

- **Profesores y personal de apoyo :**

- Prof. Lisbeth Berrueta, Profesor titular
 - Médico Cirujano
 - Maestría y Doctorado mención en Inmunología
- Prof. Siham Salmen H. Profesor Asociado
 - Médico Cirujano
 - Maestría y Doctorado mención Inmunología
- Prof. Morella Bouchard, Profesor Asistente
 - Médico Cirujano
 - Especialista en Medicina Interna
 - Maestría en Inmunología Clínica
- Prof. Luisa Barboza
 - Licenciada en Bionálisis
 - Maestría en Inmunología y Doctorado en biología celular
- Secretaria: Yeadira Rojo

www.medic.ula.ve/idic

- **Inmunopatogenia de la infección por virus hepatotrópos**
 - Responsable: Lisbeth Berrueta, corresponsable: Siham Salmen y Luisa Barboza (PhD). Estudiantes: Masyely Rojas (MSc), Joselyn Rojas
- **Inmunopatogenia de las inmunodeficiencias primaria y secundarias (Infección por VIH)**
 - Responsable: Siham Salmen, corresponsable: Lisbeth Berrueta. Estudiantes: Guillermo Teran (MSc)
- **Diagnóstico por PCR de *Toxoplasma Gondii***
 - Responsable: Morella Bouchard, colaboradores: Nacarid Alfonso

Líneas de Investigación en curso:

- **Colaboraciones con otros grupos de investigación:**
 - **Autoinmunidad en Chagas**, coordinador: Diego Dávila, colaboradores: Lisbeth Berrueta, Siham Salmen
 - **Infertilidad Masculina: Estudio de la integridad de la cromatina espermática**, coordinador: Jesús A Osuna, colaboradores: Lisbeth Berrueta, Siham Salmen
 - **Harina de lombrices como alimento de truchas**. Responsable: Ana Luisa Medina, colaboradores: José Cova, Lérica Borges

Líneas de Investigación en curso:

- **EVALUACIÓN I (1 al 6)** **22-23/03/12**
- **EVALUACIÓN II (7 al 12)** **17-18/05/12**
- **EVALUACIÓN III (13 al 17)** **21- 22/06/12**
- **EXAMEN DIFERIDO/RECUPERATIVO** **28-29/06/12**
- **EXAMEN DE REPARACIÓN** **05- 06/07/12**

EL HORARIO DE INICIO DE LAS EVALUACIONES 2:00 PM (SE COMIENZA A LLAMAR 15 MINUTOS ANTES)

- No se permitirá la entrada de estudiantes con 10 o más minutos una vez cerrada la puerta
- Prueba: 40 preguntas de selección simple
 - NO TIENE FACTOR DE CORRECCIÓN

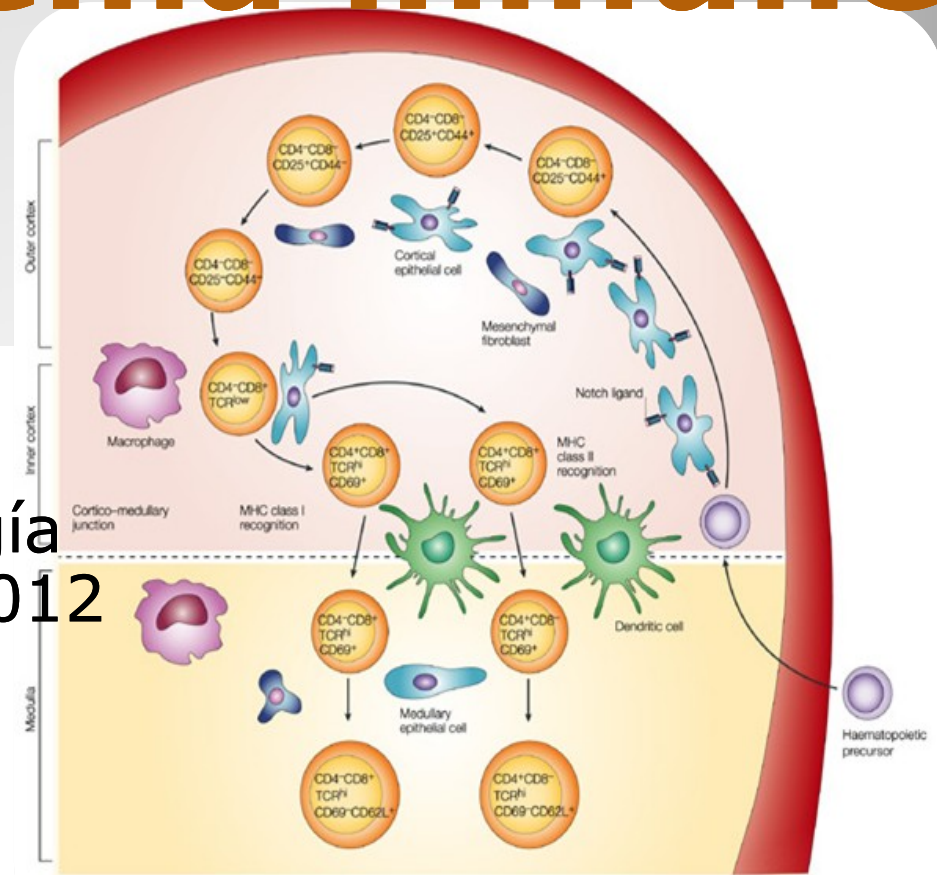
Evaluaciones de las actividades teóricas

- **Examen diferido/recuperativo y de reparación:**
 - 60 preguntas, toda la materia
 - Examen diferido:
 - Todos aquellos que no pudieron asistir a 1 evaluación
 - Todos aquellos que deseen recuperar un examen que consideren con baja calificación
 - Se tomará en cuenta la mejor calificación
 - Previa solicitud a través del correo: sihamsa@ula.ve.
 - Se recibirán solicitudes de este tipo, hasta 1 semana previa a su realización

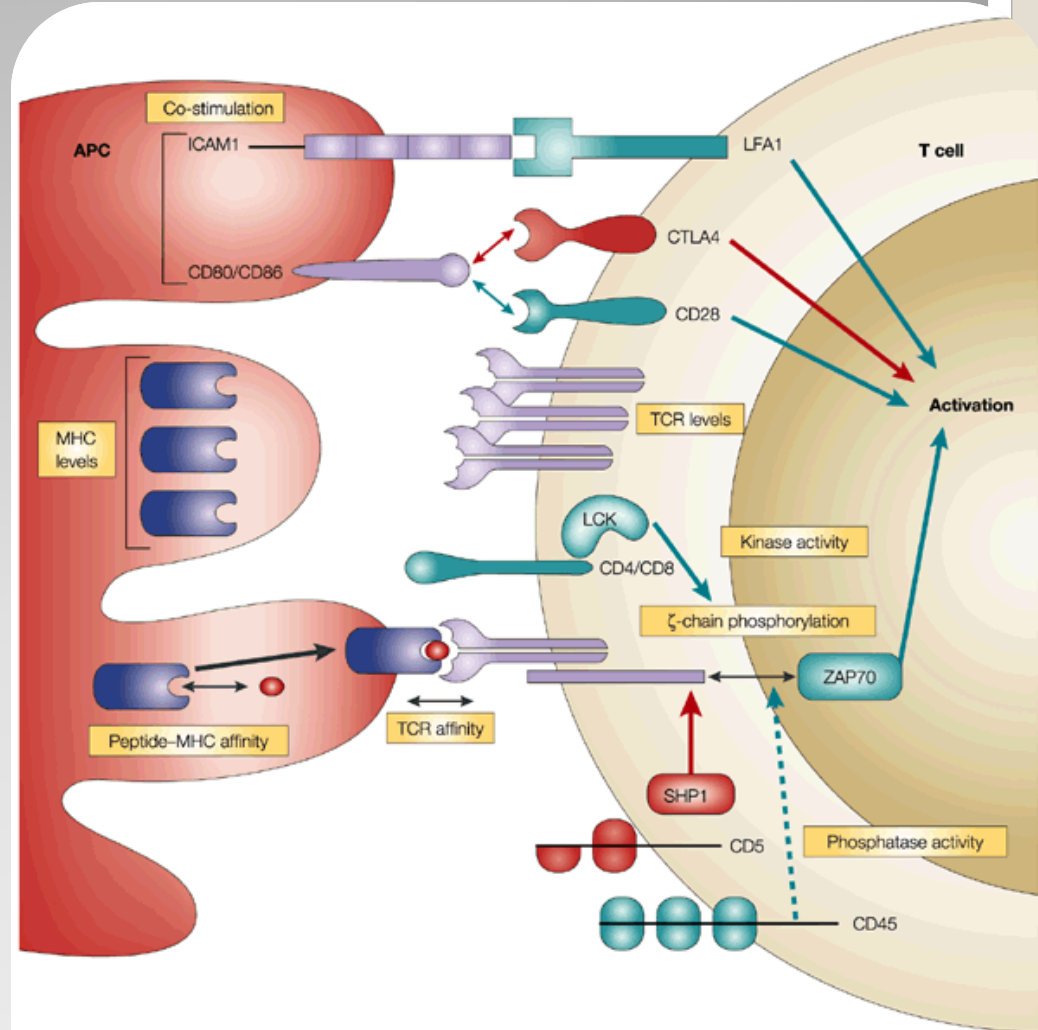
Evaluaciones de las actividades teóricas

Ontogenia y órganos del sistema inmune

Siham Salmen Halabi
Instituto de Inmunología
Curso de Post-grado 2012



- Responder frente a los agentes extraños, con alta especificidad (respetando la integridad de los tejidos propios) y preservando la tolerancia



Funciones del sistema inmune

- Preguntas a responder:
 - A partir de que célula se generan los diferentes linajes?
 - Donde maduran las células linfoides?
 - Que factores median este proceso?
 - Cuales son las decisiones que deben tomar los linfocitos?
 - Que factores condicionan la decisión hacia los diferentes linajes?

“La inmunidad efectiva requiere de un balance entre la defensa contra los Ag extraños y la no respuesta contra los antígenos propios”

- Cuál es la razón de la existencia de mecanismos complejos de regulación del desarrollo de los linfocitos
 - **Asegurarse de contar con el repertorio de células capaces de reconocer a todos los Ag extraños presentes en la naturaleza**
 - **Asegurarse que el sistema inmune reconozca como propio a los Ag del individuo (TOLERANCIA)**
 - **Asegurarse que los linfocitos salgan a la periferia con las herramientas básicas para enfrentarse a los Ag extraños**

Ontogenia de linfocitos

Ontogenias de linfocitos

- Elementos que participan
 - **Célula progenitora pluripotencial**
 - **Microambientes adecuados**
 - **Mediadores solubles**
 - **Interacción entre las células linfoides y elementos del microambiente**

- **Células linfoides:**

- Linfocitos T $\alpha\beta$

- CD4+
- CD8+

- Linfocitos B

- Células NK (asesinas naturales)

- Linfocitos T $\gamma\delta$

- **Células mieloides:**

- Células dendríticas

- Monocitos/macrófagos

- Polimorfonucleares

Inmunidad adaptativa

Inmunidad innata

Elementos del sistema inmune

- Órganos primarios
 - Timo
 - Médula ósea
 - Epitelio intestinal
- Órganos secundarios
 - Ganglios y amígdalas
 - Bazo
 - MALT

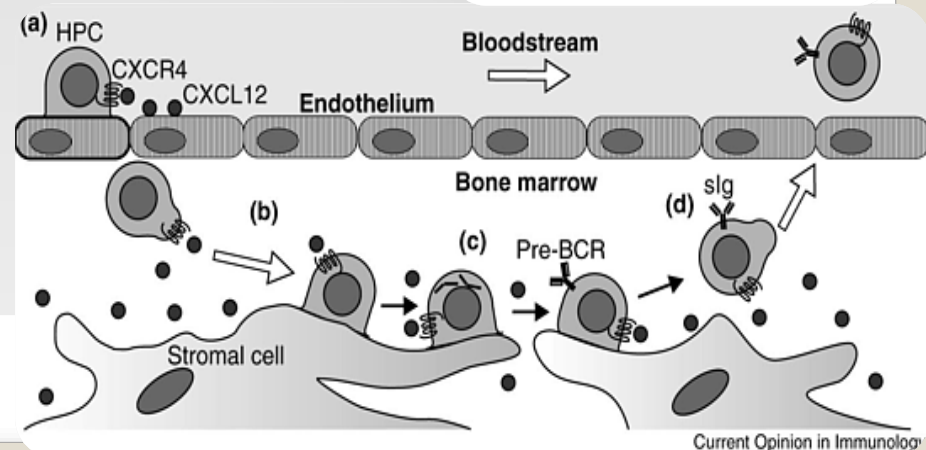
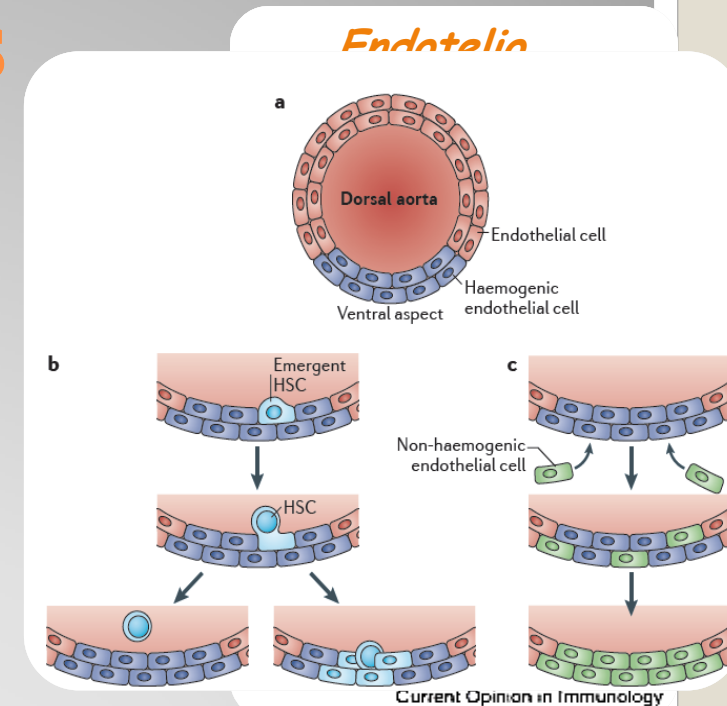
Órganos del sistema inmune

Órganos primarios y ontogenia

Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

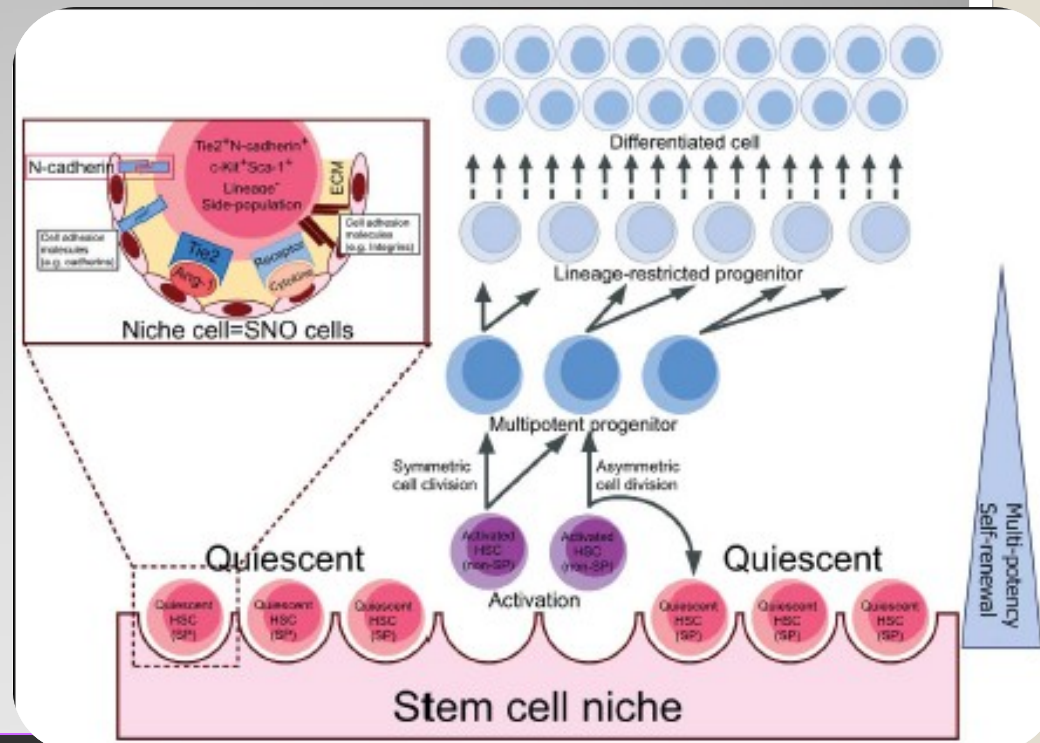
- Origen:

- Alrededor de la aorta, del mesenquima subyacente a la arteria umbilical y arteria vitelina
- Expresan características que comparten con células endoteliales (probable precursor común)
- Fenotípicamente son $CD34+CD38^{low}$ y HLA-DR



