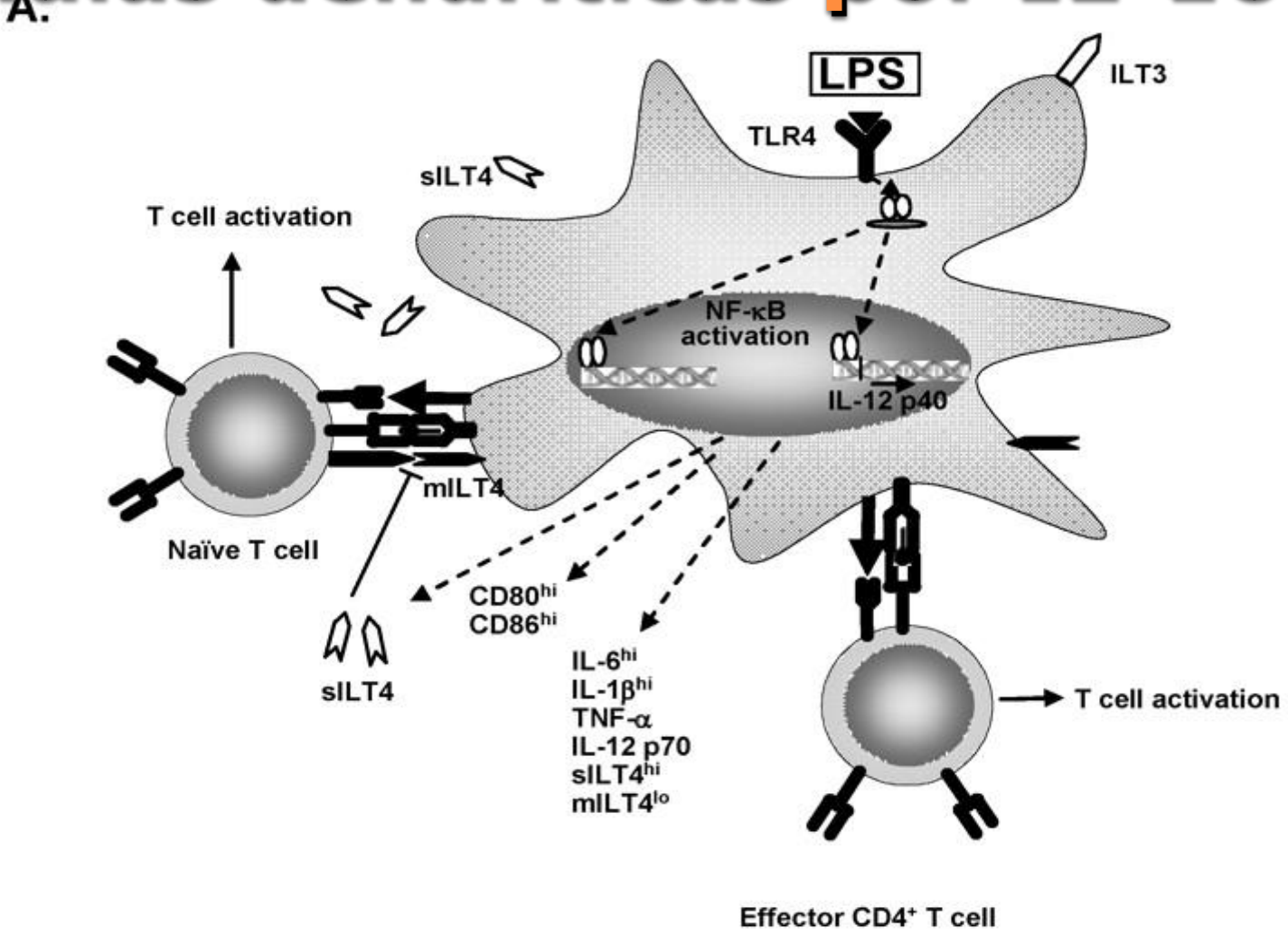


# SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS DENDRÍTICAS

| Dendritic cell subset | Markers | Function |
|---|---|---|
| | | |
| Myeloid | $CD11c^{+}CD205^{-}$ $CD11b^{+}$ $CD8^{-}CD4^{+/-}$ | Located in splenic marginal zones. Efficient stimulation of $CD4^{+}$ and $CD8^{+}$ T cells. Favor Th2 differentiation |
| Lymphoid | $CD11c^{+}CD205^{+}CD11b^{-}$ $CD8^{+}CD4^{-}$ | Efficiently cross-present exogenous antigens to $CD8^{+}$ CTL. Favor Th1 differentiation Maintain cross-tolerance to self antigens. |
| Plasmacytoid | $CD11c^{+}CD11b^{-}B220^{+}$ $GR1^{+/-}$ | Possibly contribute to peripheral self-tolerance. Mediate anti-viral responses through production of IFN- α . |

