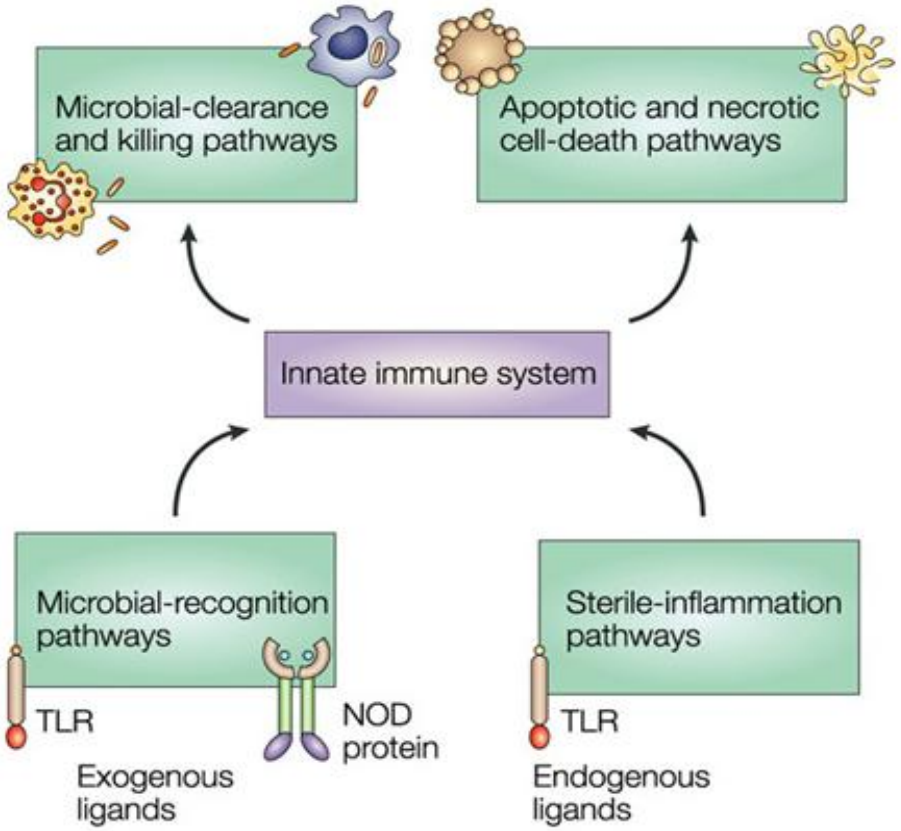
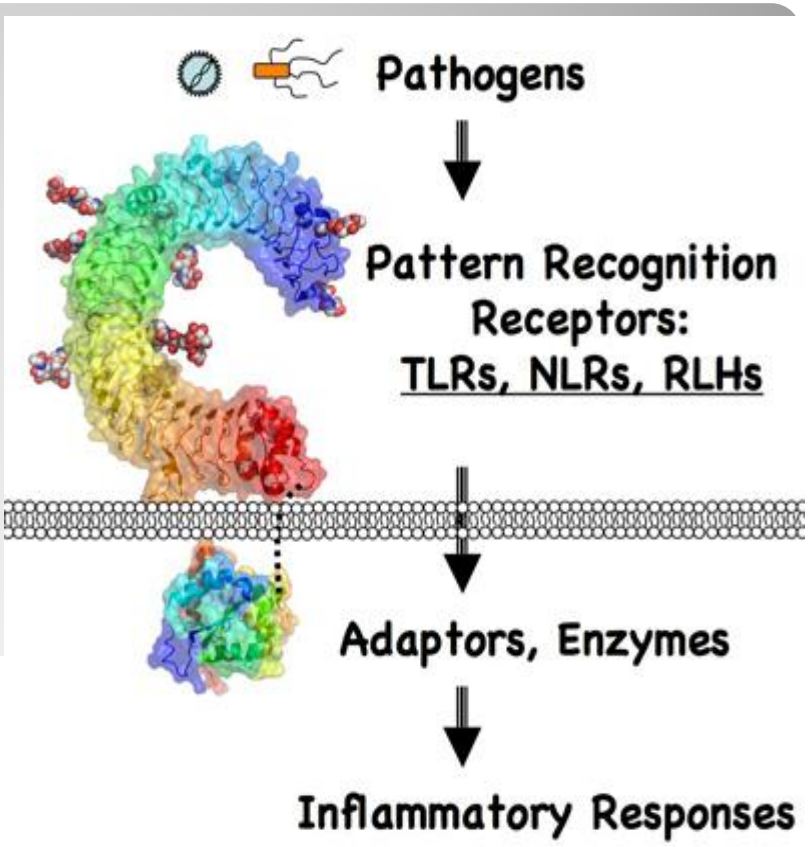
Fisiología de la RI: Inmunidad Innata