Ontogenia: ORIGEN DE LAS HSCs

Arresto en el ciclo celular y adhesión a los osteoblastos



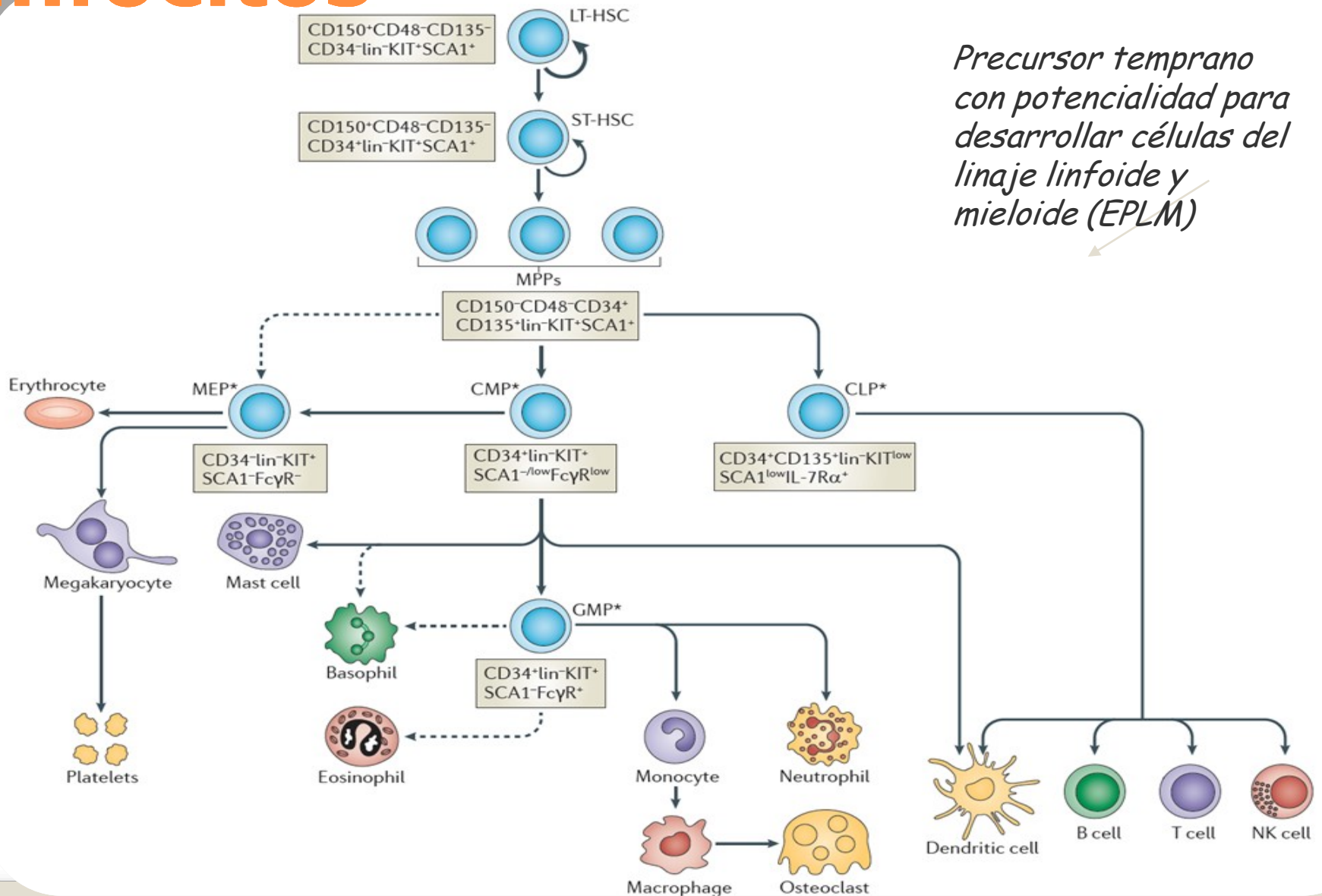
Características de las HSCs en reposo

1. *Protección contra el estrés*
 1. *Regulación de radicales libre, actividad de aldehído deshidrogenasa*
2. *Adhesión a los nichos*
 1. *Bajo requerimiento de factores de crecimiento, inhibición de la apoptosis, enlentecimiento del ciclo celular (tie, y p21) y unión por N-cadherin a osteoblastos*
3. *Hipoxia en los nichos (1-6%)*



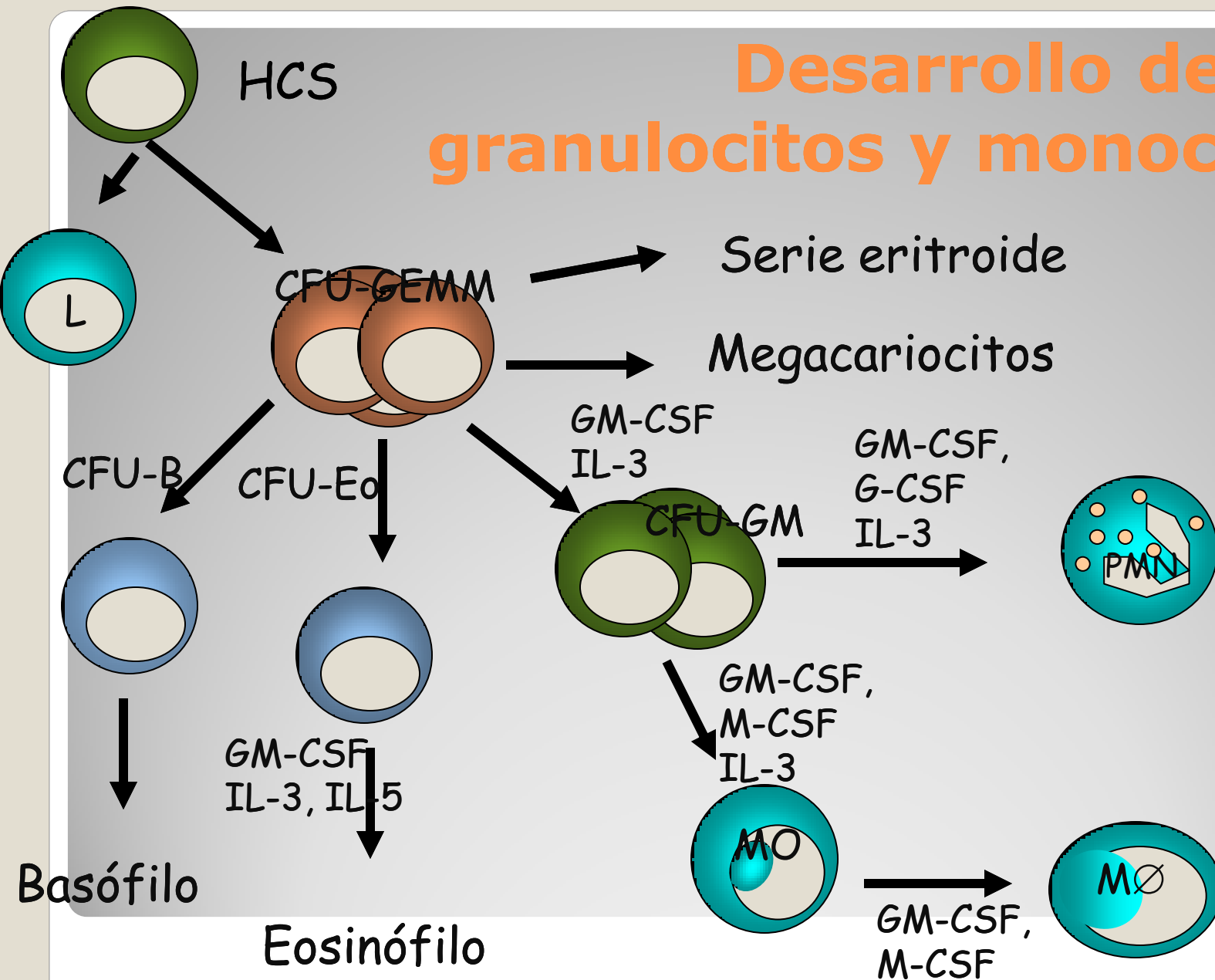
Ontogenia de linfocitos

Nat Rev CB 12, 2011: 643



Precursor temprano con potencialidad para desarrollar células del linaje linfoide y mieloide (EPLM)

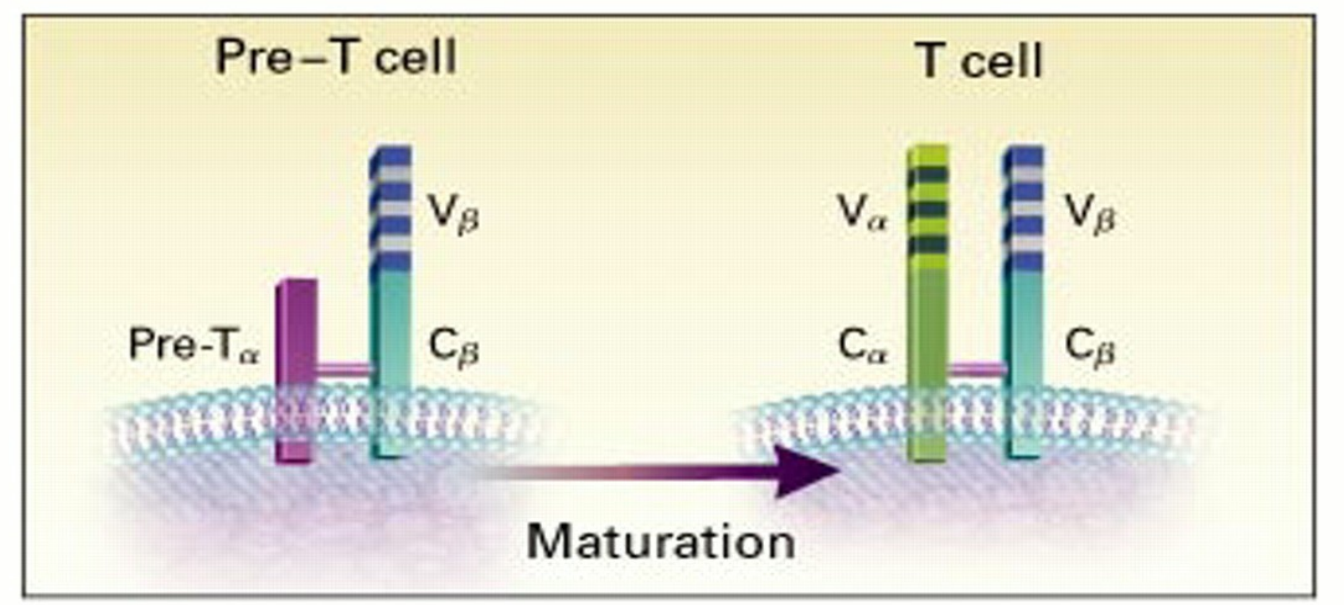
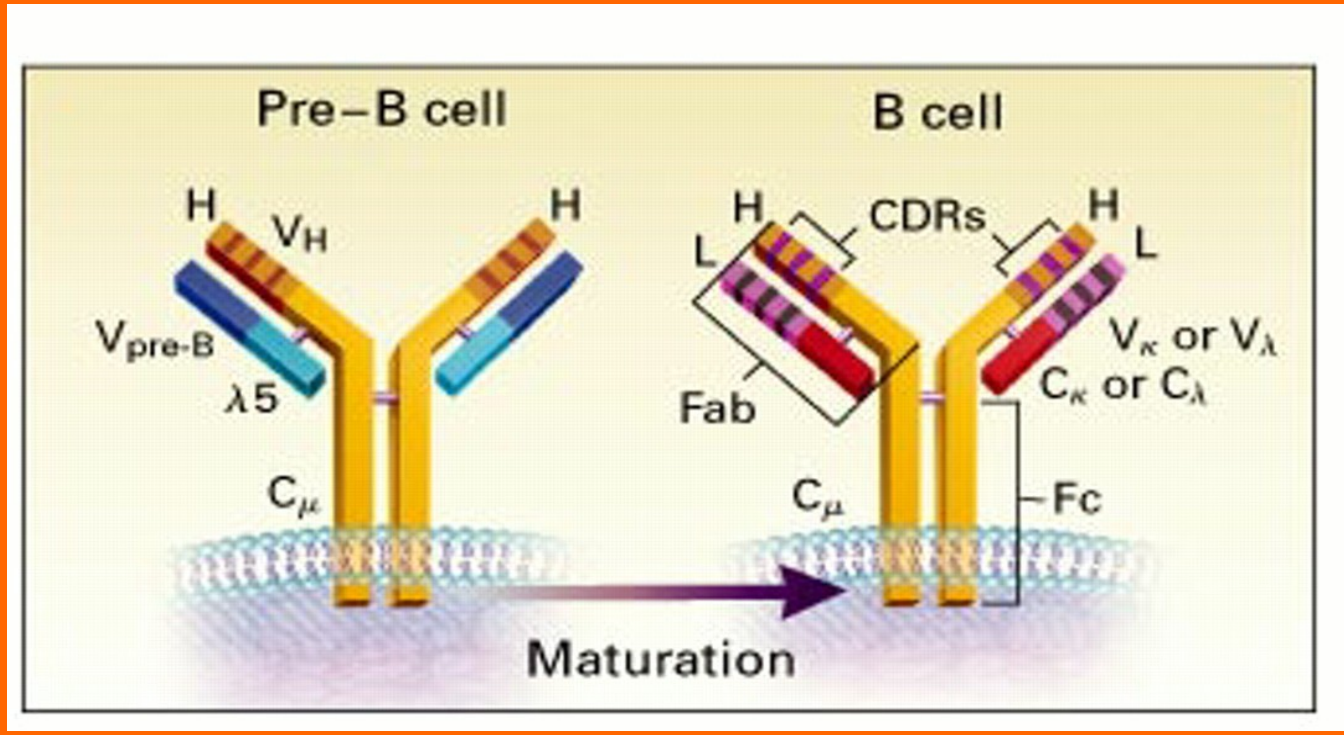
Desarrollo de los granulocitos y monocitos



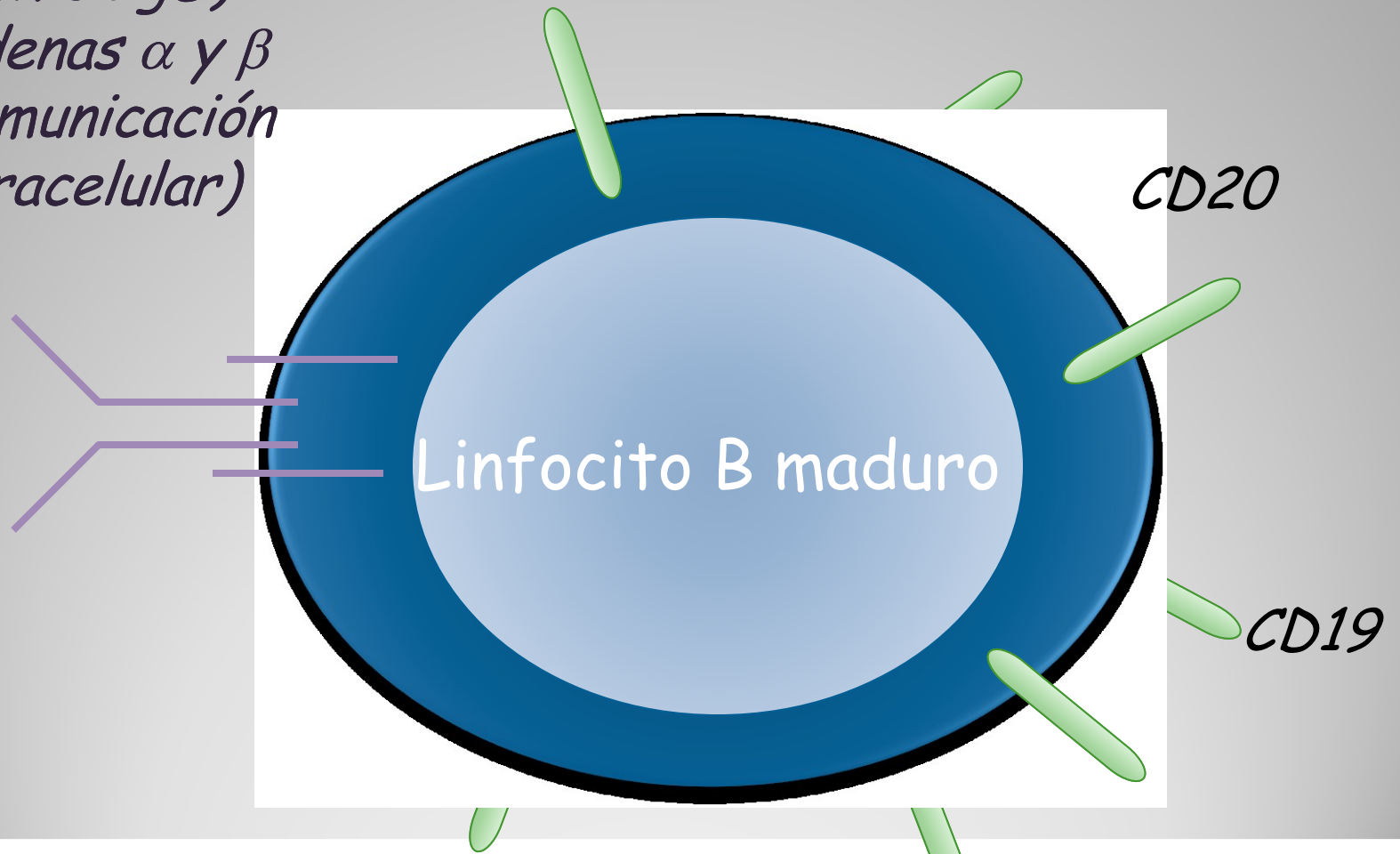
Factores solubles involucrados: IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TGF- β y CSF

- El desarrollo de los linfocitos depende de tres procesos básicos:
 - Migración y proliferación
 - Diferenciación: adquisición de fenotipos maduros
 - Selección del repertorio: células específicas contra antígenos (Ag) extraños y restringidas por las moléculas de histocompatibilidad (MHC) propias.