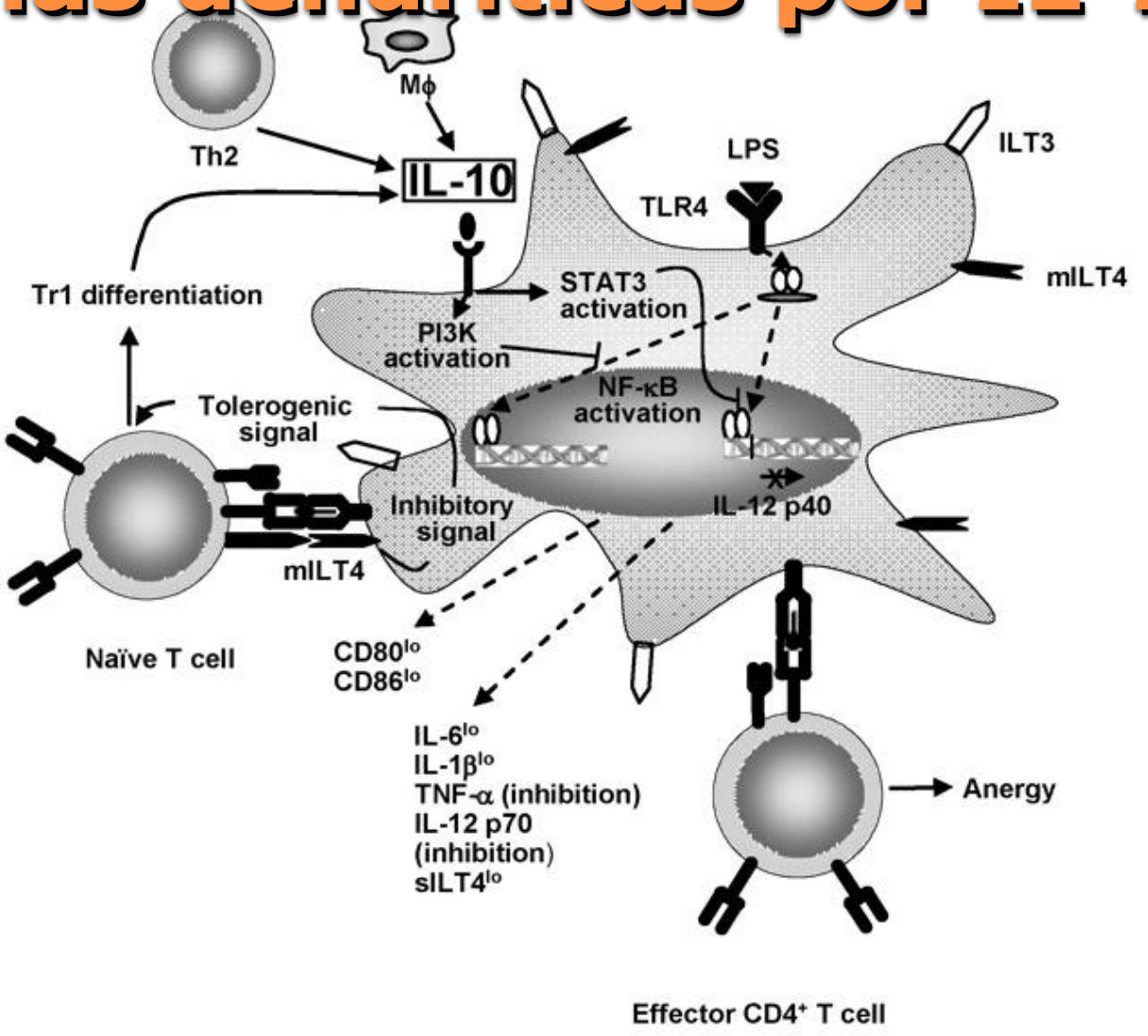
Wallet MA et al. Clinical Medicine & Research, 2005 3:3, 166-175