Nature Reviews | Immunology



Lisbeth Berrueta, IDIC-ULA 2012

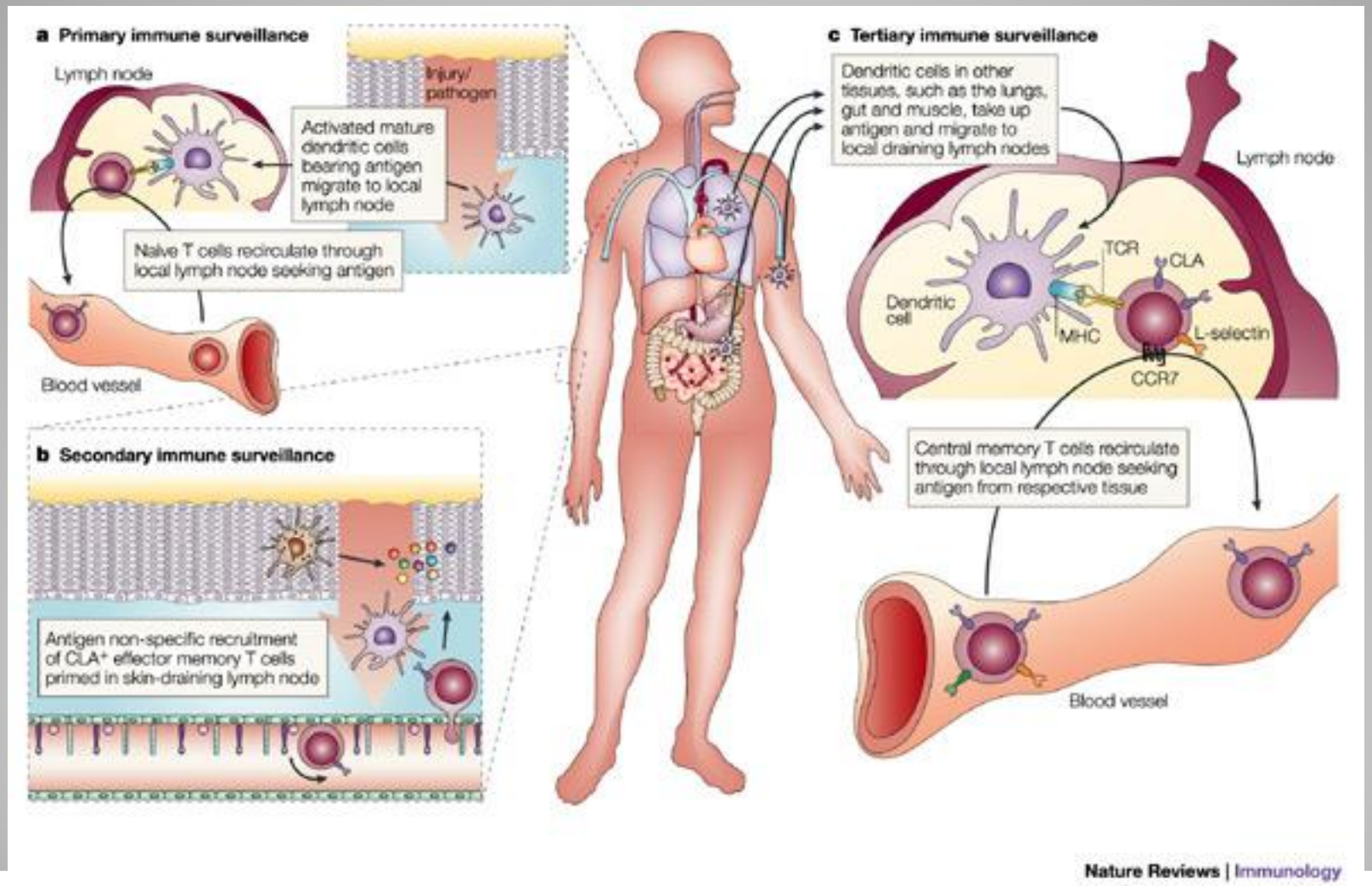
Bruce Beutler

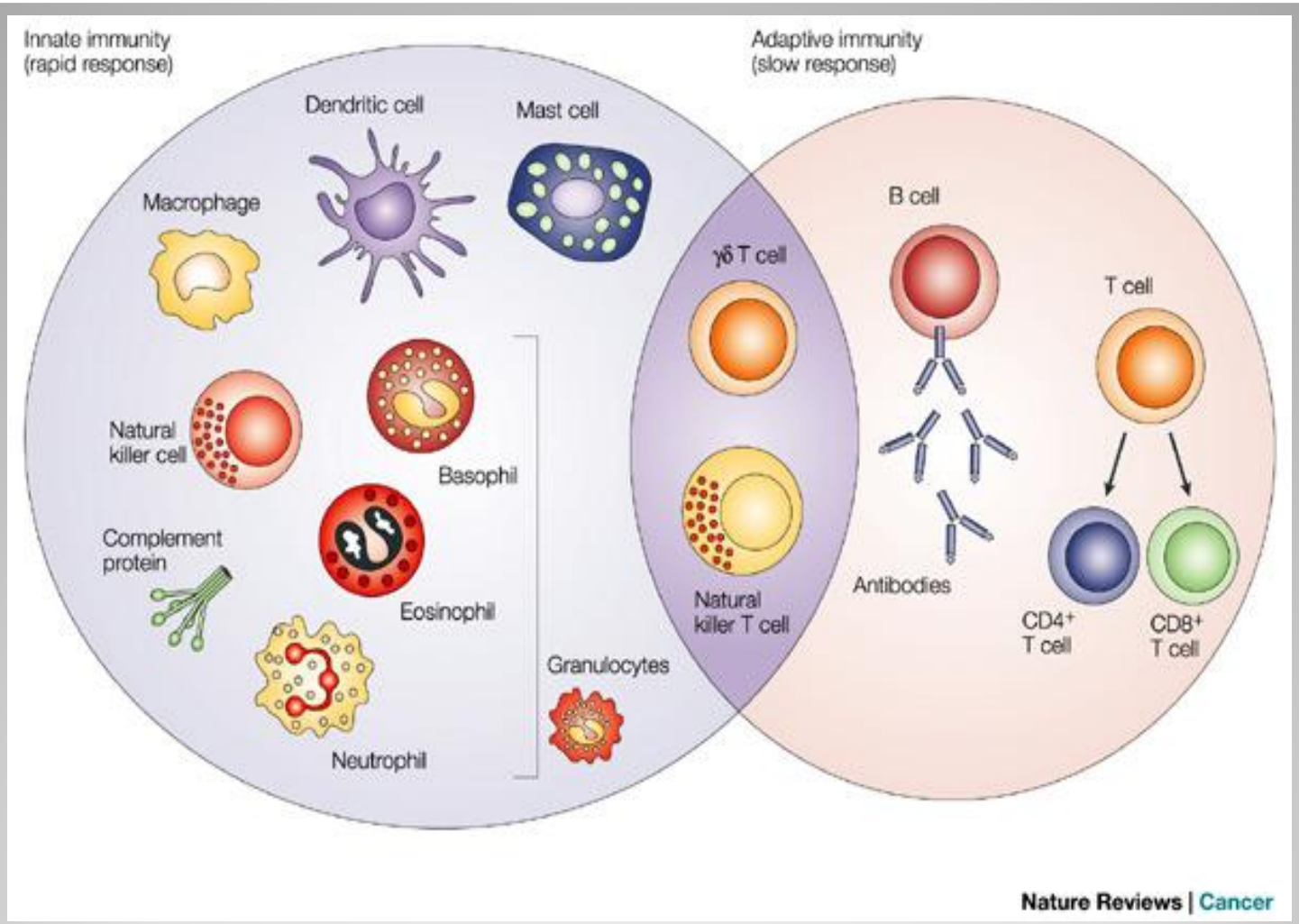
Jules Hoffmann

Ralph Steinman

Premio Nobel en Fisiologia y Medicina 2011

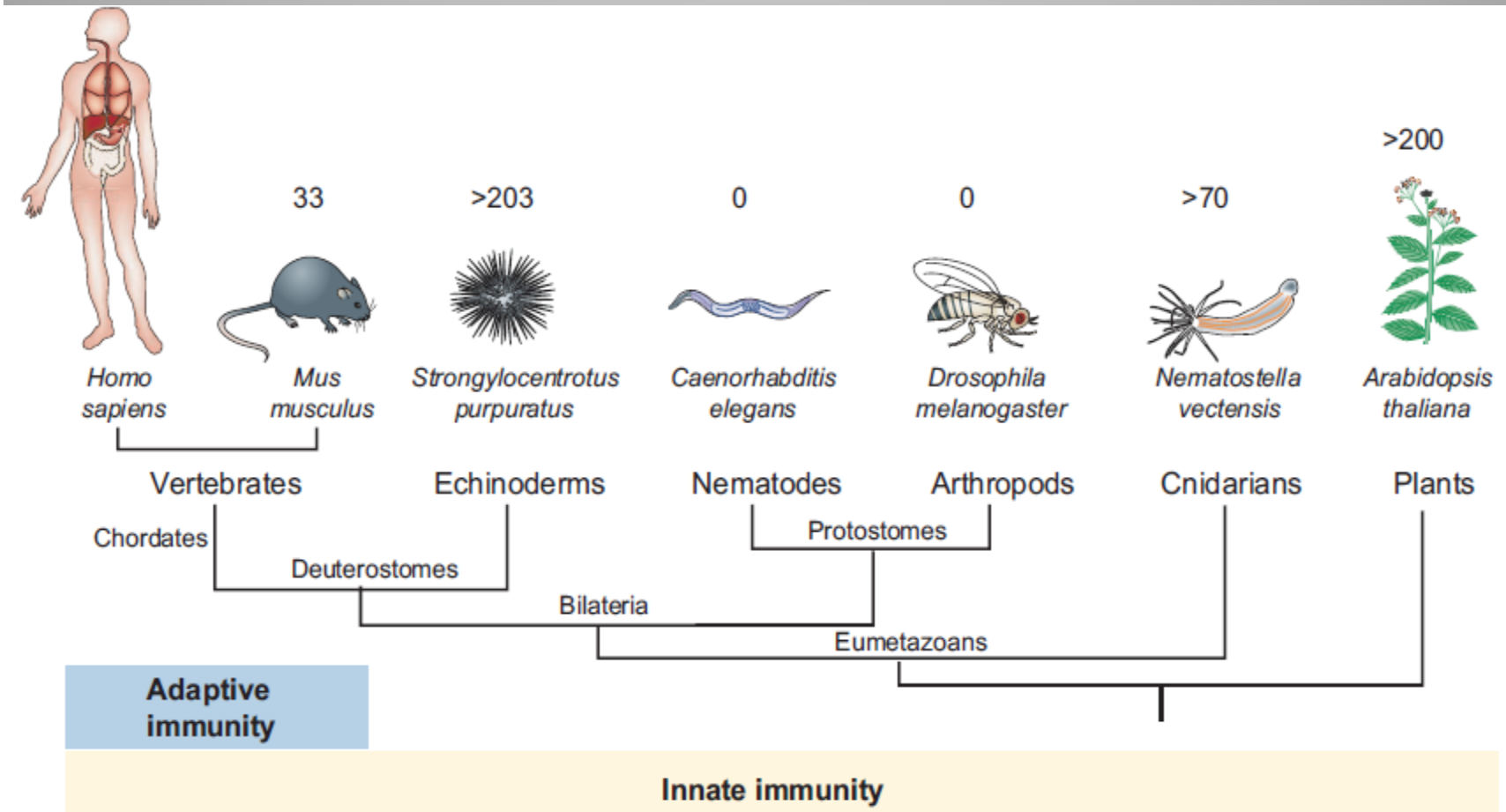
Sistemas de vigilancia Inmune





Tipos de respuesta inmune

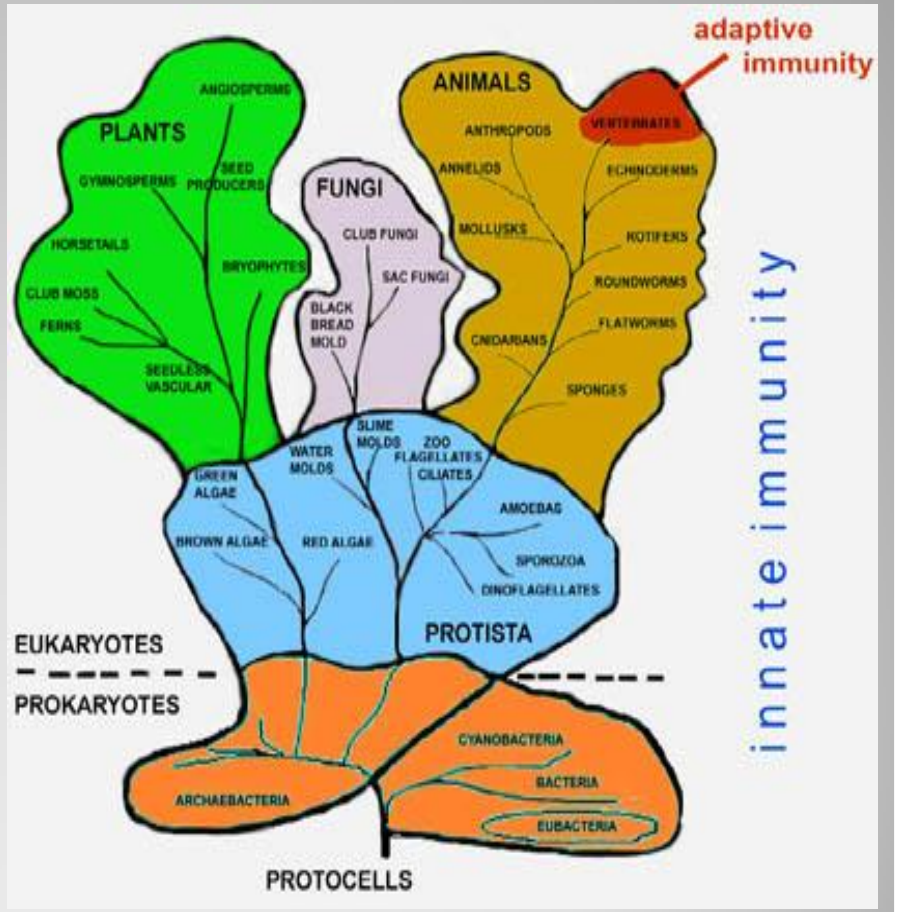
Immunological Reviews 2011
Vol. 243: 235–246



Evolución de sistema inmune

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

- Sistema muy conservado y evolucionado presente en todos los organismos
- Respuesta inflamatoria iniciada por polimorfonucleares, macrófagos, via receptores: PAMPs (LPS y CpG de ADN bacteriano), DAMPS (patrones endógenos en respuesta a daño tisular)
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales



Sistema inmune innato

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 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
Nat Rev Immunol. 2010 December ; 10(12): 826–837. doi:10.1038/nri2873

Reconocimiento inmune innato

- Basado en el reconocimiento de productos constitutivos conservados mediante receptores (PRR)
- 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
- Inflamación estéril en respuesta a daño endógeno (DAMPS): Producción de TNF, IL-1, reclutamiento de neutrófilos y macrófagos

Receptores de la inmunidad Innata

- Receptores Toll (Toll-like receptors ,TLRs: proteinas transmembrana localizadas en la superficie celular o en endosomas
- Receptores NOD (NOD-like receptors, NLRs): Localizados en el citoplasma;
- Receptores RIG (RIG-I-like receptors RLRs): localización intracelular y participan en infecciones virales
- Lectinas Tipo C (C-type lectin receptors CLRs) y receptores scavenger: Receptores transmembrana que presentan dominios de unión de carbohidratos.
- Receptores AIM2 (absence in melanoma 2 AIM2)-like receptors): Presencia de dominio pirina y dominio HIN de unión al ADN bacteriano