Ontogenia de los linfocitos



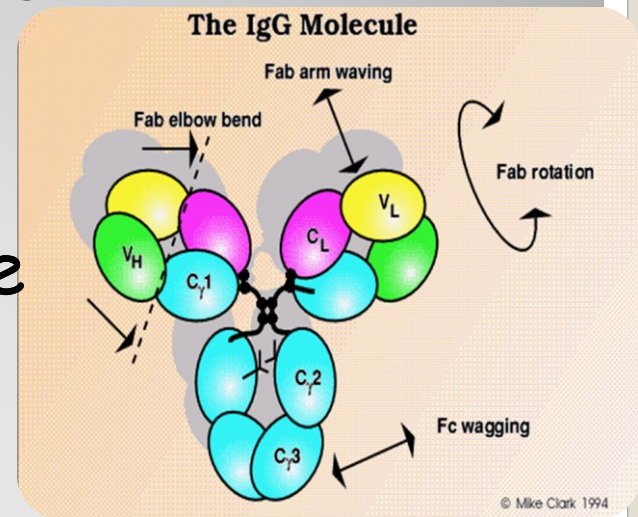
*BCR: Co-expresión
de Inmunoglobulina
(IgM e IgD) +
cadenas α y β
(comunicación
intracelular)*

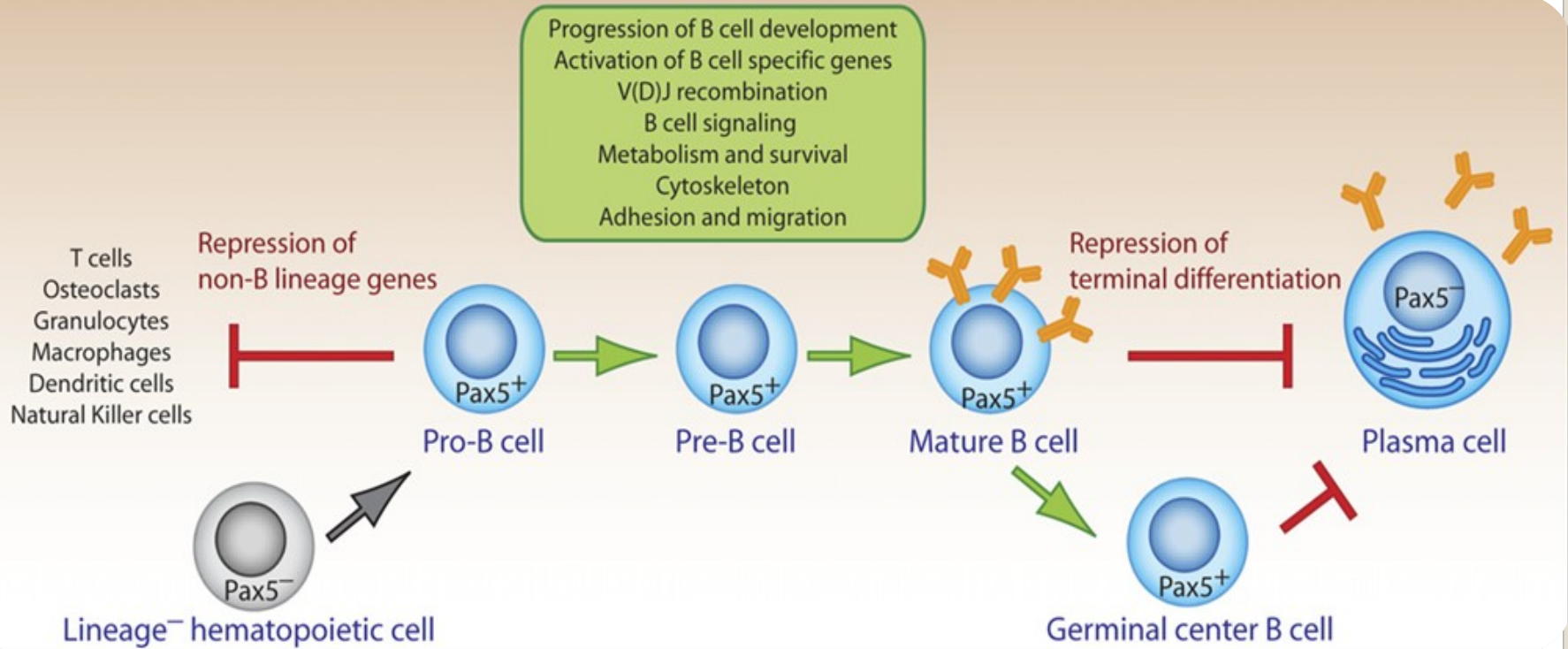


Ontogenia de los linfocitos B

Ontogenia de linfocitos B

- Su desarrollo se inicia en el hígado fetal 8-9 semanas y luego continúa en la médula ósea
- El repertorio de células se genera por recombinaciones de segmentos de los genes del receptor de linfocito B (BCR)
- Están sujetos a mecanismos de selección positiva y negativa



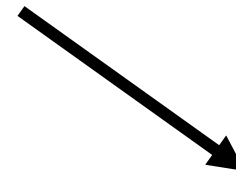
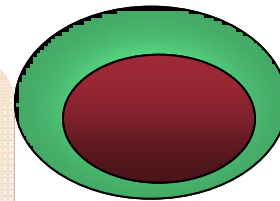
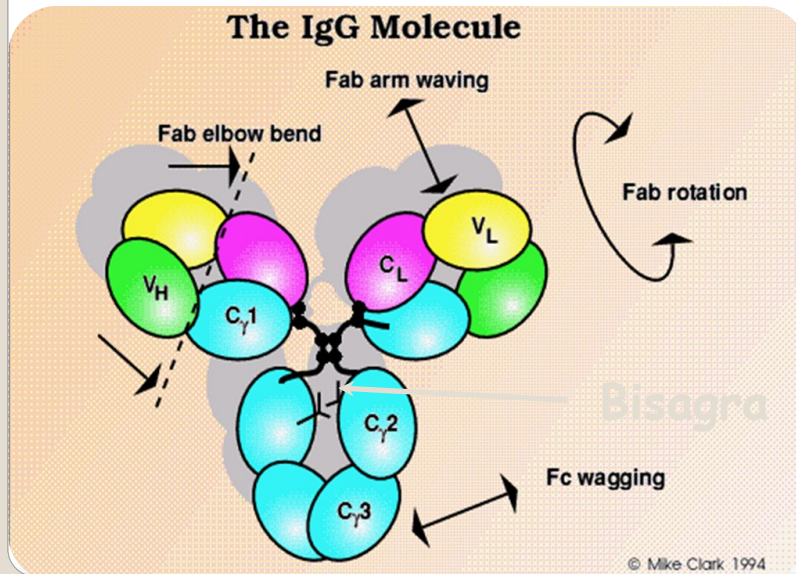


Ontogenia de linfocitos B

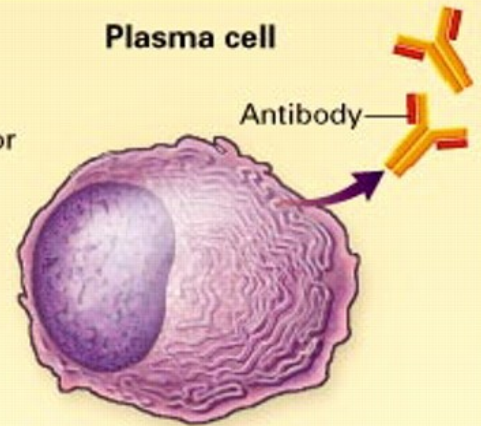
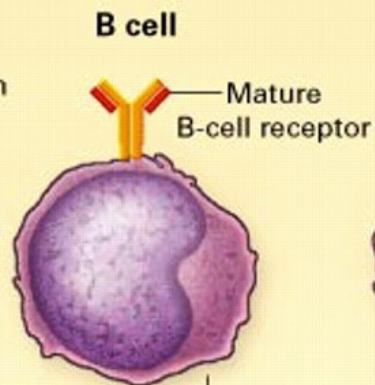
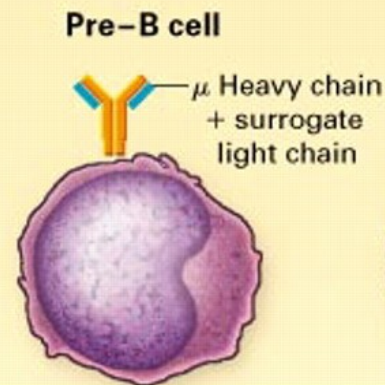
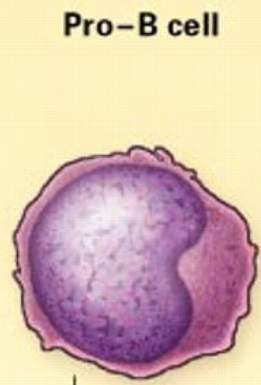
Ontogenia de Linfocitos B

Estadío I (pro-B):