# Inmunoregulación de las células dendríticas por IL-10




Wallet MA et al. Clinical Medicine & Research, 2005 3:3, 166-175

# Inmunoregulación de las células dendríticas por IL-10



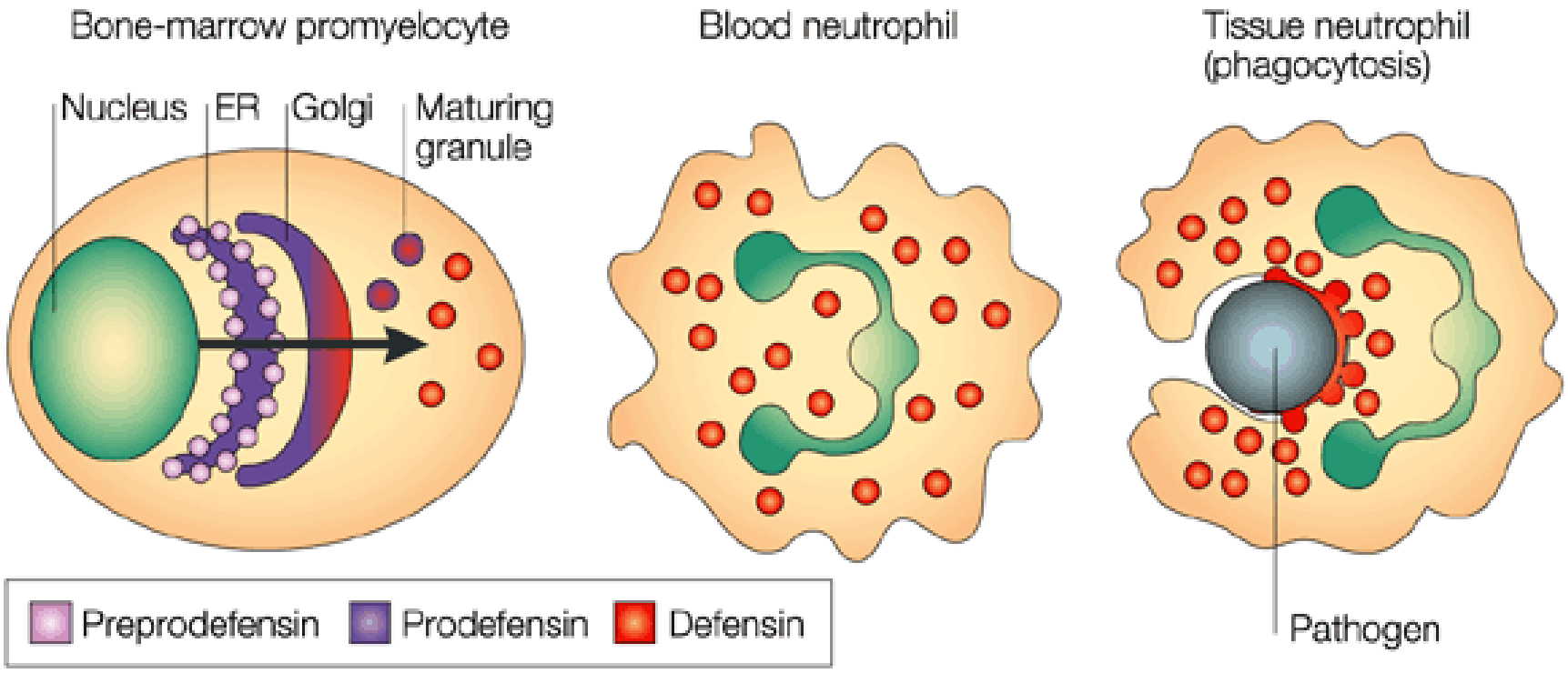

Wallet MA et al. Clinical Medicine & Research, 2005 3:3, 166-175

# Péptidos antimicrobianos: Las defensinas

- Son polipéptidos de menos de 100 aa con actividad antimicrobiana a concentraciones fisiológicas. Dos miembros principales: defensinas y catelicidinas (LL37)
- $\alpha$, $\beta$, $\theta$ defensinas: Hoja plegada beta, estructura de cisteínas con puentes disulfuro
  Distribución: mayor concentración presente en gránulos de almacenamiento. Células de Paneth en el intestino delgado. leucocitos
- Actividad contra bacterias, hongos y virus

Ganz Tomas. Nature Review in Immunology, 2003, septiembre: 3.
Mary E. Klotman and Theresa L. Chang, Junio 2006