Nat Rev Immunol. 2010 December ; 10(12): 826–837.
doi:10.1038/nri2873

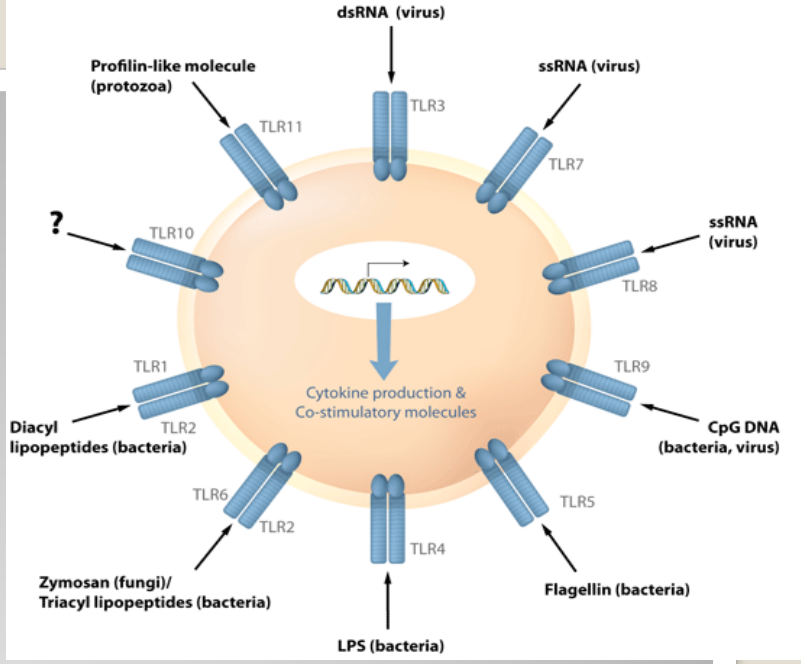
- Funciones de activación de la cascada del complemento y fagocitosis. Iniciación de cascada de señalización que conduce a activación de la inmunidad innata
- Inicio y Activación de una respuesta inflamatoria
- Activación de inmunidad adaptativa
- Control mediante la participación de moléculas co-estimuladoras, citocinas y quimiocinas (células dendríticas)

Receptores de la inmunidad Innata

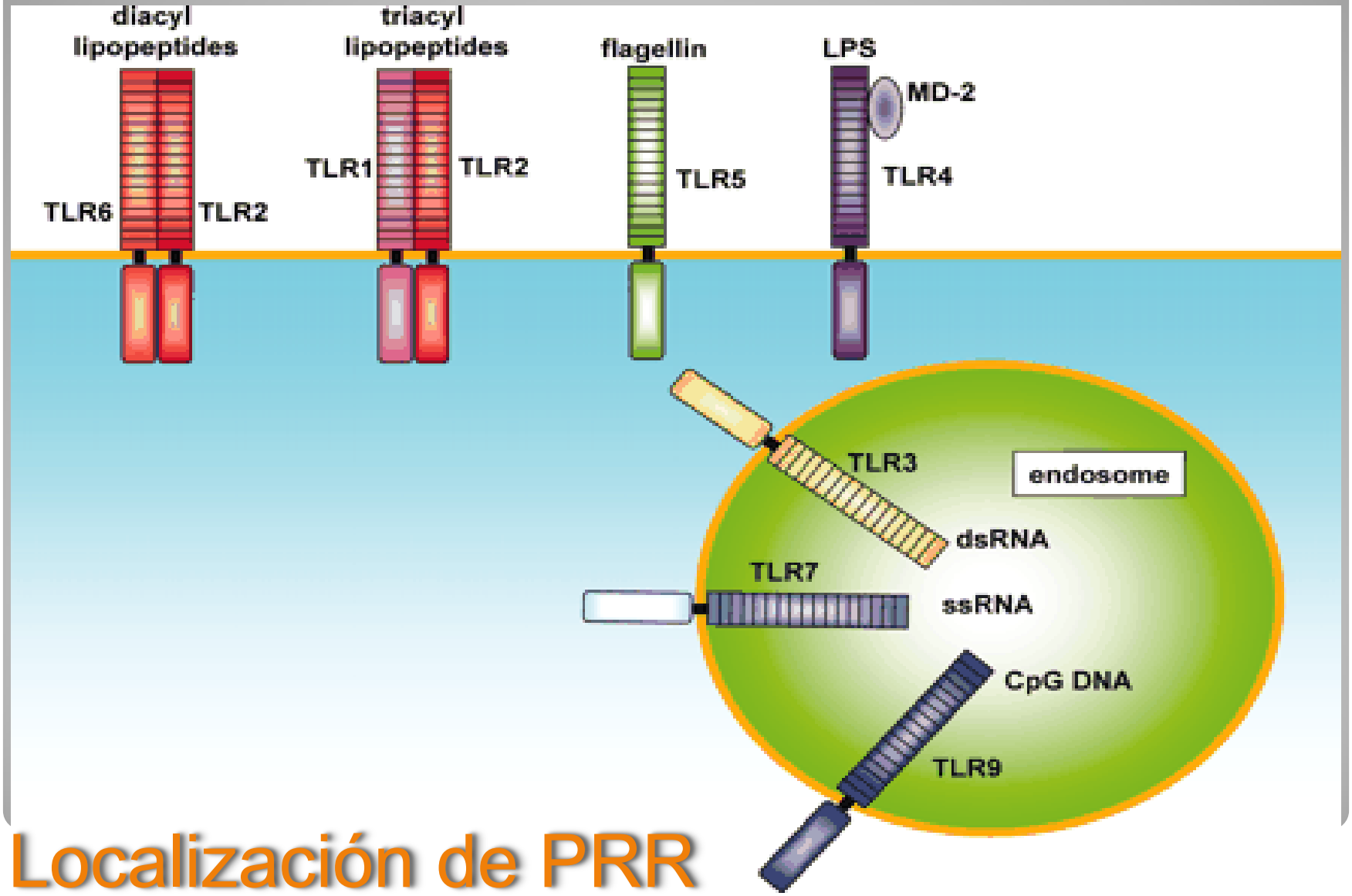
Akira Shizuo. Curr Opin Immunol, 2003, 15:5-11.
Pasare C. And Medzhitov R. Curr OpinImmunol, 2003, 15:1-6.
Goldstein DR. Curr Opin Immunol. 2004)
Takeda K and Akira S. International Immunol. 2005. 17:1, 1-14
Beutler B. Blood 2009