Reordenamiento genético de las cadenas pesadas las inmunoglobulinas $Ig\mu$

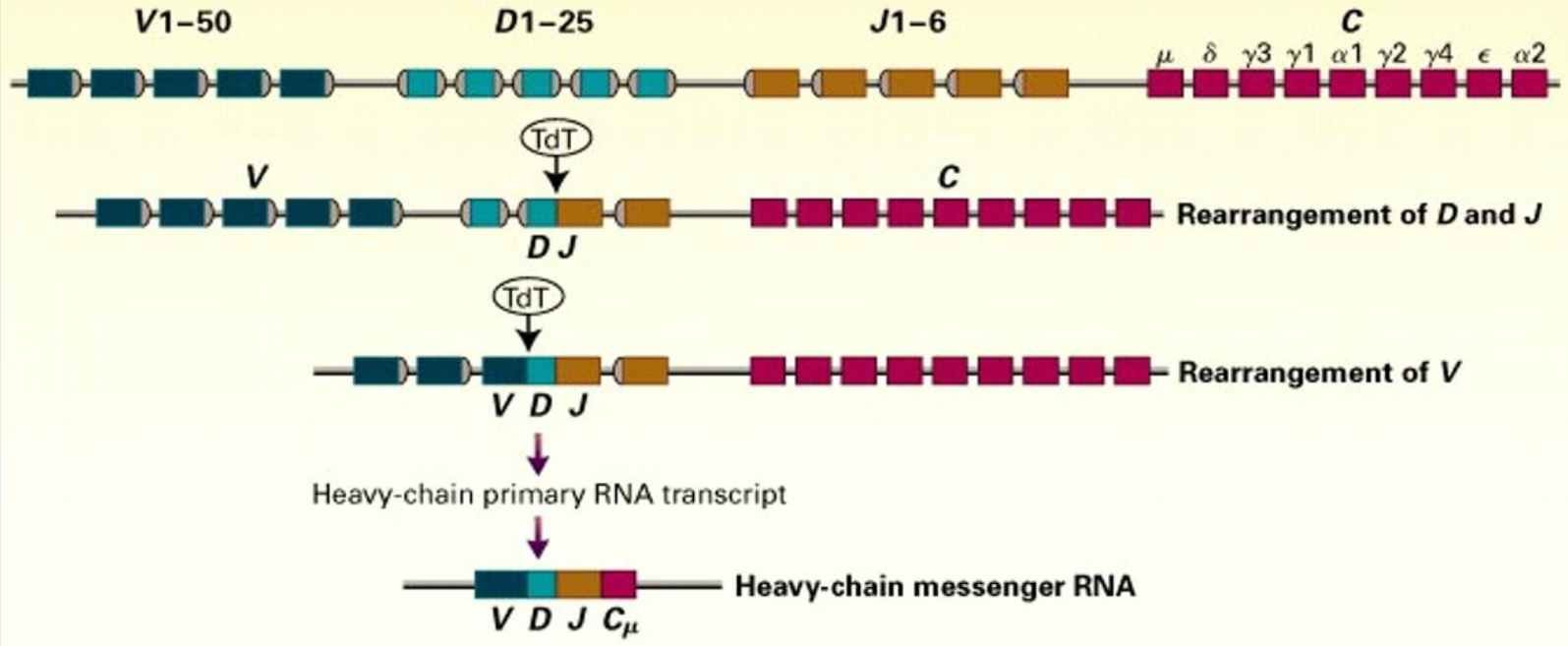


IL-7r
IL-3r

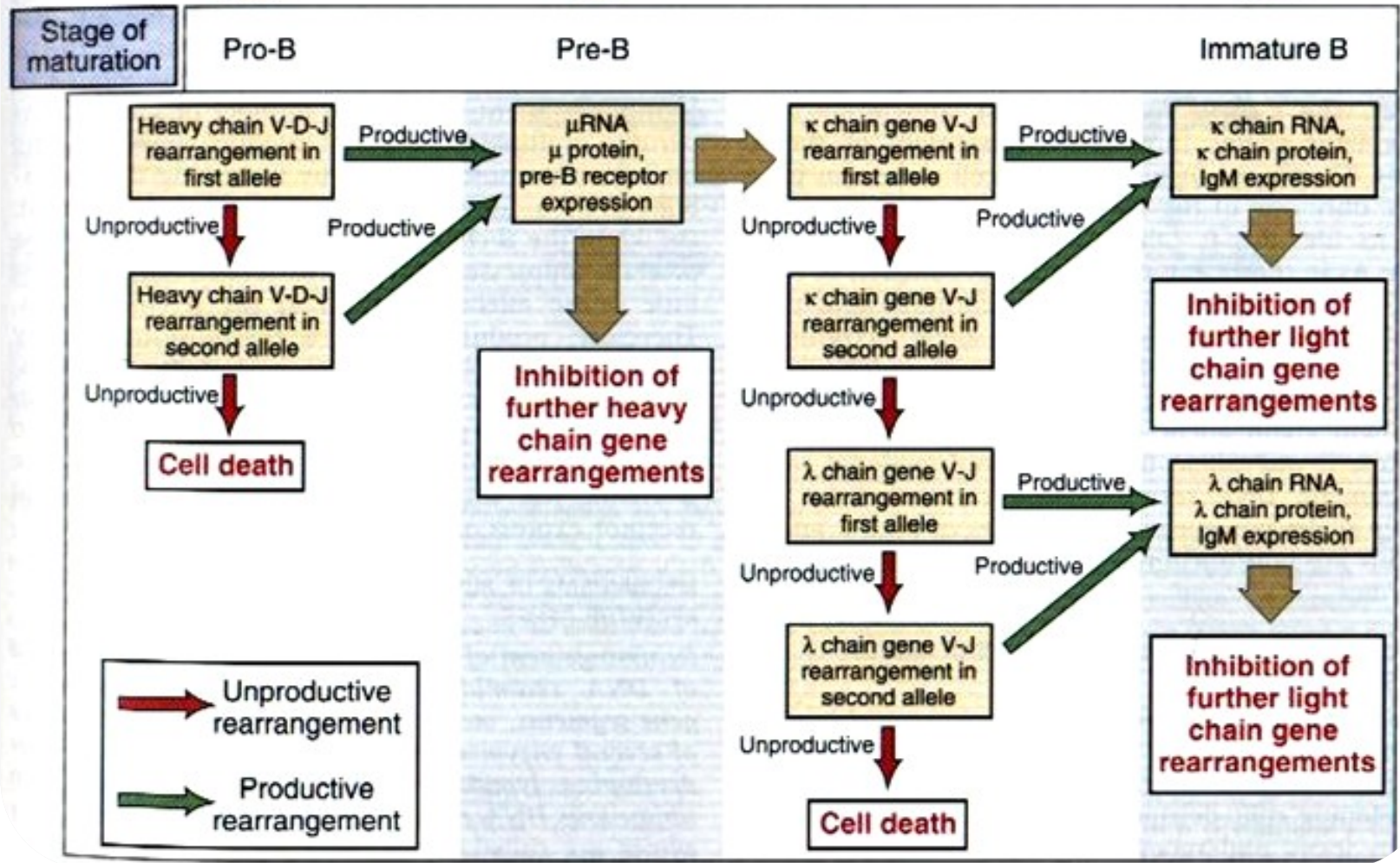


Expression of *RAG1* and *RAG2*

Immunoglobulin gene rearrangement

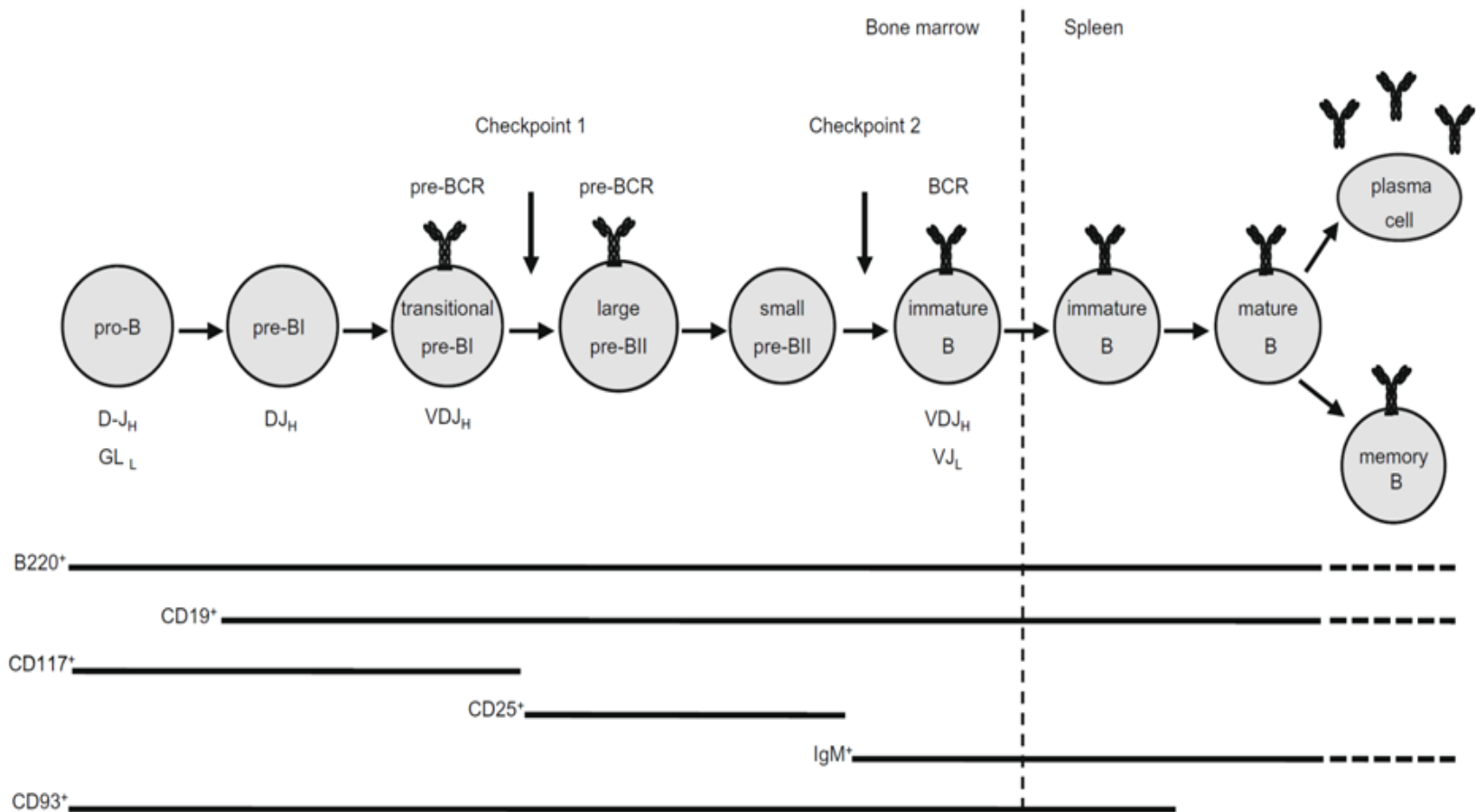


Ontogenia de Linfocitos B



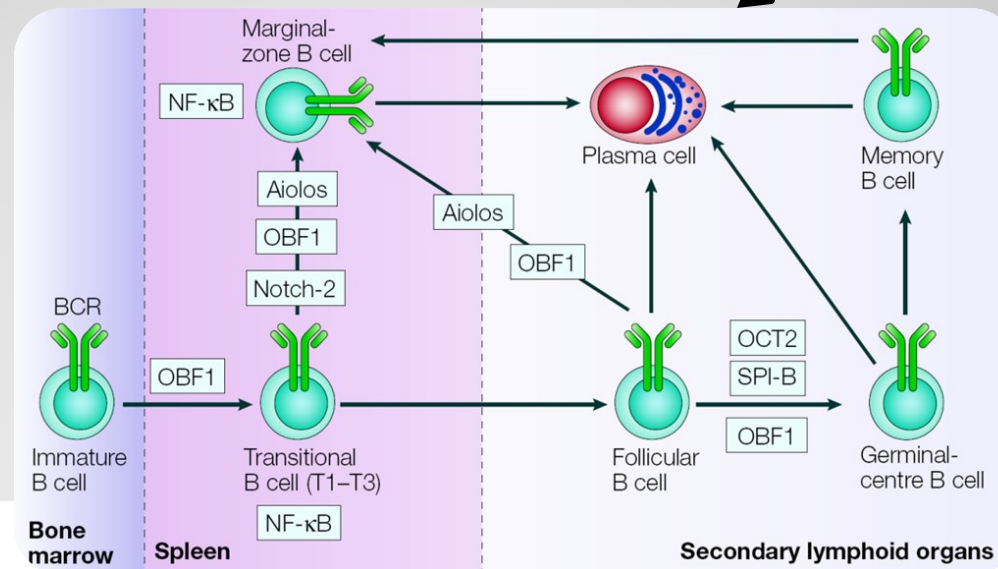
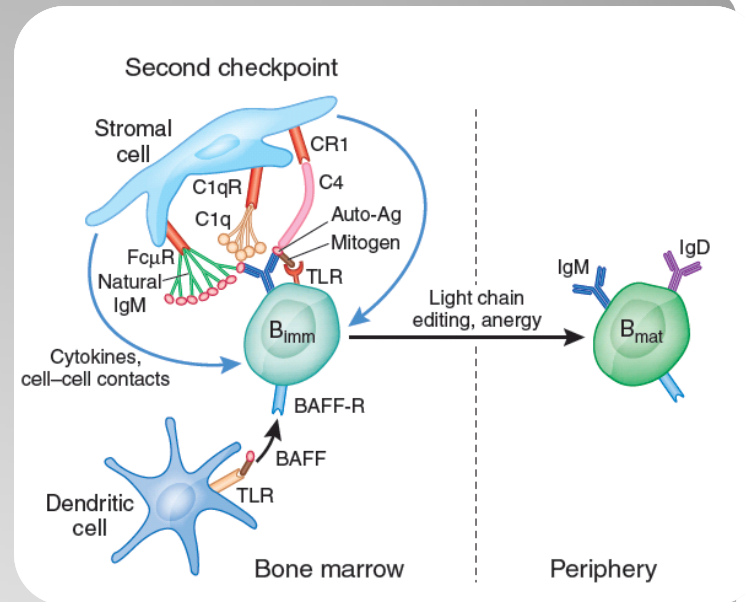
Eclusion alelica e isotipica

Ontogenia de Linfocitos B

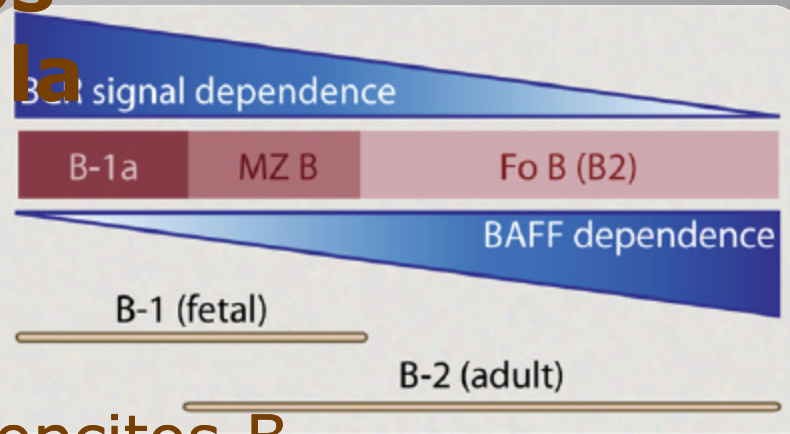


Ontogenia: LINFOCITO B

- ▶ Emigran de la MO (ya evaluadas: selección positiva)



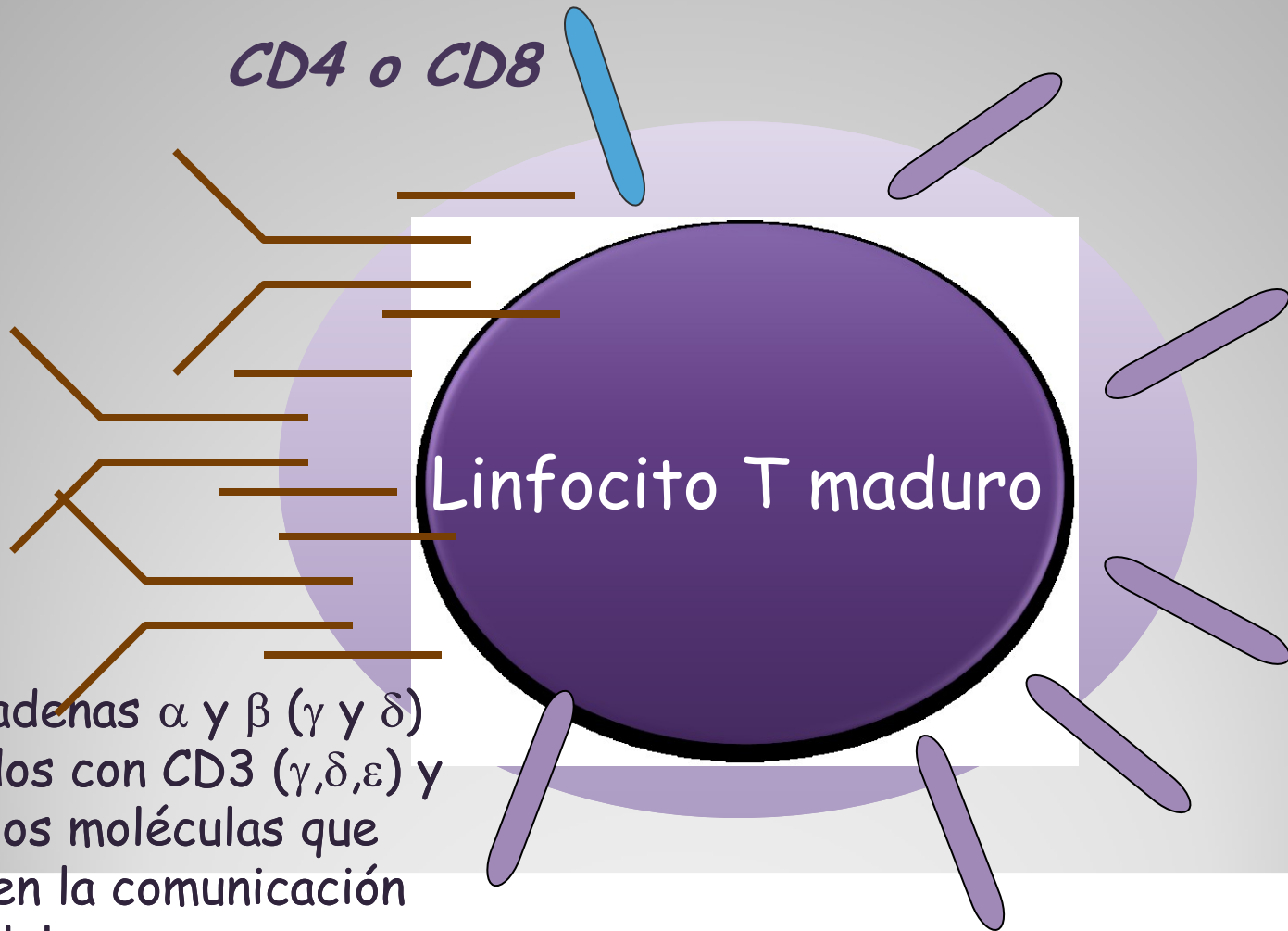
Ontogenia de linfocitos B: Subpoblaciones en la periferia



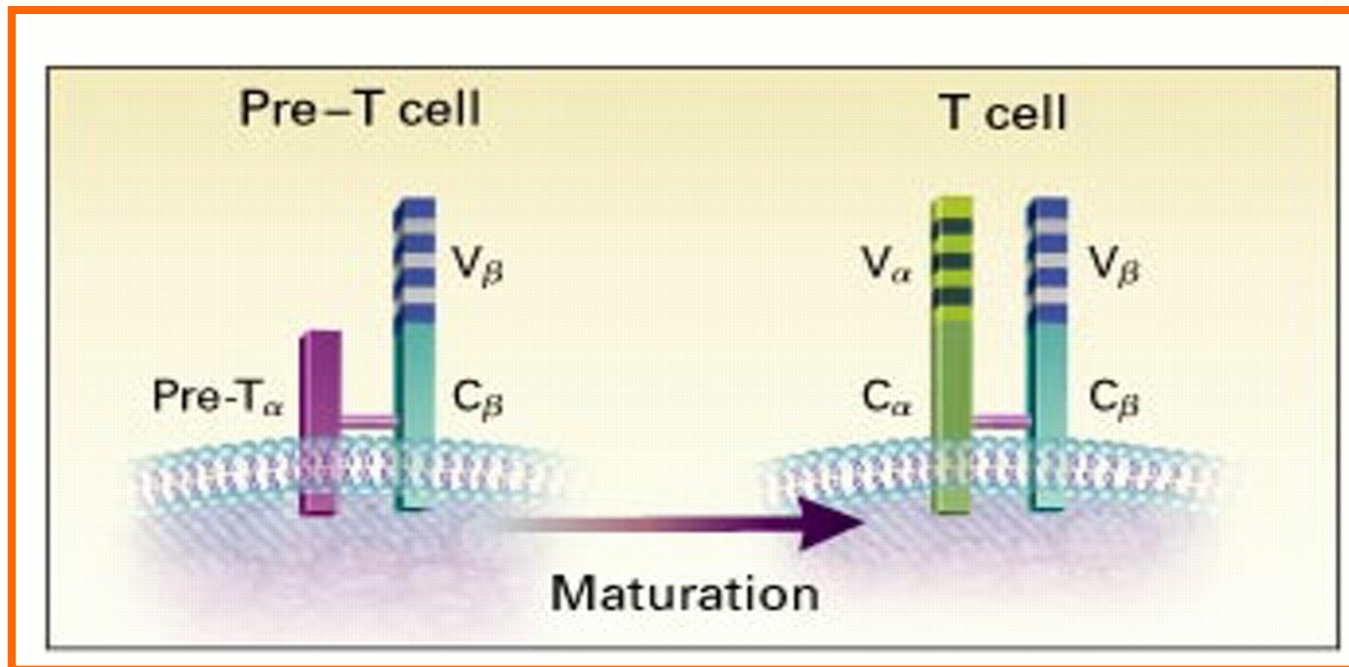
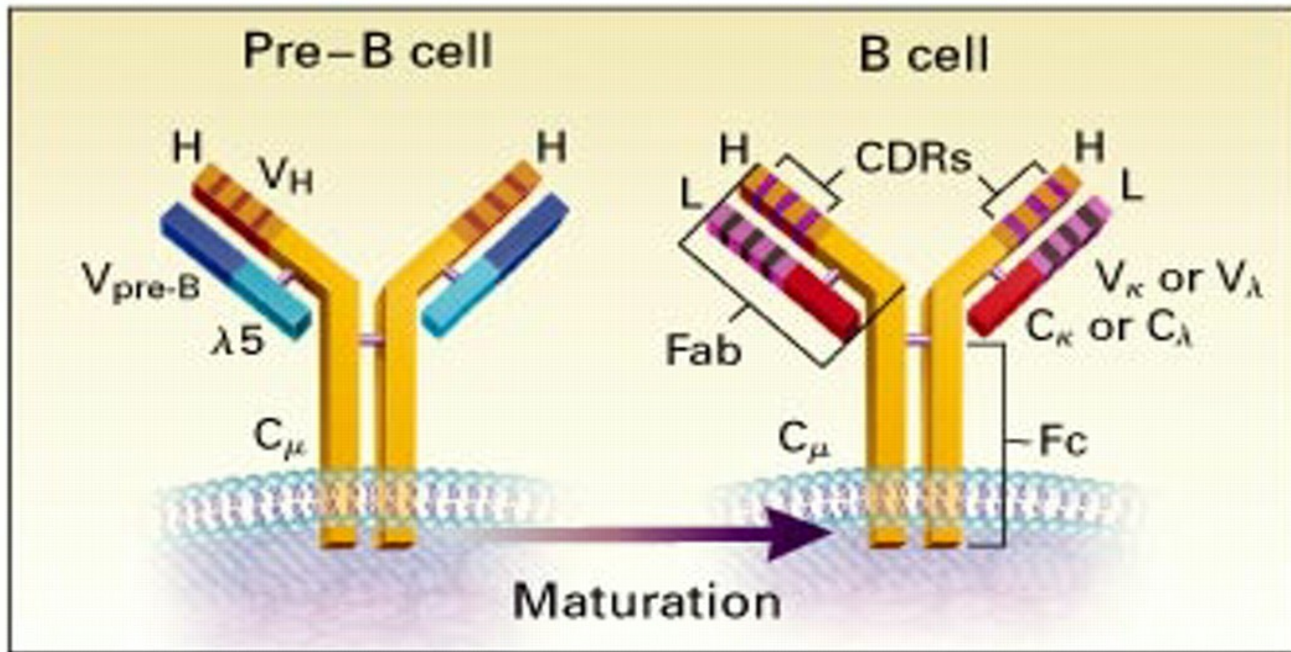
- ▶ Subpoblaciones de linfocitos B
- ▶ B-1:
 - CD5+
 - Ubicadas preferencialmente en cavidad peritoneal
 - Potencialmente autorreactivas
 - No son eliminadas por antígenos propios
 - Producción de anticuerpos naturales, producción de IgM contra streptococcus
- ▶ B-2
 - Predominan en la periferia
 - CD5-

Ontogenia de los linfocitos T

CD4 o CD8



TCR: cadenas α y β (γ y δ)
asociados con CD3 (γ, δ, ϵ) y
otras dos moléculas que
permiten la comunicación
intracelular



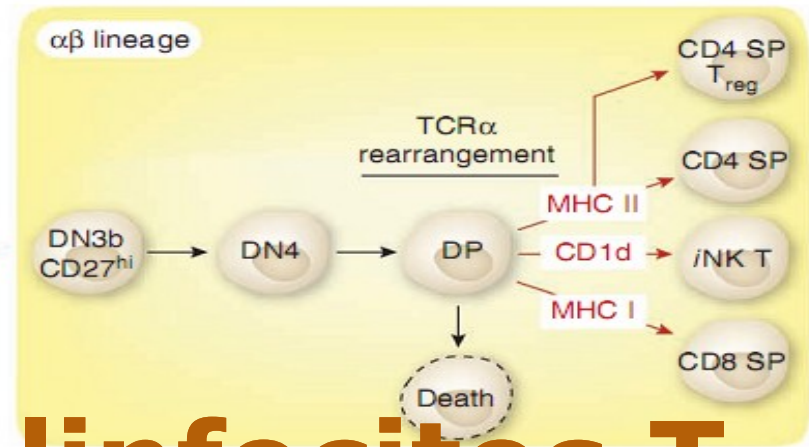
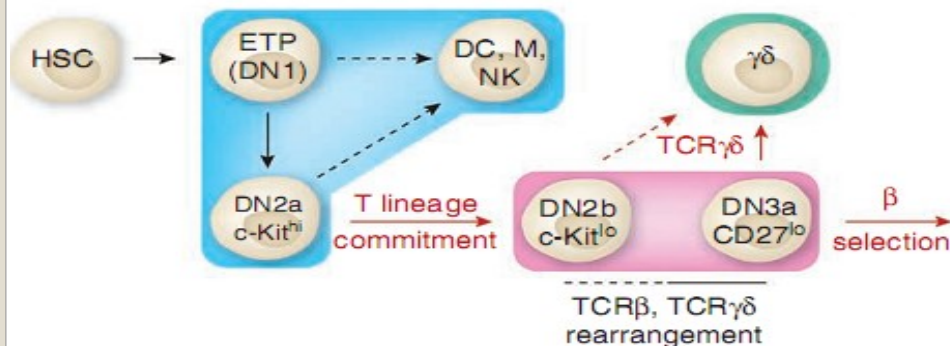
- Durante la ontogenia de linfocitos T se toman las siguientes decisiones:
 - Comisionar hacia el linaje linfoide y decidir hacia linfocito T o B
 - Reordenamiento del TCR
 - Escoger entre $\text{TCR}_{\gamma\delta}$ o $\text{TCR}_{\alpha\beta}$
 - Selección positiva y negativa
 - Escoger entre CD4 o CD8