# Síntesis y liberación de defensinas

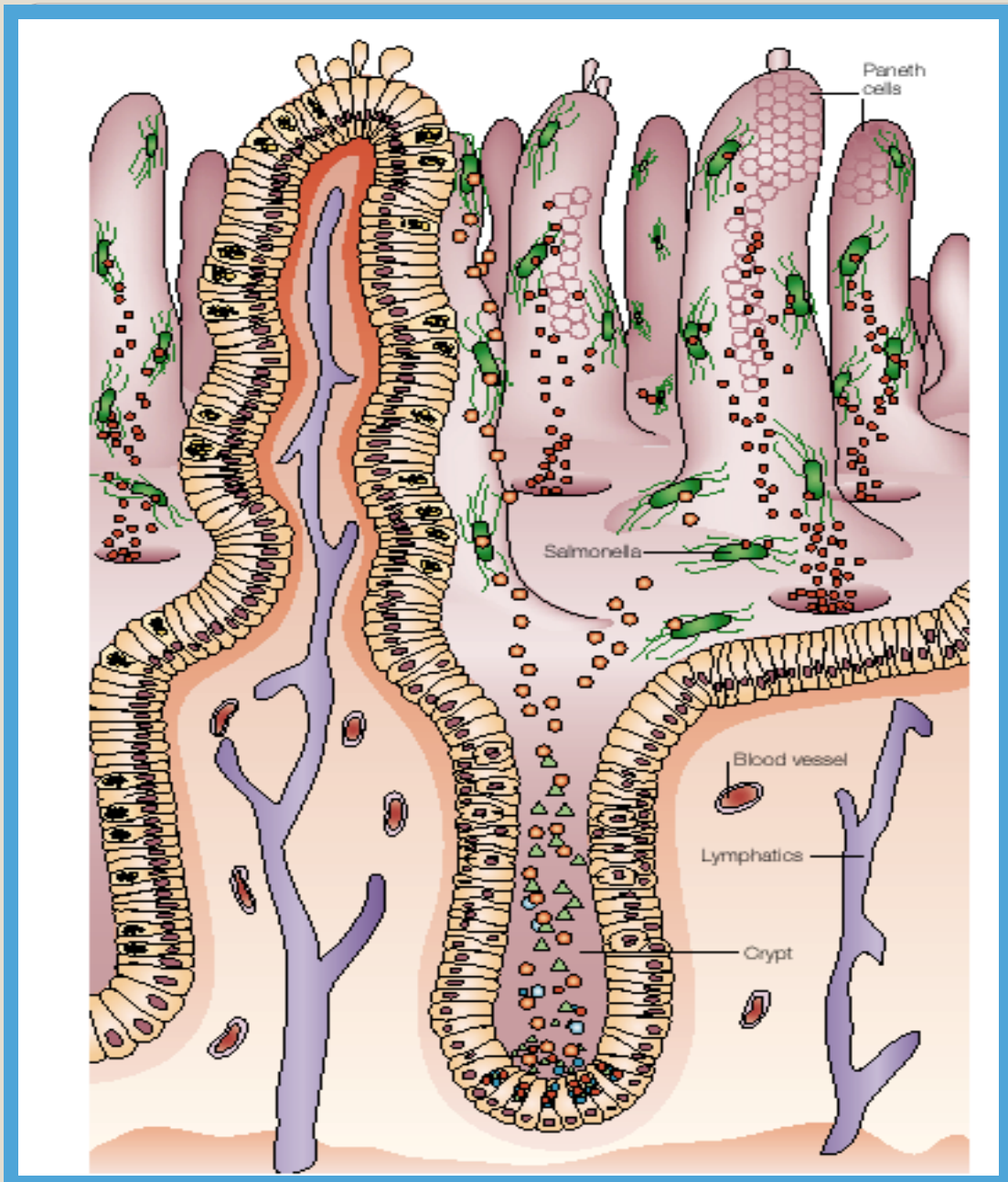



HNP: defensina α, péptido de los neutrófilos humanos

Nature Reviews | Immunology

Ganz Tomas. Nature Review in Immunology, 2003, septiembre: 3.

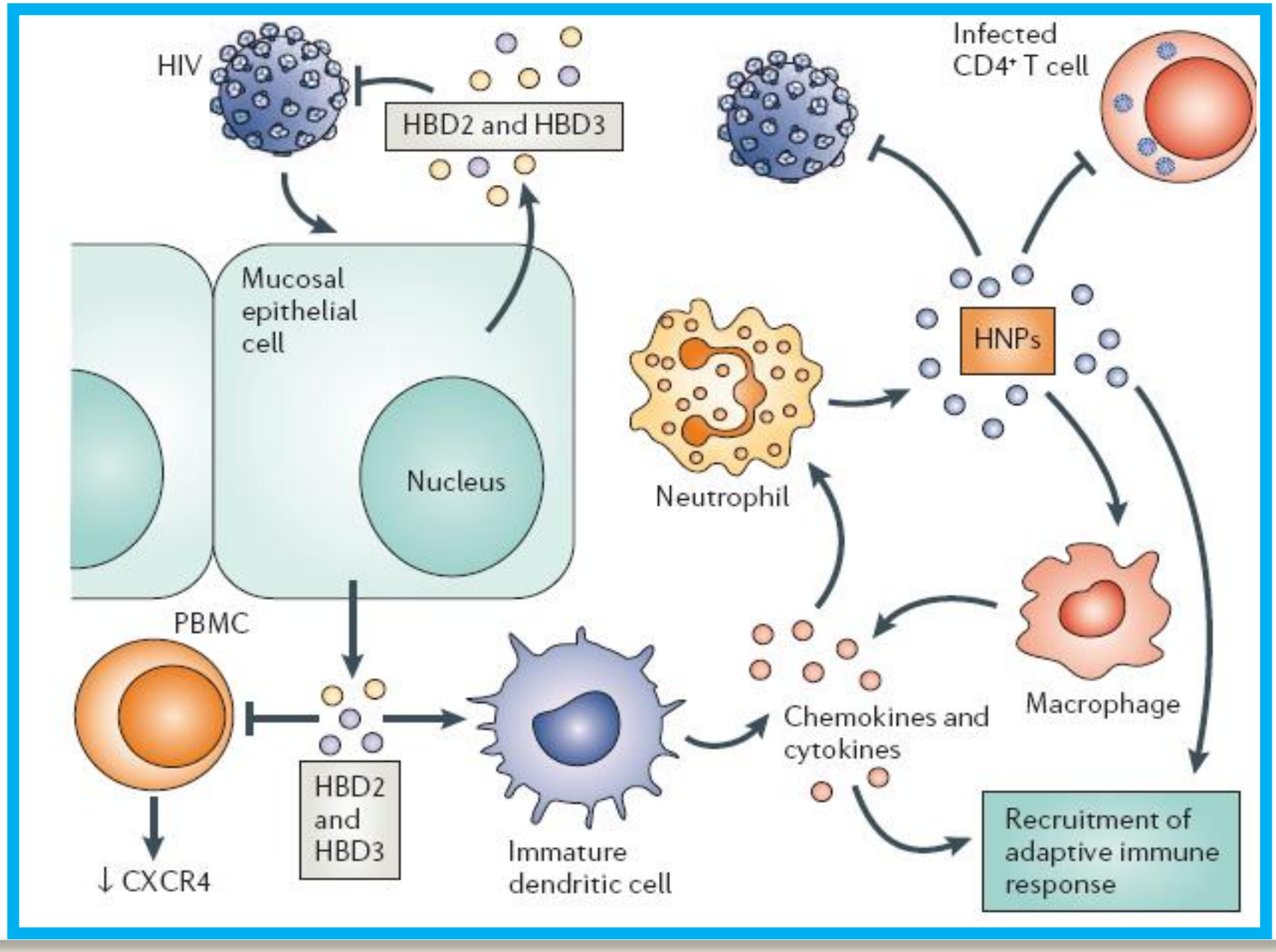
Ganz Tomas. Nature Review in Immunology, 2003, septiembre: 3.