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



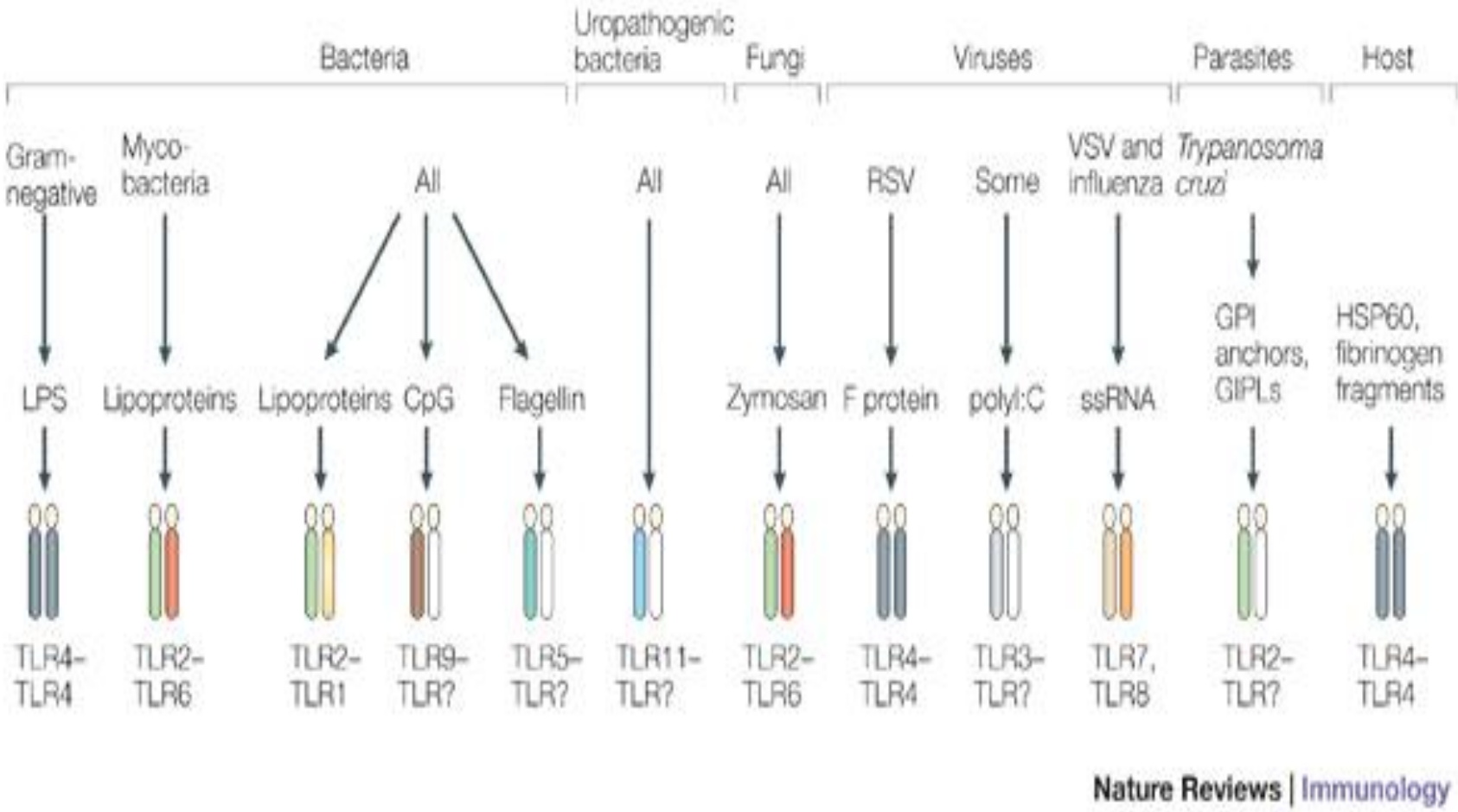
Takeda K and Akira S. International Immunol. 2005. 17:1, 1-14