Ontogenia de linfocitos T

Ontogenia de linfocitos T

- Se desarrollan en el timo
- Están sujetos a mecanismos de selección positiva y negativa
- El repertorio de células se genera por recombinaciones de segmentos de genes del TCR

- En el timo ocurre la maduración de linfocitos T
- El desarrollo de los linfocitos T genera dos subpoblaciones
 - Linfocitos T CD4+
 - Linfocitos T CD8+
 - Células T reguladoras naturales (CD4+/CD25+/Foxp3+)
 - Células NKT



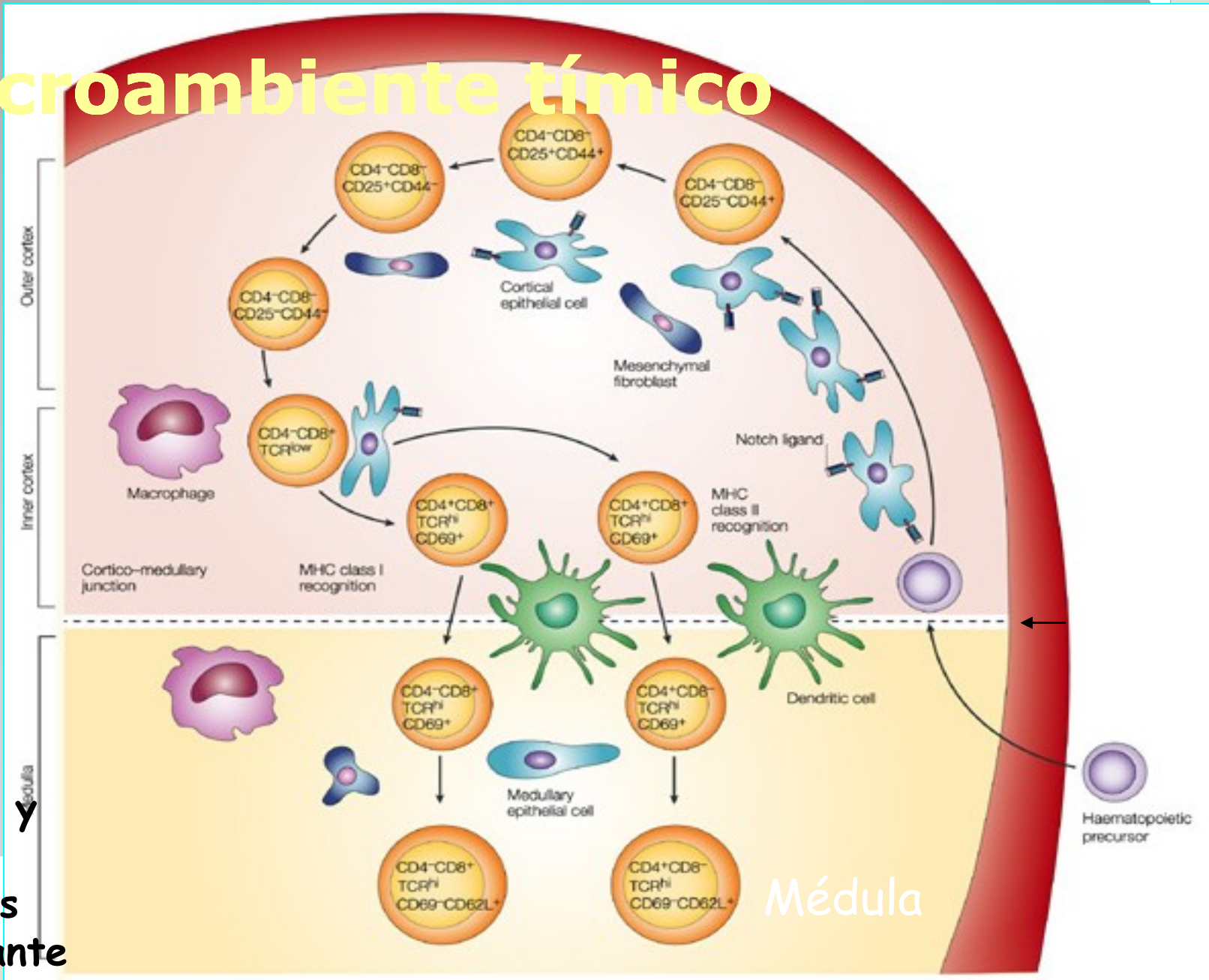
Kim Caesar

Ontogenia de linfocitos T

Microambiente tímico

Células
epiteliales
corticales

Células
epiteliales
medulares y
células
dendríticas
interdigitante

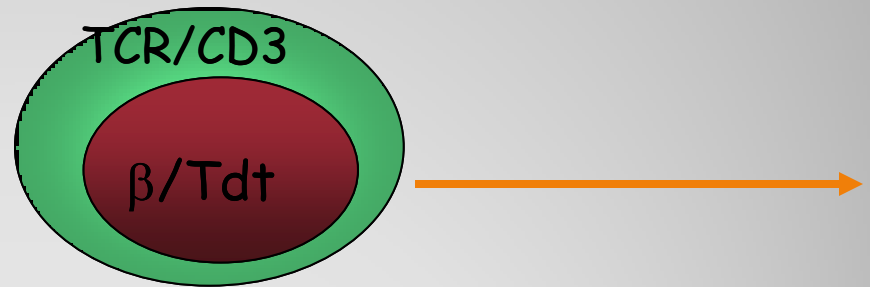


Ontogenia de Linfocitos T

Estadío I (timocito temprano):

Reordenamiento de la Cadena β del TCR (receptor del linfocito T)
Doble negativos (DN)

Pro-T a pre-T



Región variable, diversidad y unión

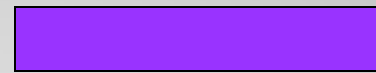
Región constante

Ontogenia de Linfocitos T

Reordenamiento de la Cadena α del TCR
(receptor del linfocito T) Doble negativos (DN)

1 2 3 4 5 6 n

1 2 3 4 n

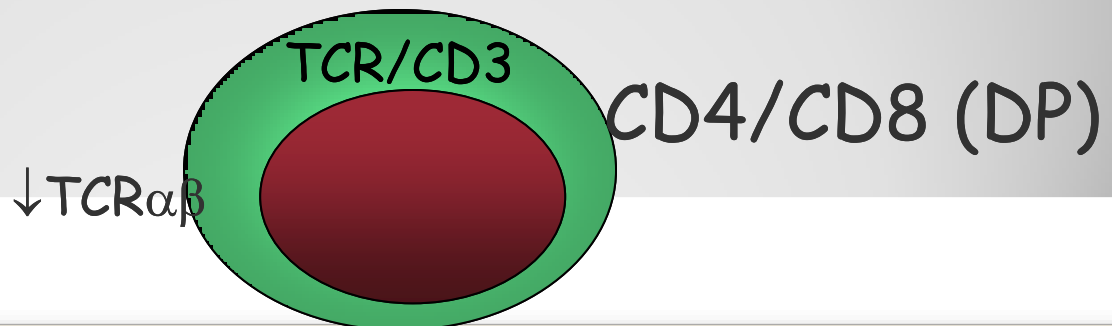


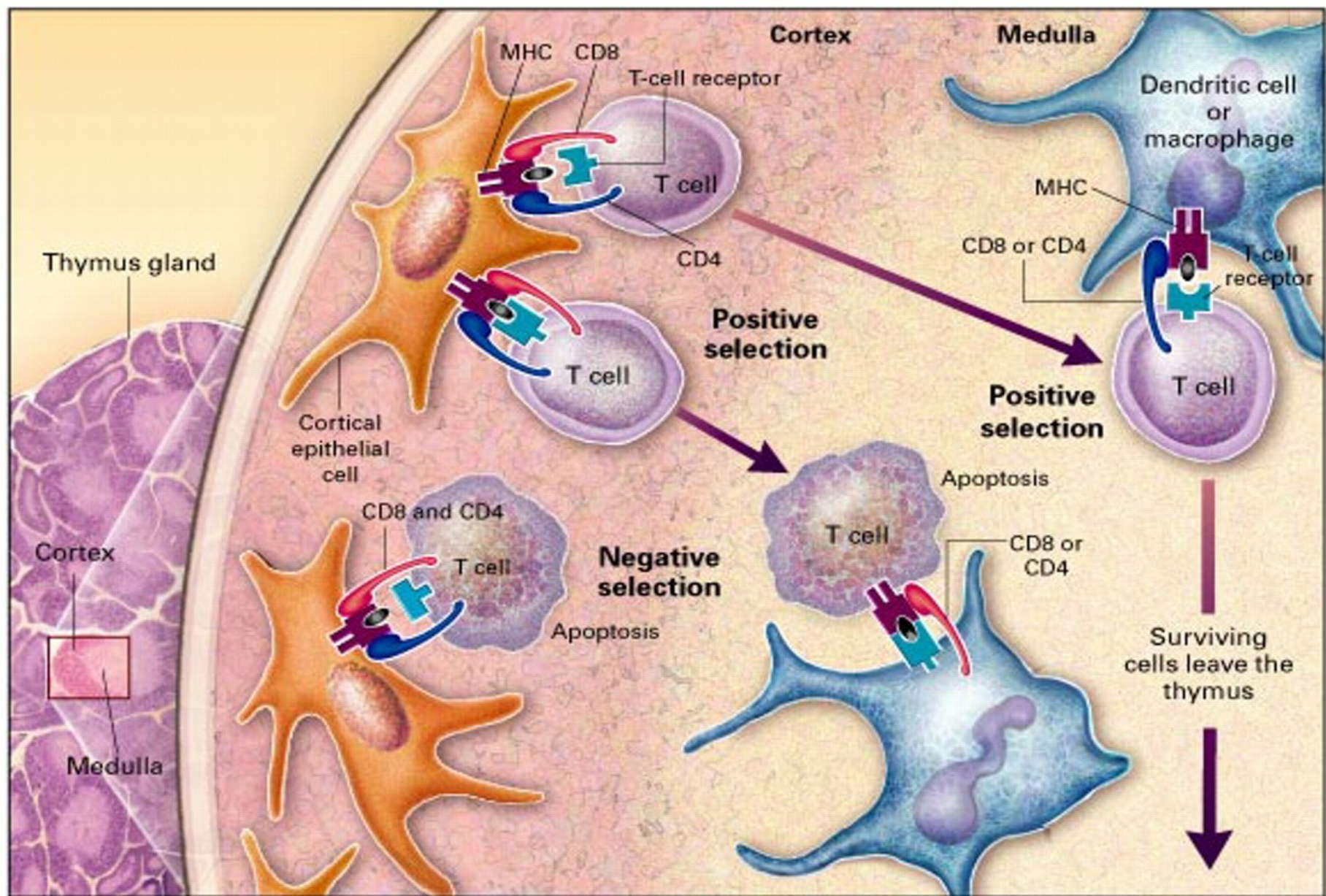
1er alelo

Región variable, diversidad
y unión

Región constante

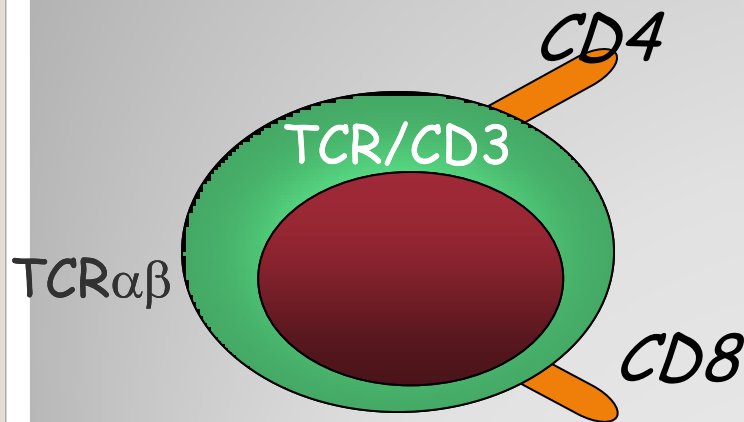
Estadío II (timocito intermedio o común):



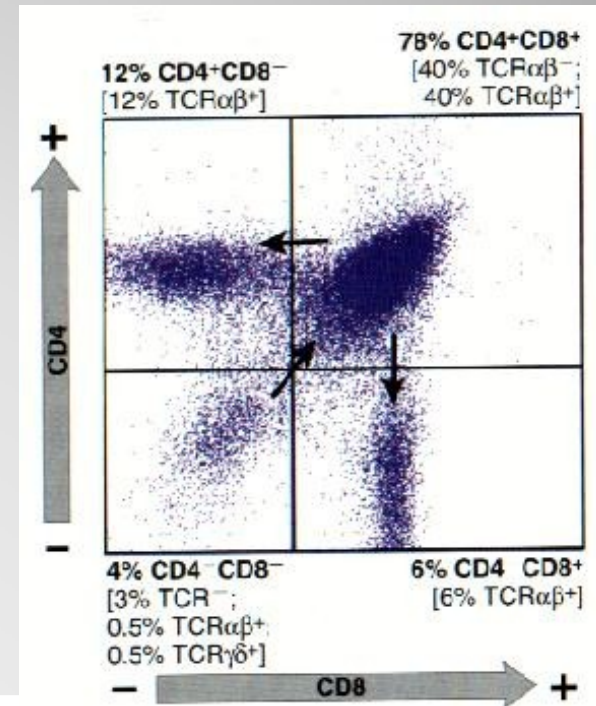


Ontogenia de Linfocitos T

Timocito doble positivo:

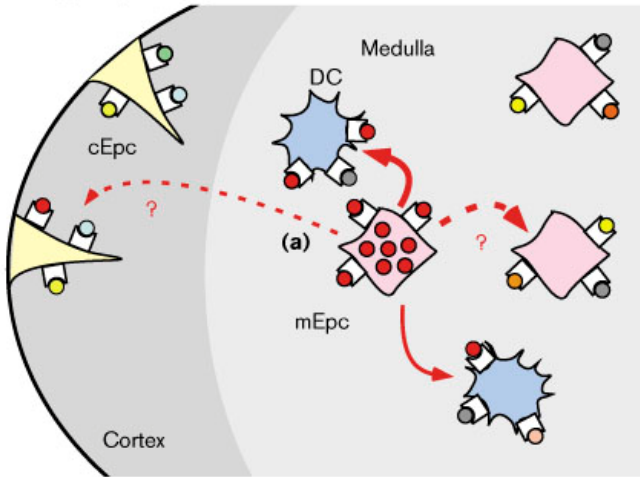


Expresan TCR y además CD4 y CD8 (DP) en la superficie: da paso a los mecanismos de selección positiva y negativa y se define el fenotipo

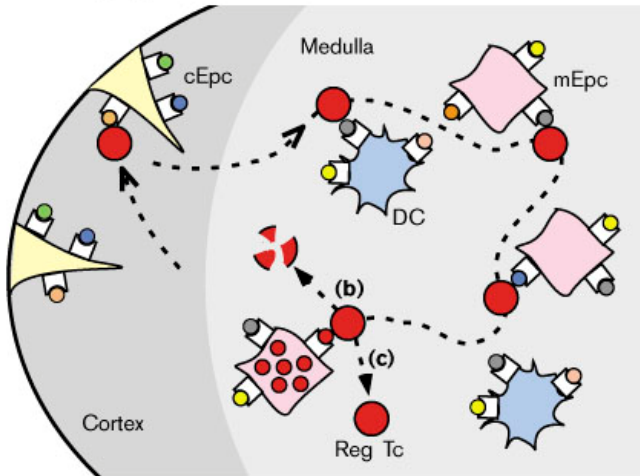


Ontogenia de linfocitos T: CÉLULAS DEL ESTROMA TÍMICO

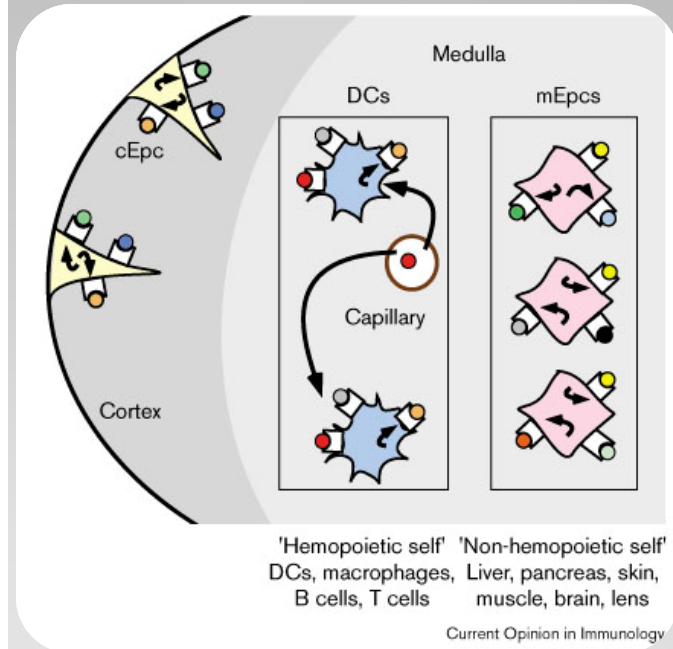
Antigen spreading



Scanning by T cells



Current Opinion in Immunology



'Hemopoietic self' DCs, macrophages, B cells, T cells
'Non-hemopoietic self' Liver, pancreas, skin, muscle, brain, lens