# Acción bactericida de las defensinas:

## papel de la prodefensina 5, defensina 5 y tripsina a nivel de las criptas

# Papel de las defensinas en la infección contra el HIV




Mary E. Klotman and Theresa L. Chang, Junio 2006

Peiser L., et al, Curr Opin Immunol, 2002

- **Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales**
- **Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)**
- **Interacciones con bacterias**
  - **SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).**
  - **La eliminación de estos receptors en ratones conduce a susceptibilidad a *L. monocitogenes* y *S. Aureus***

# Receptores Scavenger en Inmunidad Innata

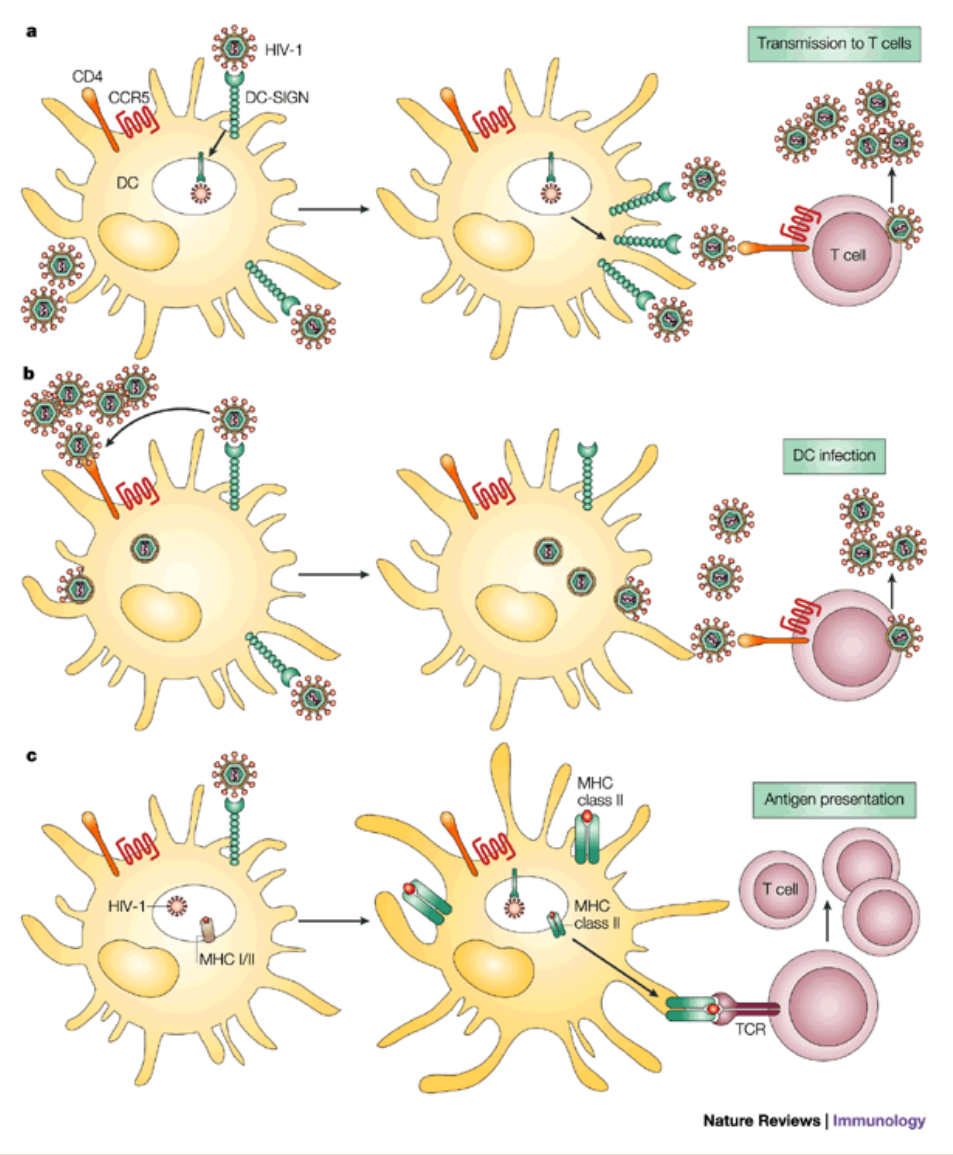
Fidgor CG. Et al. Nature Review in Immunology, 2002:2

# Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- Lectinas de tipo C se unen a azúcares en una manera dependiente de Ca utilizando residuos de carbohidratos altamente conservados (CRDs).
- Ejemplos de tipo solubles: Surfactante pulmonar (SPA y SPD), llamadas colectinas (colágeno+lectina). Proteína de unión a manosa (MBP)
- Al unirse a sus ligandos, las colectinas se asocian a receptores en la membrana promoviendo la fagocitosis

# Rerceptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- Familia de receptores unidos a la membrana del tipo lectina: de tipo I (posee varios CRDs) y de tipo II (un solo dominio CRD)
- De tipo I: MMr, DEC 205
- De tipo II: Langerina, DC-Sign, induce proliferación de células T mediada por DC.

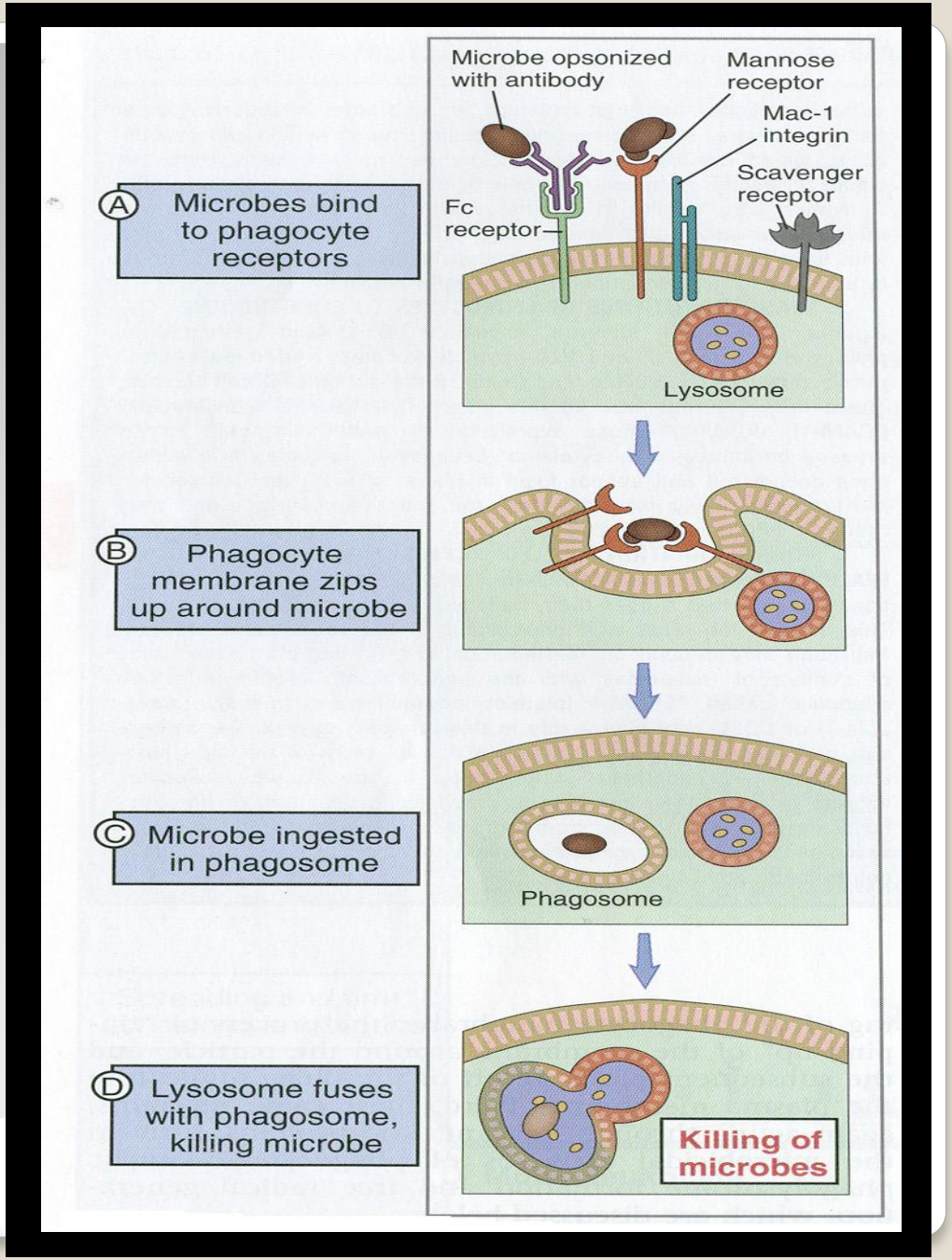


Abbas A, 2005, Kopp Curr Opin Immunol 1999, Greenberg S. Curr Opin Immunol, 2002

# Inmunidad innata: Fagocitosis

- Principalmente por PMN y monocitos/macrófagos
  - Migración y llegada al sitio de la injuria
  - Comienzan a ingerir detritus celulares, bacterias y partículas extrañas
    - Reconocimiento en parte por PRR o receptores de patrón de reconocimiento
    - <100 nm endocitosis, mediada por clatrina
    - >100 nm y multivalentes por fagocitosis
    - Una vez ingeridas forman los fagosomas, los gránulos citoplasmáticos comienzan a fusionarse generando degranulación y formación de fagolisosoma
      - Mas abundantes: defensinas, lisosimas, lactoferrina