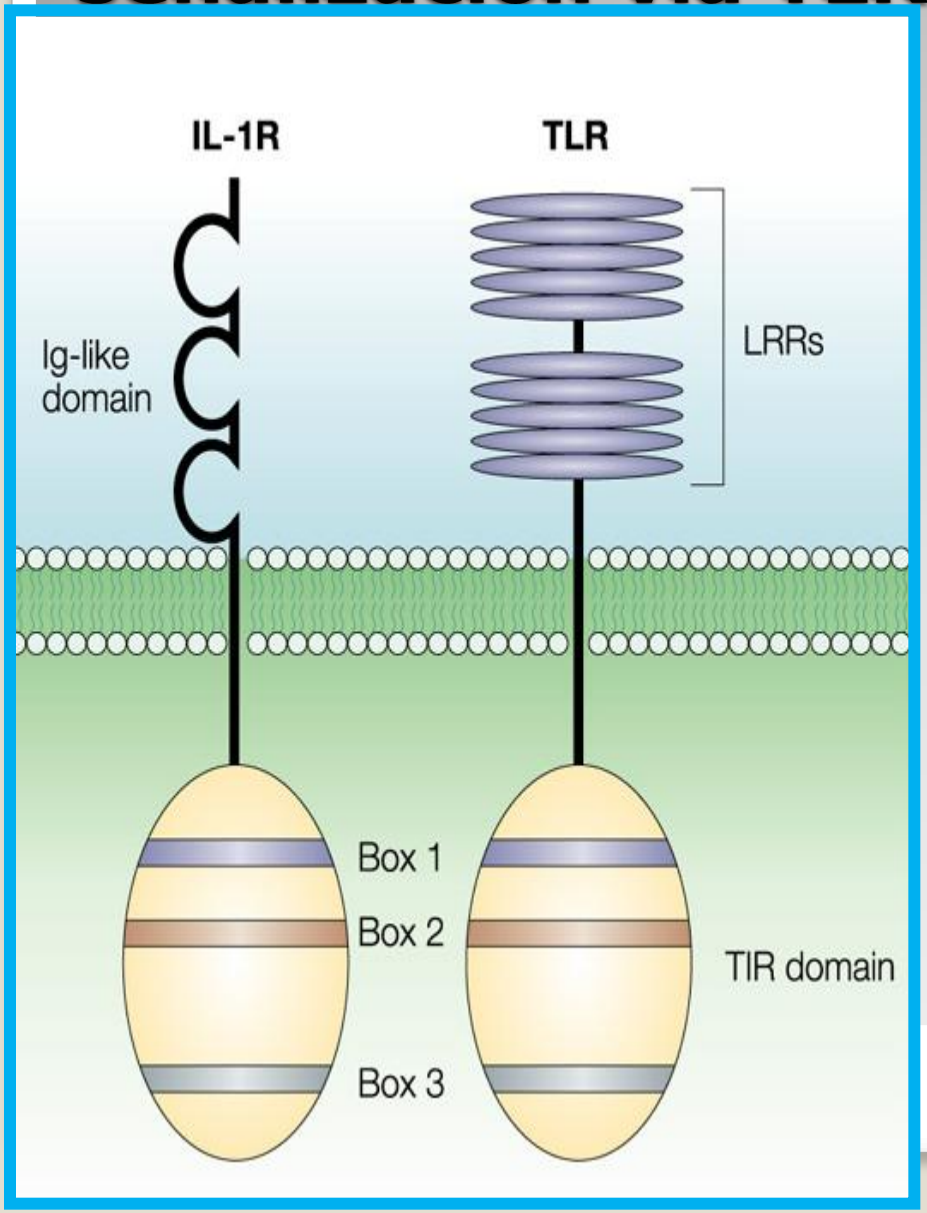
Localización de PRR

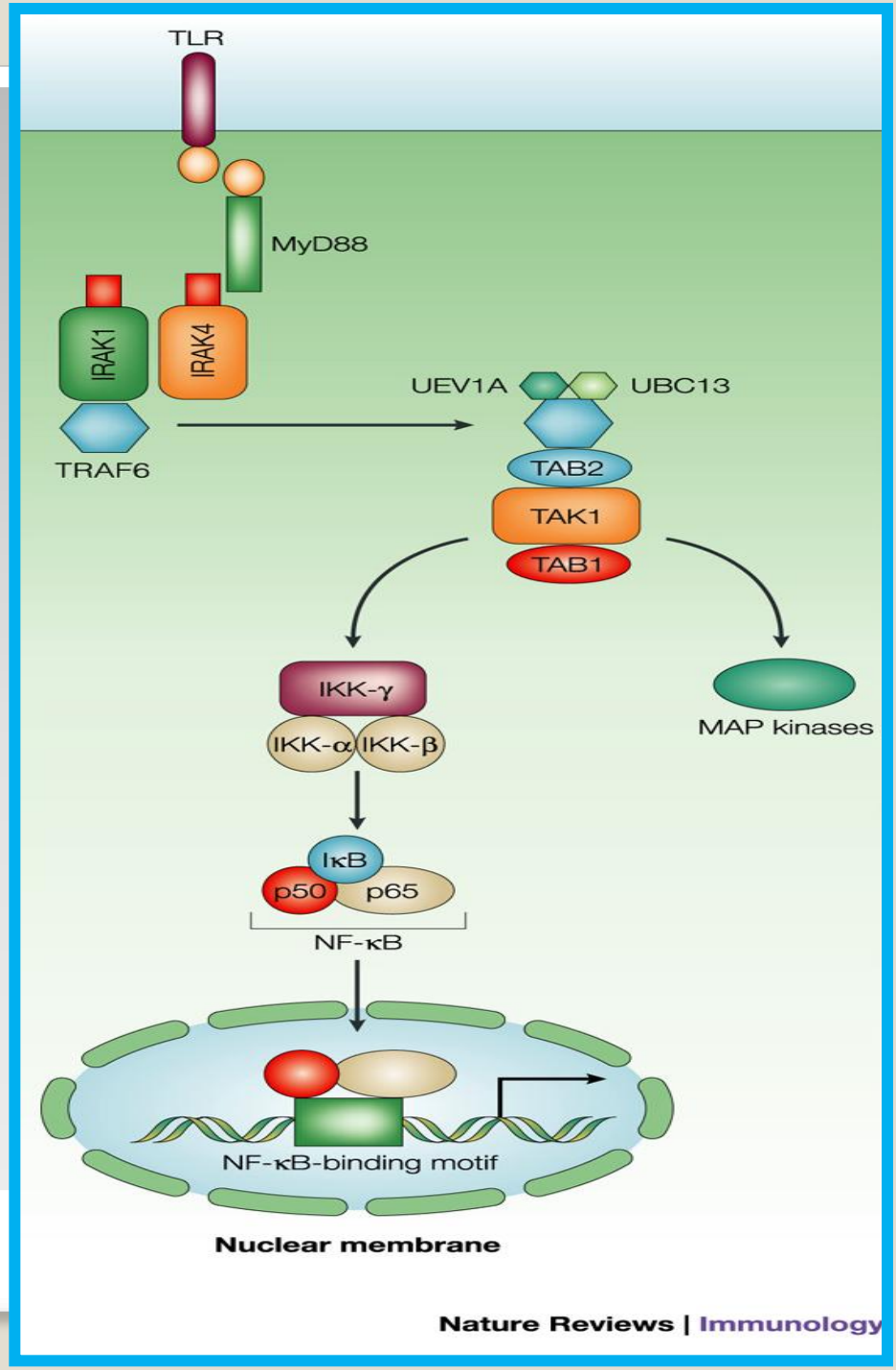
Liew F, et al Nature Review Immunol, 5: 2005