Current Opinion in Immunology

• Las DC expresan bajos niveles de AIRE y además tienen la capacidad transportar Ag propios directamente desde la periferia

Funciones asociadas a las ETC

Desarrollo de las células DN a DP

La selección positiva regulada por las cEpc

Macroautofagia

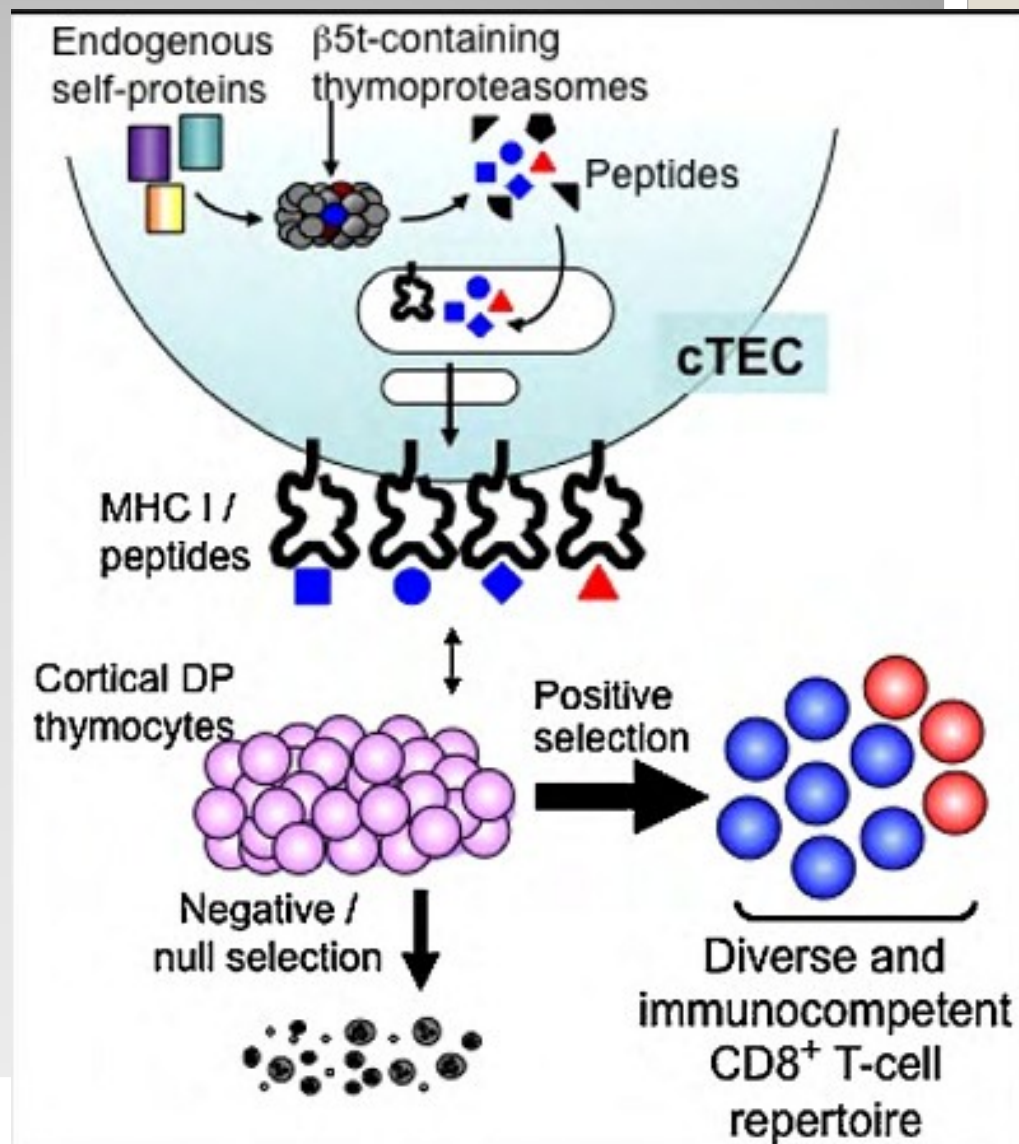
Luego migran hacia la región córtico-medular y la médula, maduran a SP

La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y células dendríticas tímicas residentes del timo

Klein et al. Curr Opin Immunol 2005; 17:137
pin Immunol 2000; 12:179, Peter NRI 2007; , Klein
NRI 2009, 9:833

Resumen

- cETC: macroautofagia
 - La selección positiva regulada por las cEpc
 - Selección positiva: evaluar TCR apropiadamente expresados
 - Timoproteosoma: supe de péptidos citoplasmáticos-MHC-I/CD8
 - Alta expresión de catepsin y serinproteasa timo-esprcifica, MHC-II/CD4
- mETC: AIRE/ macroautofagia
- CDm: transporte a Ag desde la periferia
 - La tolerancia central, es mediada principalmente por las mETC y *células dendríticas tímicas residentes del timo*

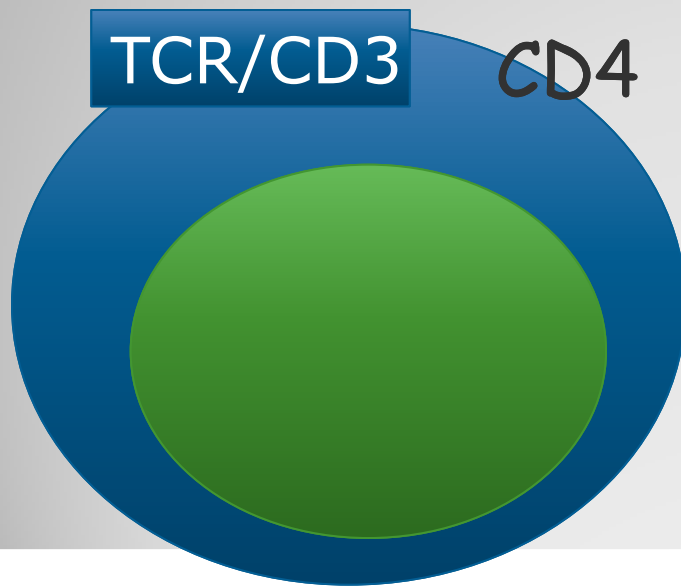


Ontogenia de Linfocitos T

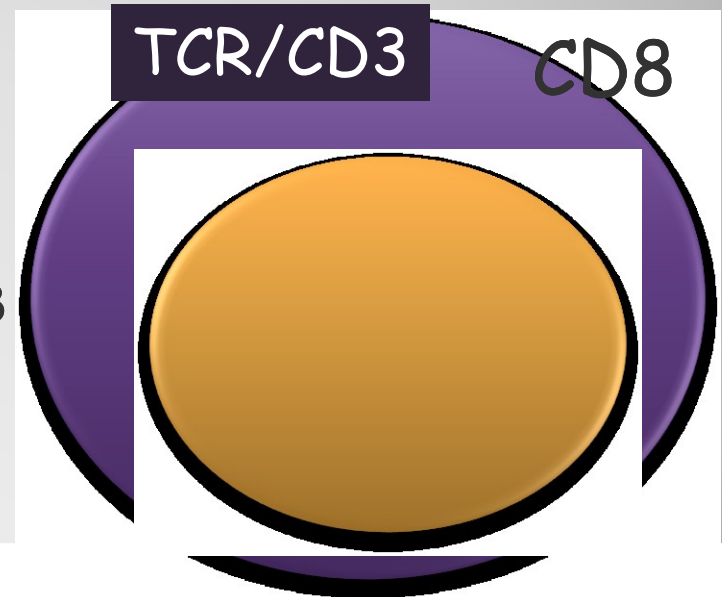
Estadío III (linfocito T maduro):

MHC-II

MCH-I



\uparrow TCR $\alpha\beta$



Ontogenia de linfocitos

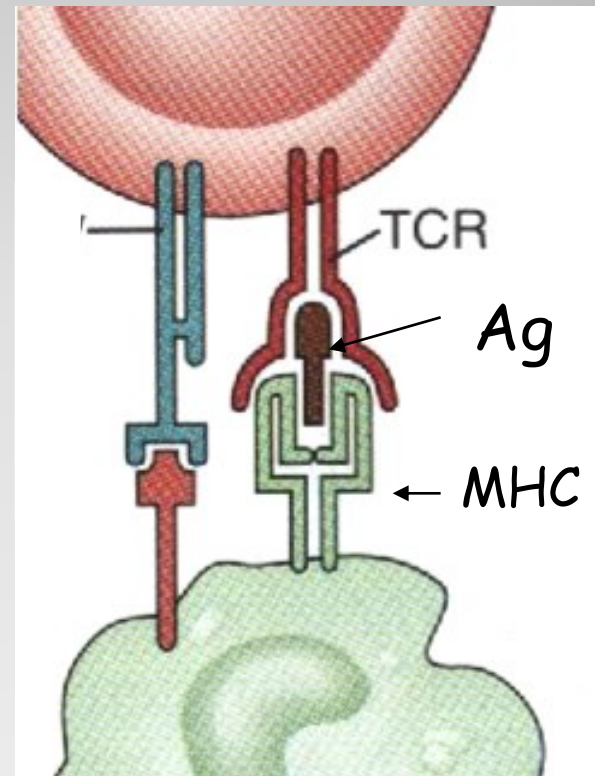
T

- Selección positiva (rescate de la apoptosis):
 - TCR no reconozca a los Ag propios
- Selección negativa:
 - TCR con alta afinidad por el Ag propio
 - Corteza profunda, unión cortico-medular y medula
 - Células interdigitantes

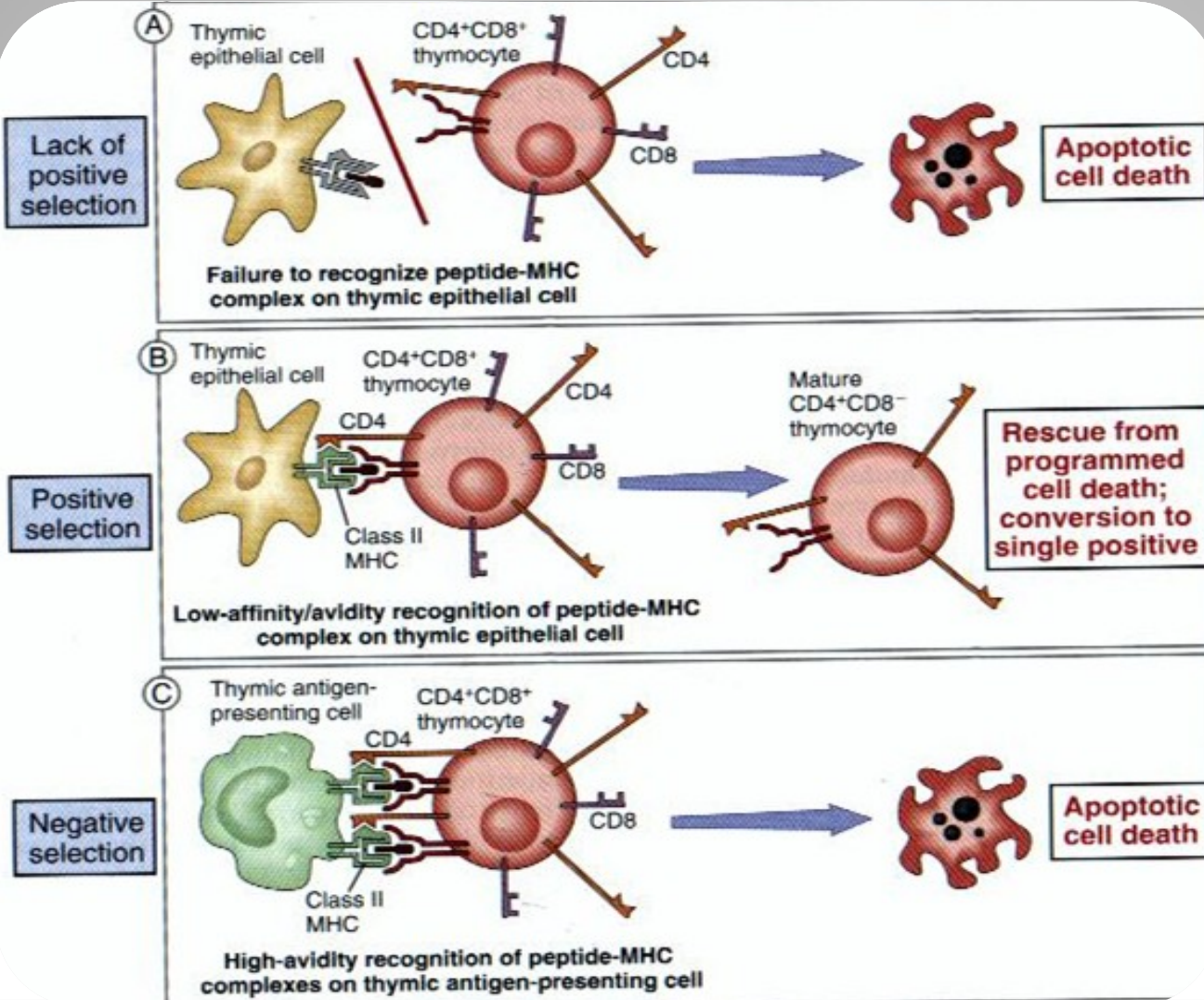
Ontogenia de Linfocitos T

Control de calidad:

Capaz de interactuar con MHC propia (base de toda respuesta inmunológica) y de esta manera reconoce los antígenos presentados



Ontogenia de Linfocitos T: Selección positiva y negativa

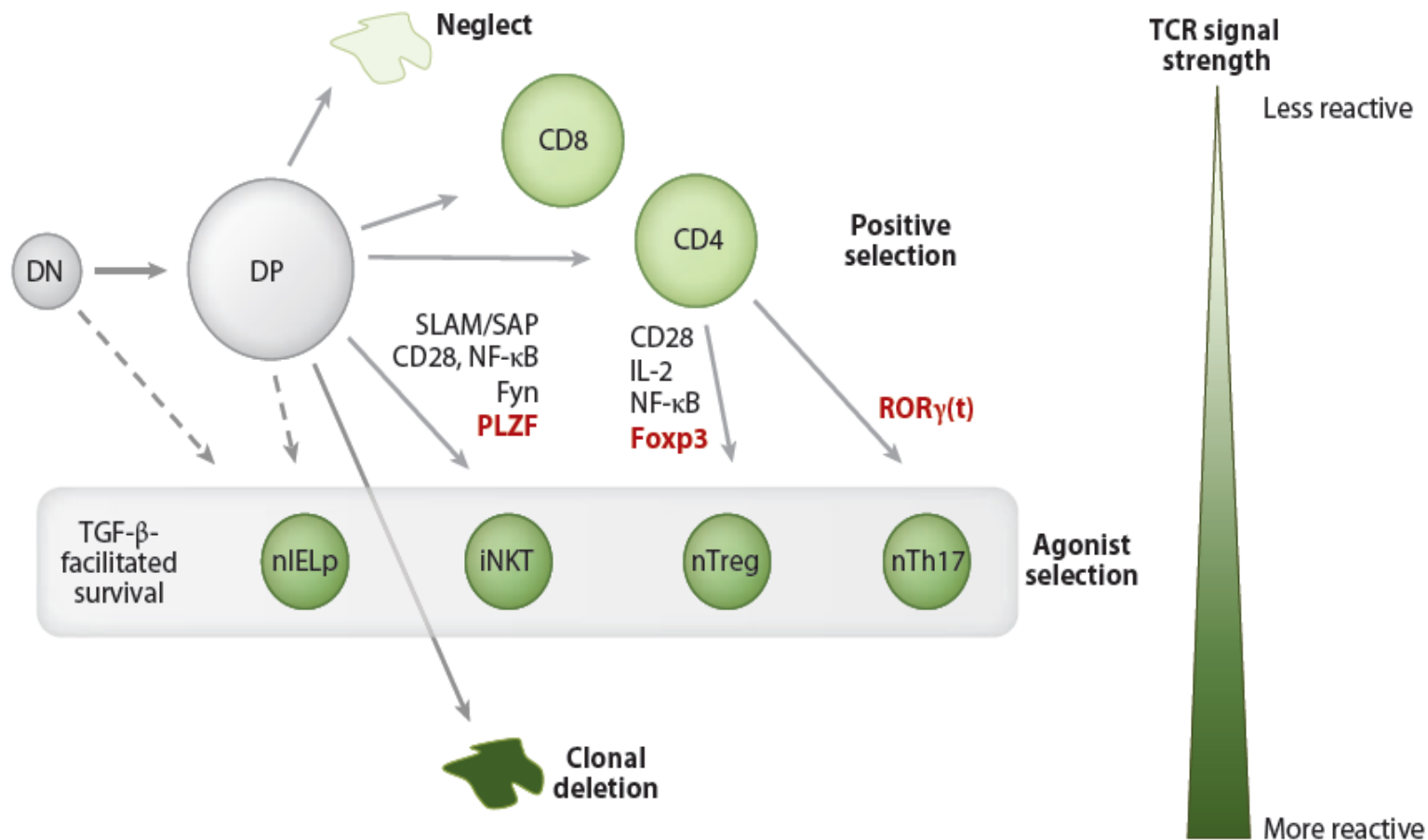


Muerte o
anergia

Ontogenia de linfocitos T

- *Selección negativa:*
 - *TCR con alta o muy baja (negligencia, no recibe señal de supervivencia) afinidad por el Ag (son CD24+)*
 - *90% mueren por negligencia*
 - *Muchos TCR se acoplan simultáneamente con su ligando y tiempo de unión al ligando?*
 - *Altas concentraciones de ligandos de alta afinidad*
 - *Mueren por apoptosis mediada por:*
 - *Fas, TNFR, CD30 (CD28 actúa como co-factor)*
 - *TCRs con alta afinidad pueden dar origen a células T reguladoras (CD4/CD25+)*