# Fagocitosis : Mecanismo



Lanier L, Clinical Immunology, 95:1, 2000

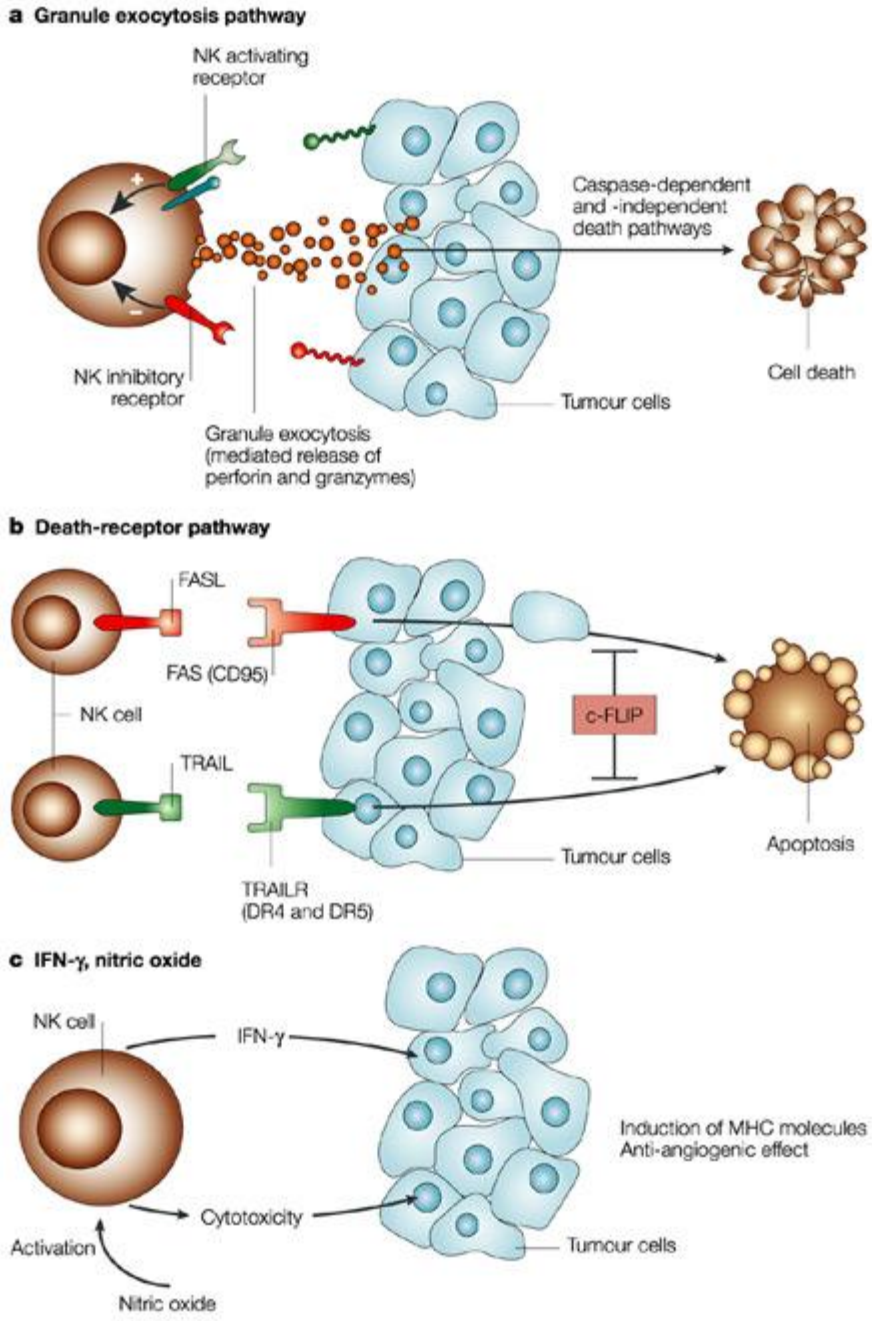
# Origen y funciones de las células NK

- Representan entre 5-20% de los linfocitos circulantes, 5% de los linfocitos esplénicos
- Expresión de CD56 y CD16, ausencia de CD3
- Producen citokinas: INF-$\gamma$, TNF-$\alpha$, Linfotoxina, IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-13, IL-10, IL-8, MIP-1$\alpha$, MIP-1$\beta$, entre otras.
- Deficiencia de NK, infecciones virales severas
- Resistencia contra: *L. monocitogenes*, malaria, *T. gondii*, *Leishmania*.