Especificidad de los receptores Toll



Estructura y señalización vía TLR





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

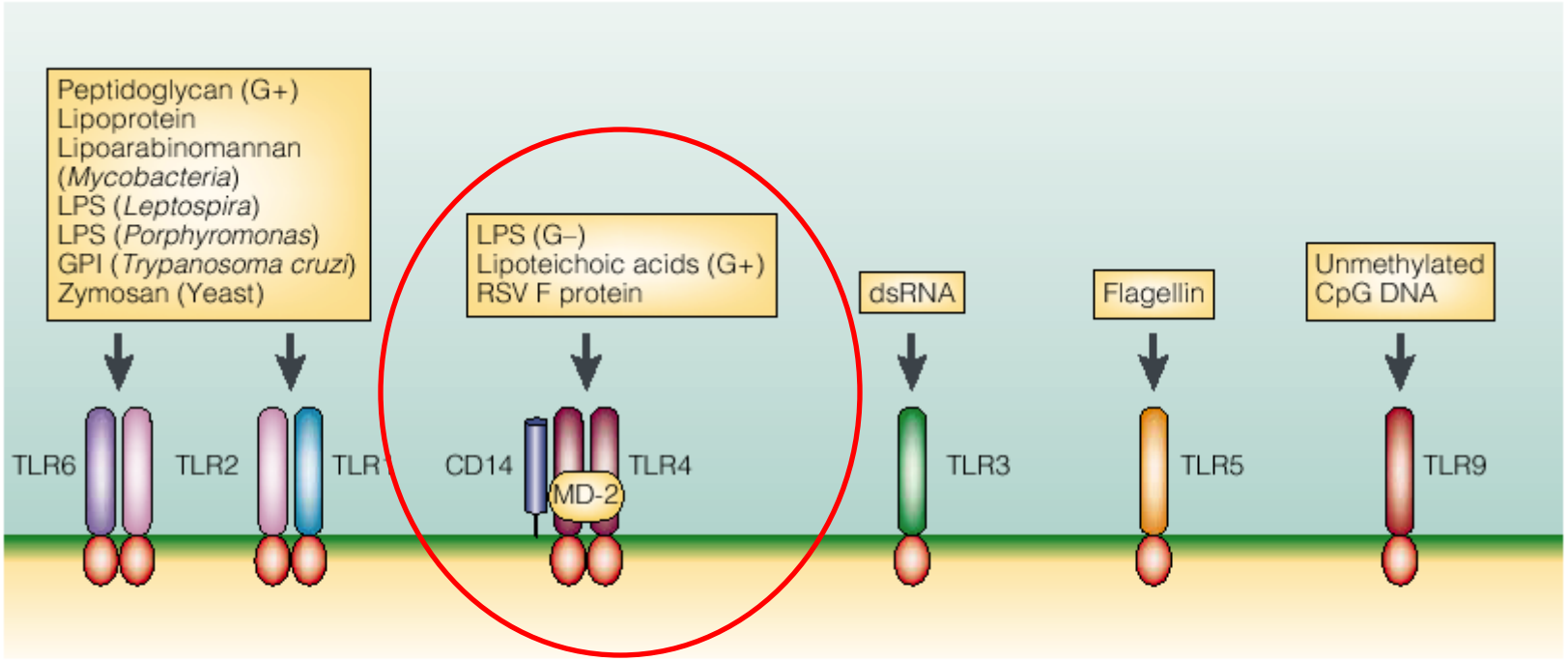


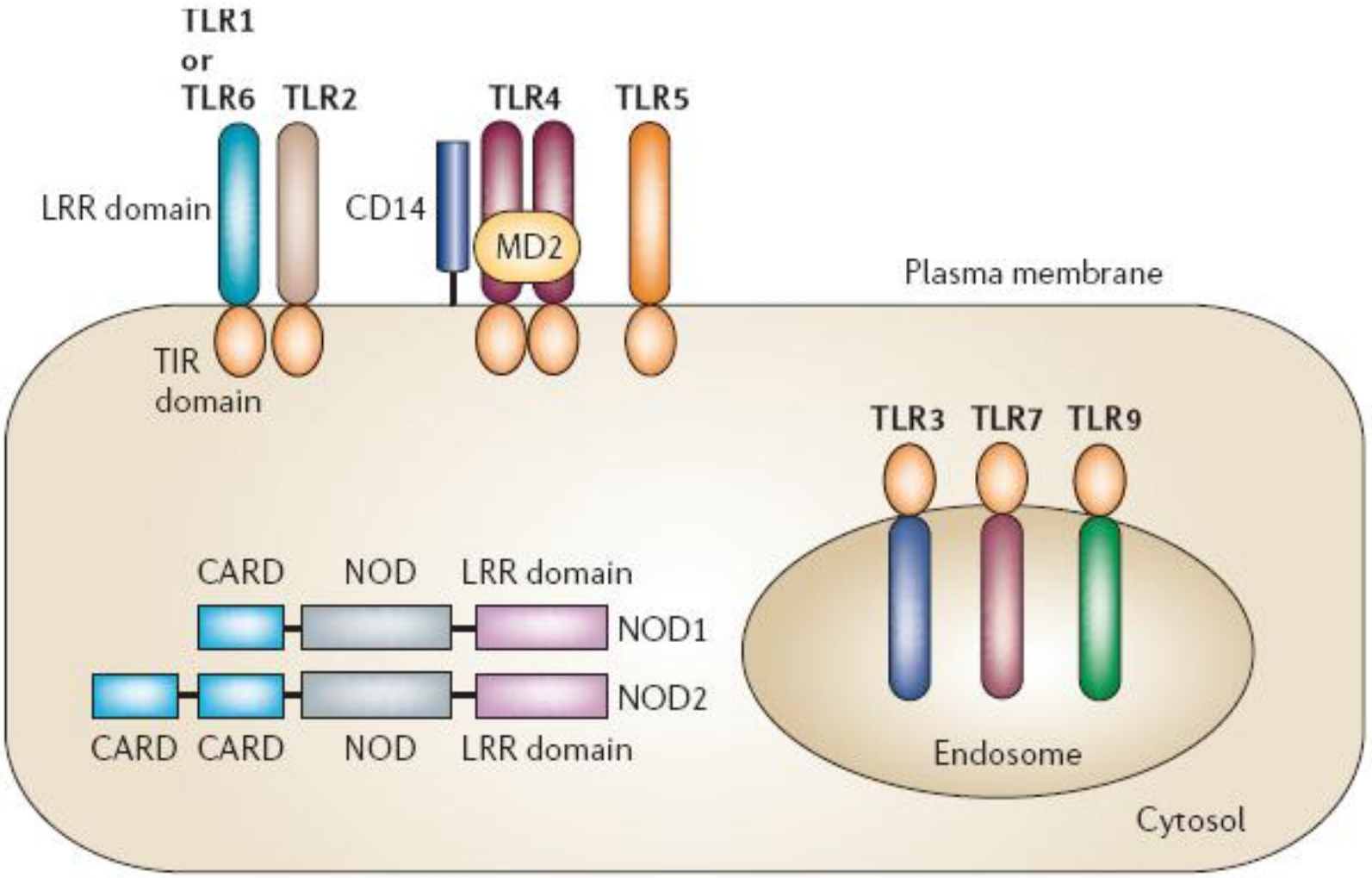
Figure 3 | **Ligand specificities of TLRs.** Toll-like receptors (TLRs) recognize a variety of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Recognition of lipopolysaccharide (LPS) by TLR4 is aided by two accessory proteins: CD14 and MD-2. TLR2 recognizes a broad range of structurally unrelated ligands 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

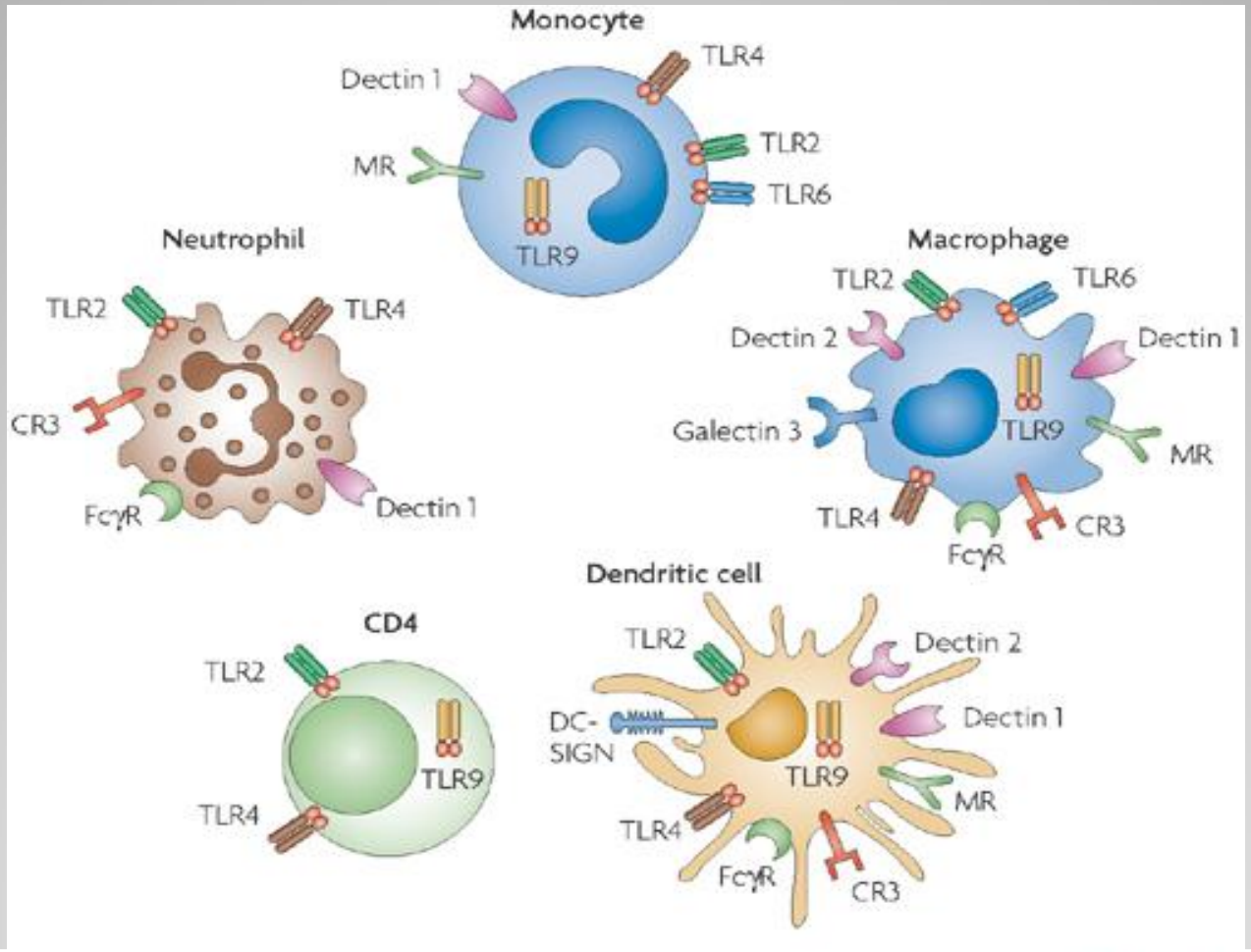
- **TLR2**
  Reconoce, peptidoglicano de las bacterias gram+, zimosan, glicofosfatidilinositol de *T. Cruzi*. Reconoce LPS atípico proveniente de leptospira. Cooperación con TLR1 y TLR6
- **TLR5**
  La flagelina es un poderoso inflamatorio cuya señal está mediada por TLR5. Es expresado en la cara basolateral 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