Ontogenia de linfocitos T

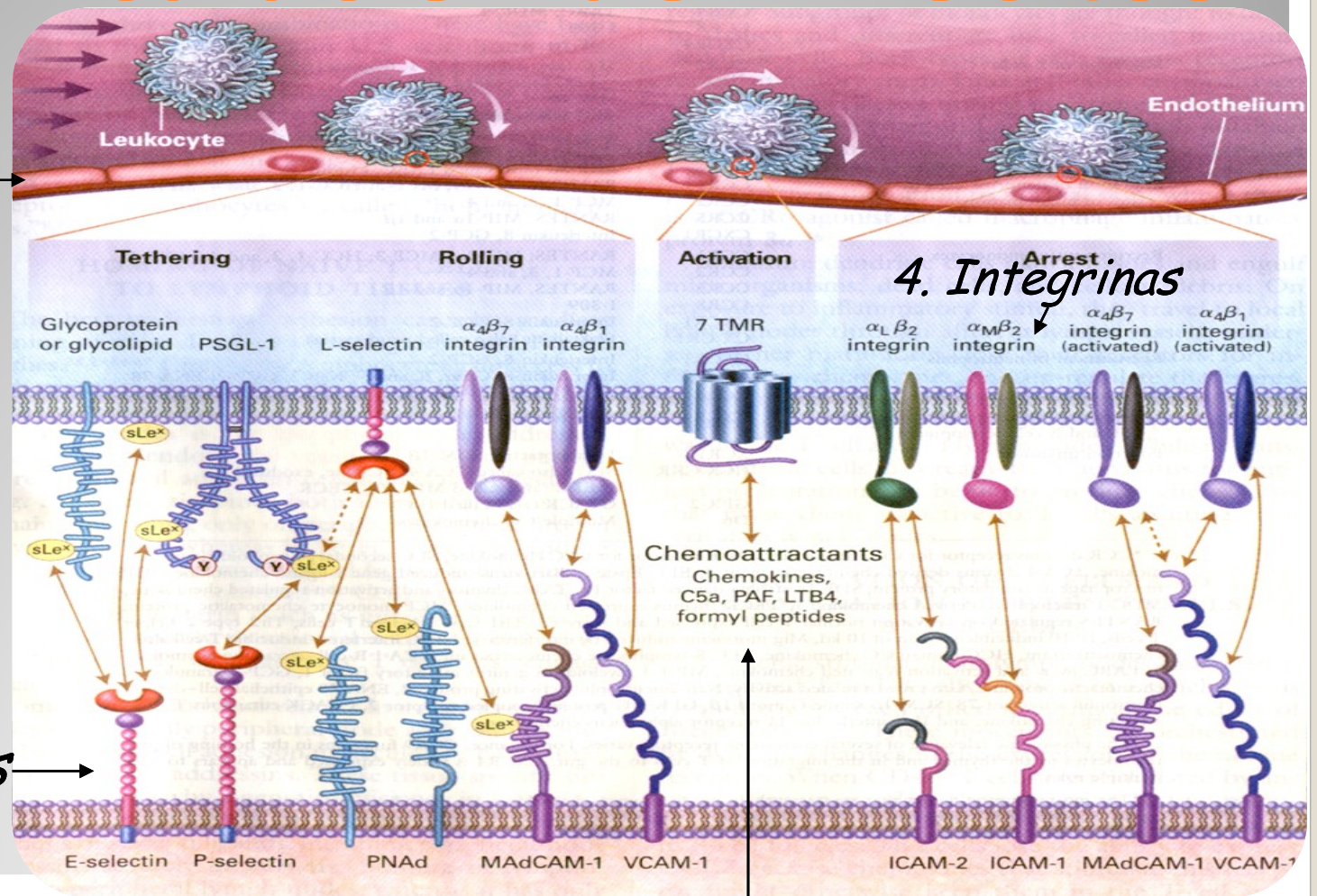


Recirculación de linfocitos

1. HEV →

2. Selectinas →

3. Quimiocinas

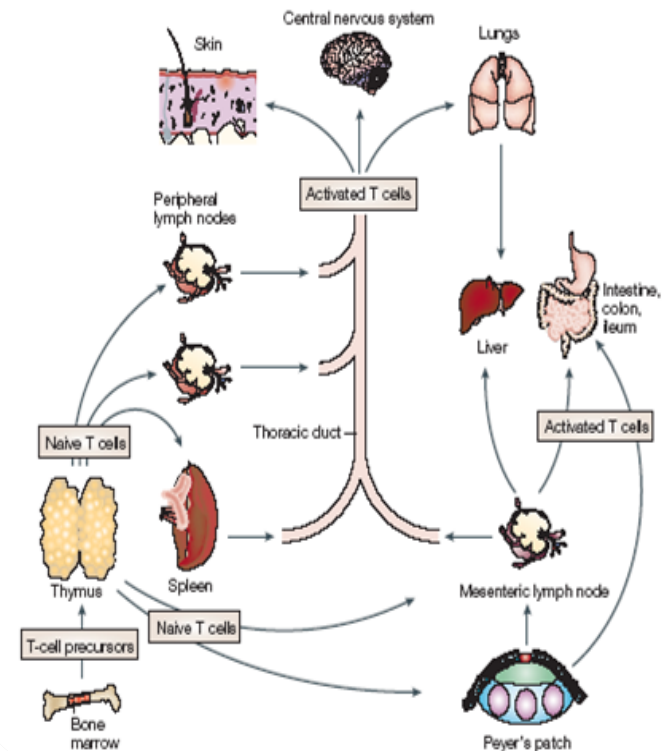


4. Integrinas

Recirculación y alojamiento de los leucocitos

Objetivos fundamentales de la recirculación y alojamiento:

- Balance en la distribución de linfocitos en los tejidos
- Selección de linfocitos Ag-específicos (órganos linfoides secundarios)
- Renovación continua de los microambientes
- Representantes en todo el cuerpo de linfocitos específicos para un determinado Ag
- Reclutamiento rápido a los sitios de inflamación



Órganos secundarios y maduración final de los linfocitos

- *Función:*
 - *Facilitan el trabajo de los linfocitos*
 - *Sitios de encuentro entre células presentadoras de antígeno (APC) y linfocitos*
 - *Proveen el microambiente adecuado para la expansión de linfocitos T*
 - *Optimizan la activación de linfocitos B "naive"*

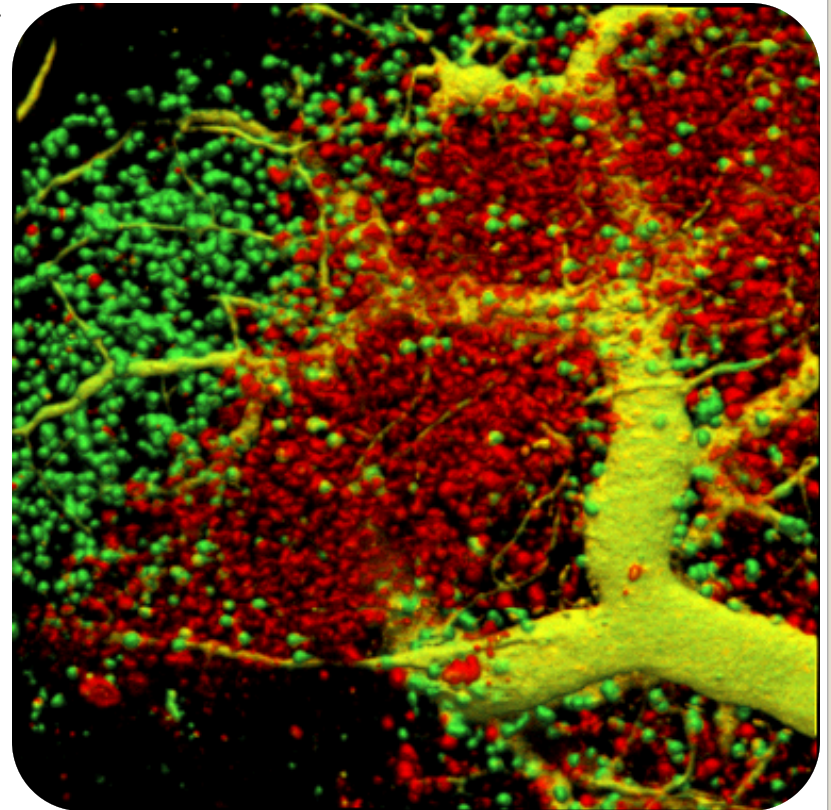
Recirculación y alojamiento de los leucocitos

Tráfico no es aleatorio

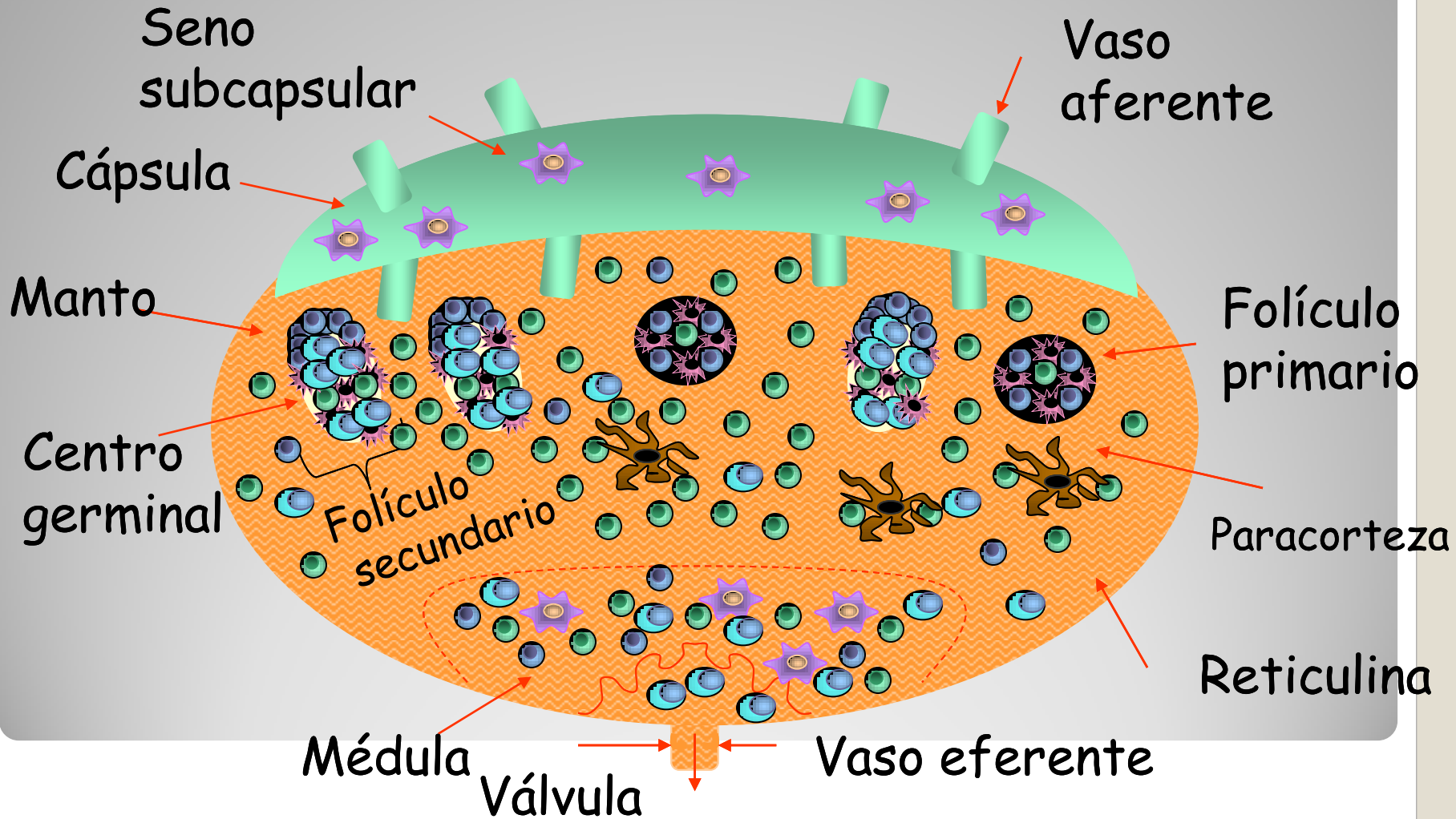
*Qué determina la distribución y
tráfico diferencial?*

*Expresión y activación diferencial
de receptores de quimiocinas y de
integrinas*

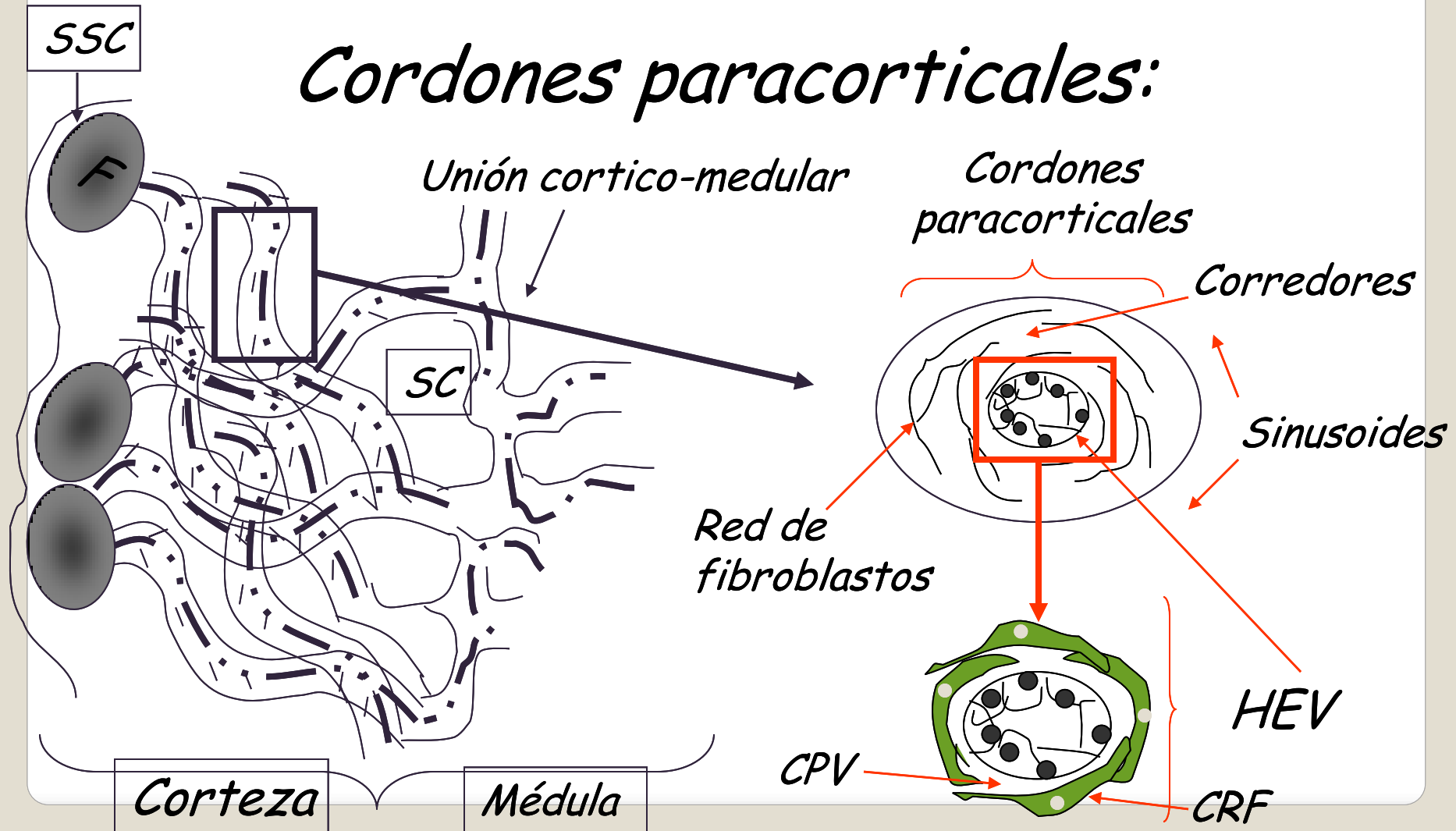
- *Células "naïve" migración restringida a los órganos secundarios*
- *Células efectoras y de memoria pueden trasladarse a órganos linfoides y no linfoides (virtualmente a cualquier órgano)*
 - *Tendencia a ubicarse en el sitio original de su activación*