# Citotoxicidad

- CD8 citotóxicas
  - Educadas para reconocer péptidos
  - Gránulos citolíticos formadores de poros
  - Poseen perforina análogo al C9, gramzime (neoformada)
  - Citotóxicidad vía FasL
  - Pico máximo de activación 5-8 días
- Células NK
  - Reconocen MHC propias
  - Gránulos citolíticos formadores de poros
  - Poseen perforina análogo al C9, gramzime (constitutivamente)
  - Citotóxicidad vía FasL
  - Pico máximo de activación 1-3 días

# Lisis mediada por NK

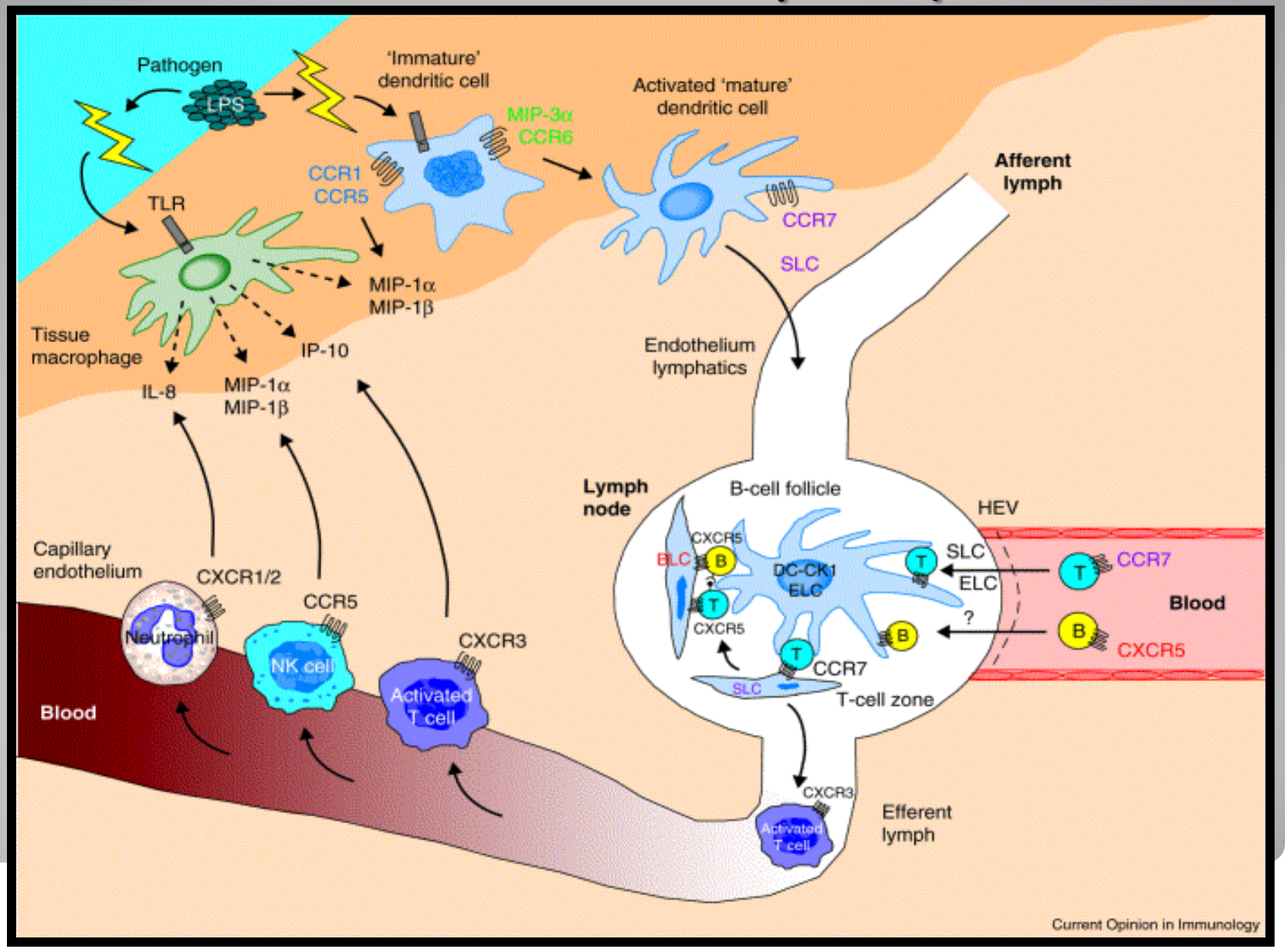


Luster AD., Curr Opin Immunol, 2002

# Papel de las Quimiocinas en la conexión: inmunidad innata/inmunidad adquirida

- Eventos mediados por TLRs para el reclutamiento de células dendríticas inmaduras hacia los sitios de entrada de los patógenos, y el traslado de estos a los nódulos linfáticos en donde activarán a células T vírgenes.
- La activación mediada por TLR induce la liberación de quimiocinas a partir de los macrófagos residentes y células dendríticas, reclutando diferentes grupos de leucocitos
- Asociación entre la activación de respuesta TH2 y la eosinofilia tisular

# Tráfico de CD mediado por quimiocinas




Luster AD., Curr Opin Immunol, 2002