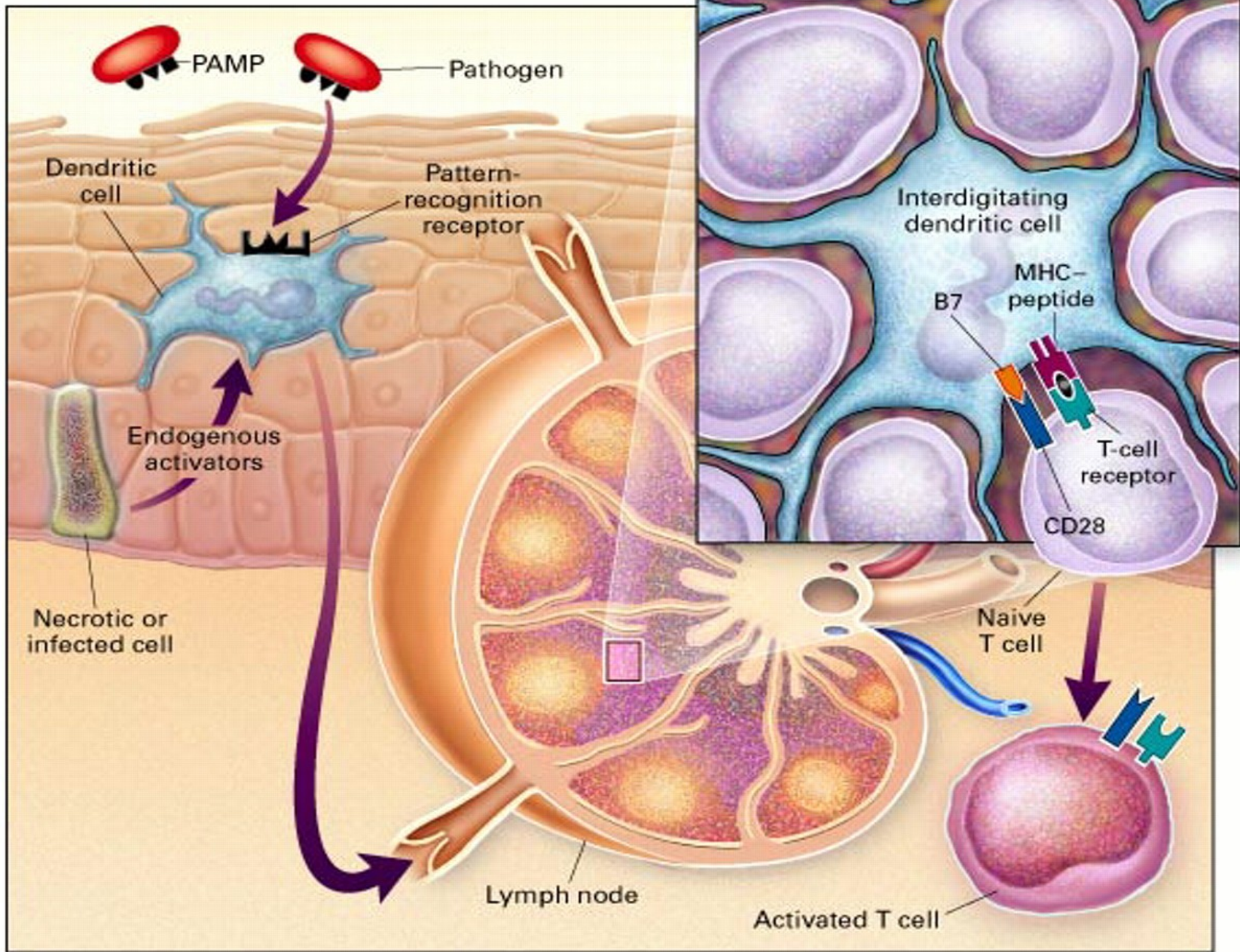


Órganos secundarios: ganglios linfáticos

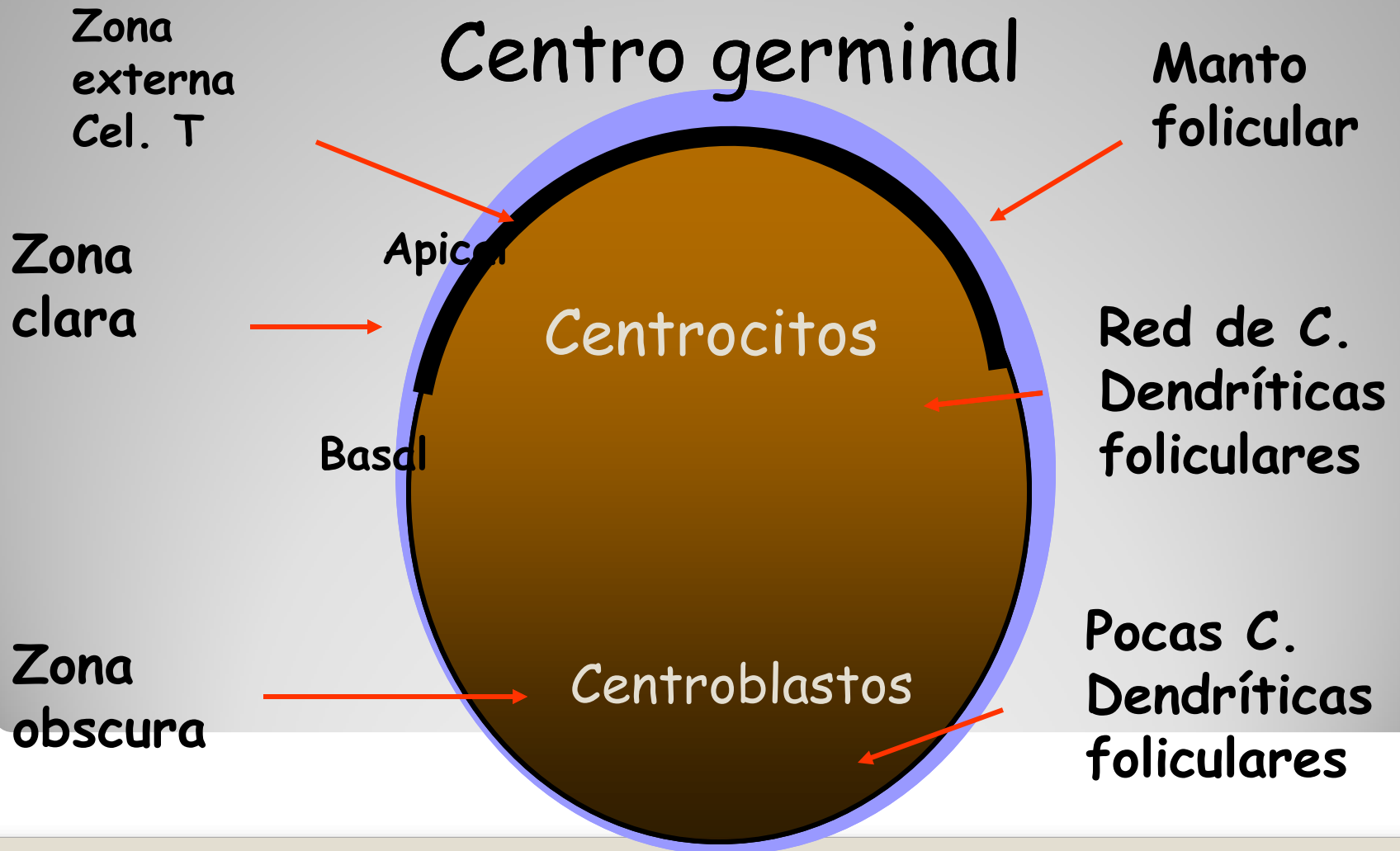


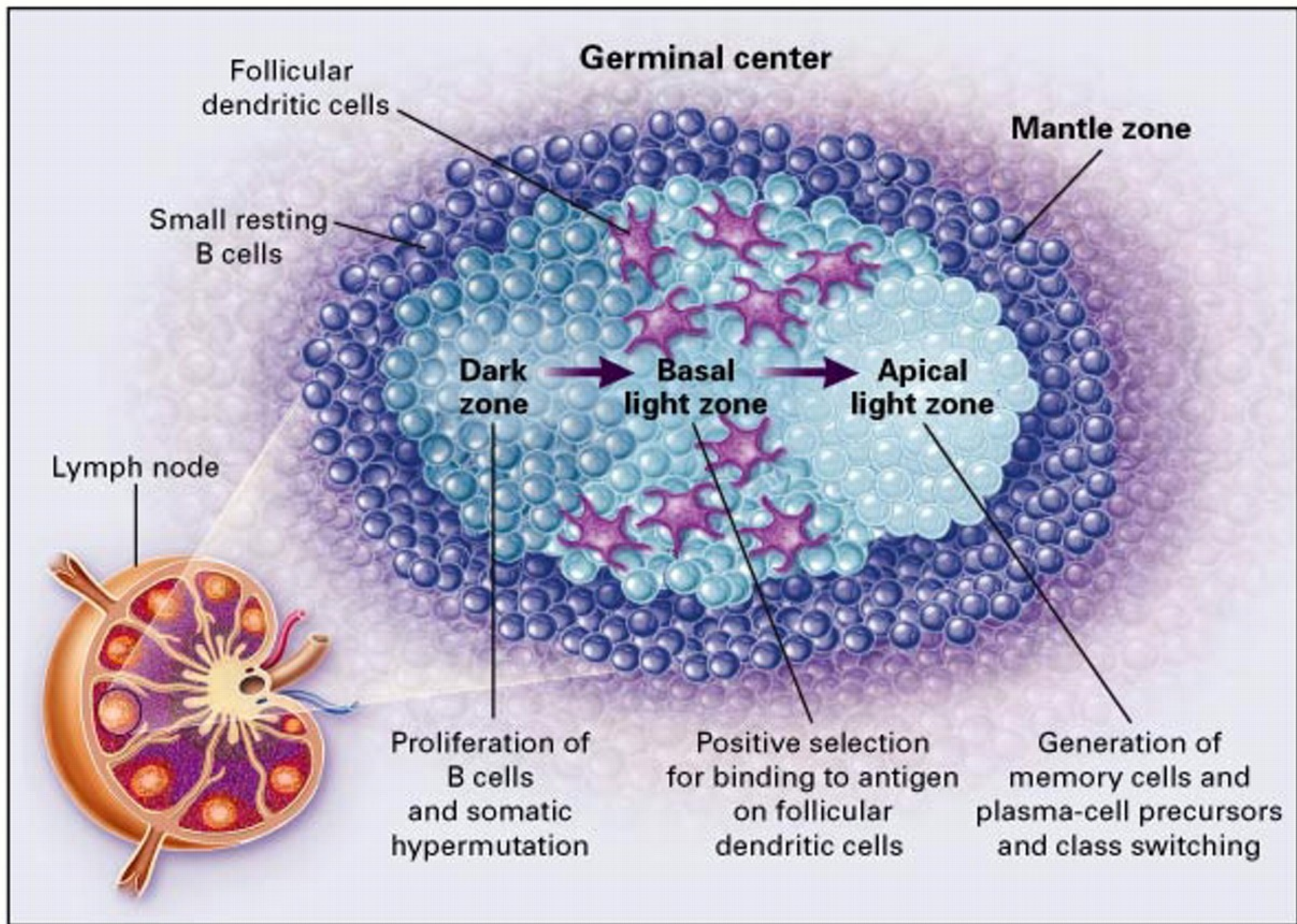
Órganos secundarios: ganglios linfáticos





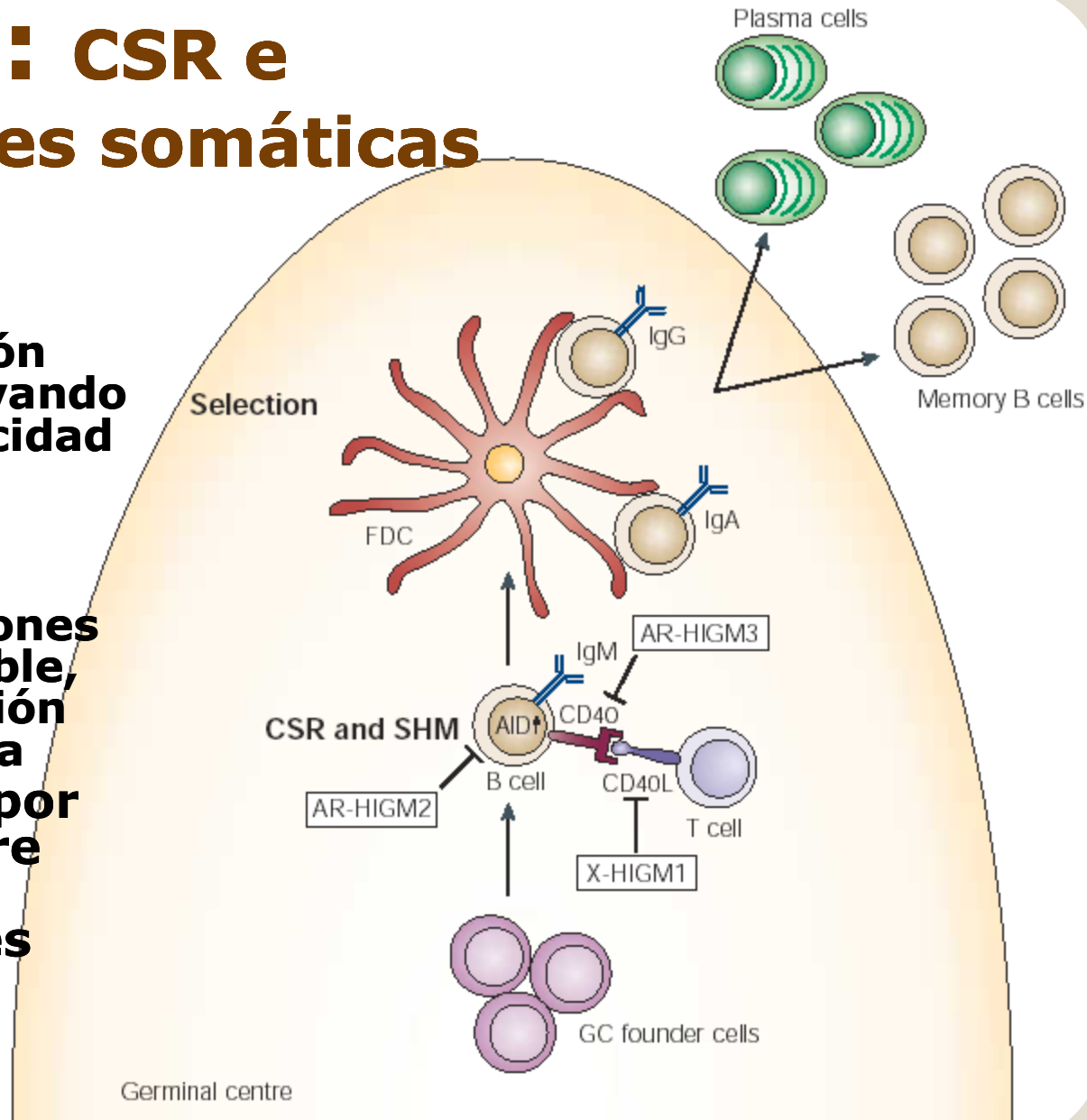
Órganos secundarios: Folículo secundario

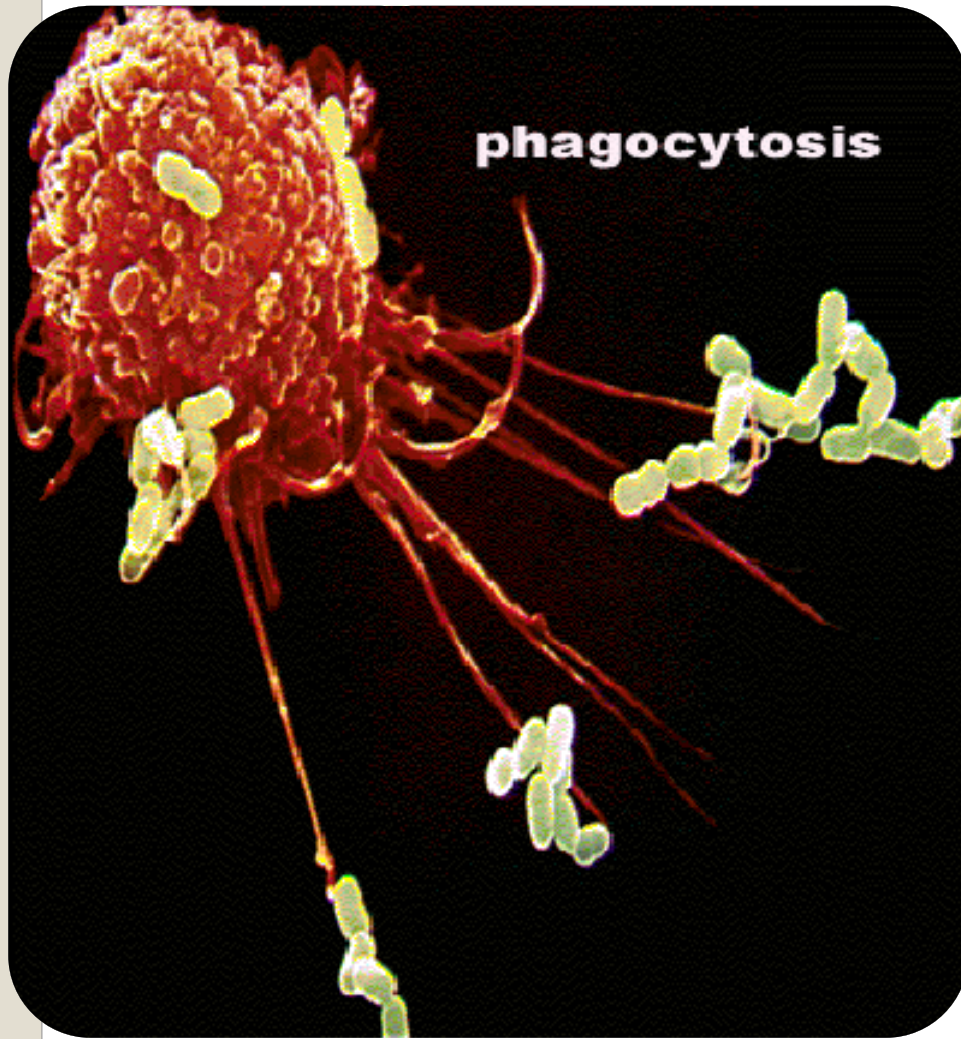




Ontogenia: CSR e hipermutaciones somáticas

- ▶ **Cambio de isotipo (CSR)**
 - Cambio de la región constante conservando la misma especificidad antigénica
- ▶ **Hipermutaciones somáticas:**
 - Introduce mutaciones en la región variable, seguido de selección positiva o negativa
- ▶ **Ambos activados por la interacción entre BCR/CD40 en los centros germinales**





Todo el proceso de ontogenia, recirculación y alojamiento le permite a los linfocitos estar preparados para reconocer de manera específica a los antígenos extraños