Estructura y localización celular de TLRs y NOD



Warren Strober*, Peter J. Murray‡, Atsushi Kitani* and Tomohiro Watanabe, volumen 6, Enero 2006

Expresion de PRR en células del sistema inmune



Nature Reviews | Microbiology

Sensores para la inmunidad innata en el TGI

Table 1: Pattern recognition receptor activating ligands from *Salmonella spp.* and *Helicobacter pylori*.

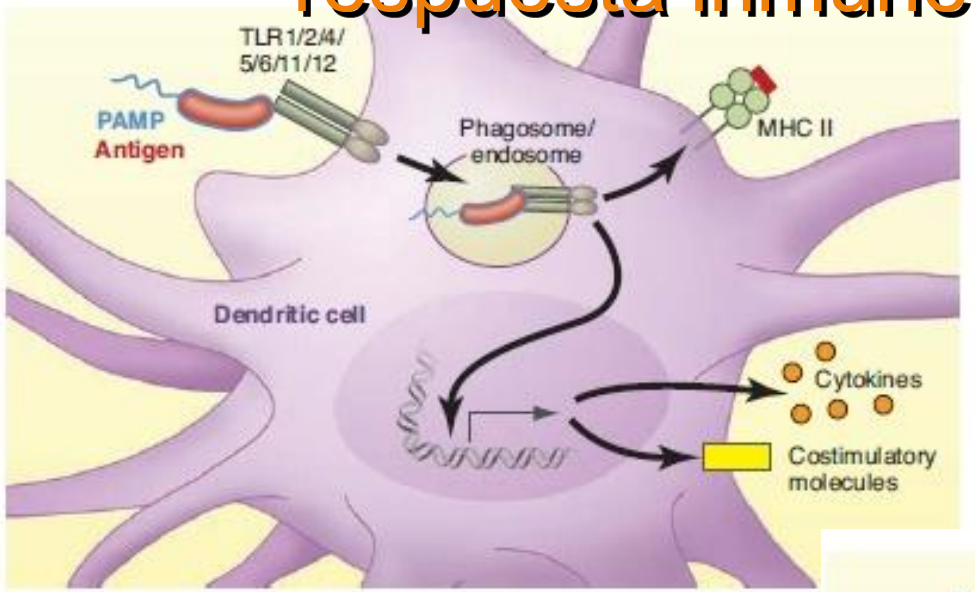
PRR	*Salmonella spp.* ligand	*Helicobacter pylori* ligand
TLR1/2/6	Lipoproteins	Membrane protein HpaA
TLR4	Lipopolysaccharide (LPS)	Tetra-acylated LPS (poorly immunogenic) Hexa-acylated LPS
TLR5	Flagellin (FliC)	Flagellin (very poor stimulator)
TLR9	CpG rich repetitive elements in *Salmonella* DNA	Bacterial nucleic acid
NLRC4	Flagellin (FliC), T3SS protein PrgJ	?
NOD1	Peptidoglycan	Peptidoglycan

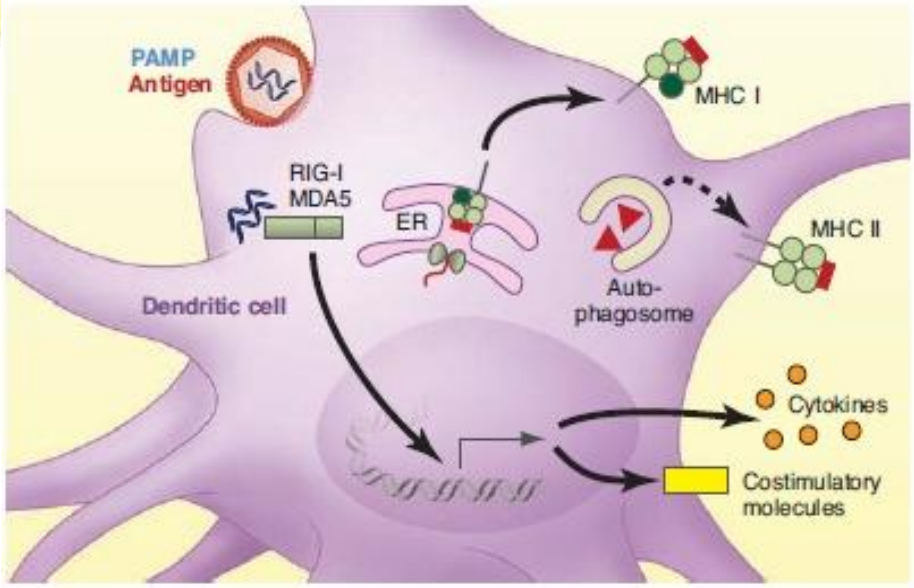
Table 2: TLR expression within the gastrointestinal tract. (Adapted from Fukata and Abreu 2008 and Gribar et al. 2008) [11, 19].

TLR	Stomach	Small intestine	Large intestine
1	Not detected	RNA	RNA
2	RNA	RNA/protein	RNA/protein
3	Not detected	RNA/protein	RNA/protein
4	RNA/protein	RNA/protein	RNA/protein
5	RNA/protein	RNA/protein	RNA/protein
6	Not detected	Not detected	RNA
7	Not detected	Not detected	RNA
8	Not detected	Not detected	RNA
9	RNA/protein	RNA/protein	RNA
10	Not detected	Not detected	Absent
11	Not detected	Not detected	Not detected

Clinical and Developmental Immunology
Volume 2011, Article ID 579650, 11 pages

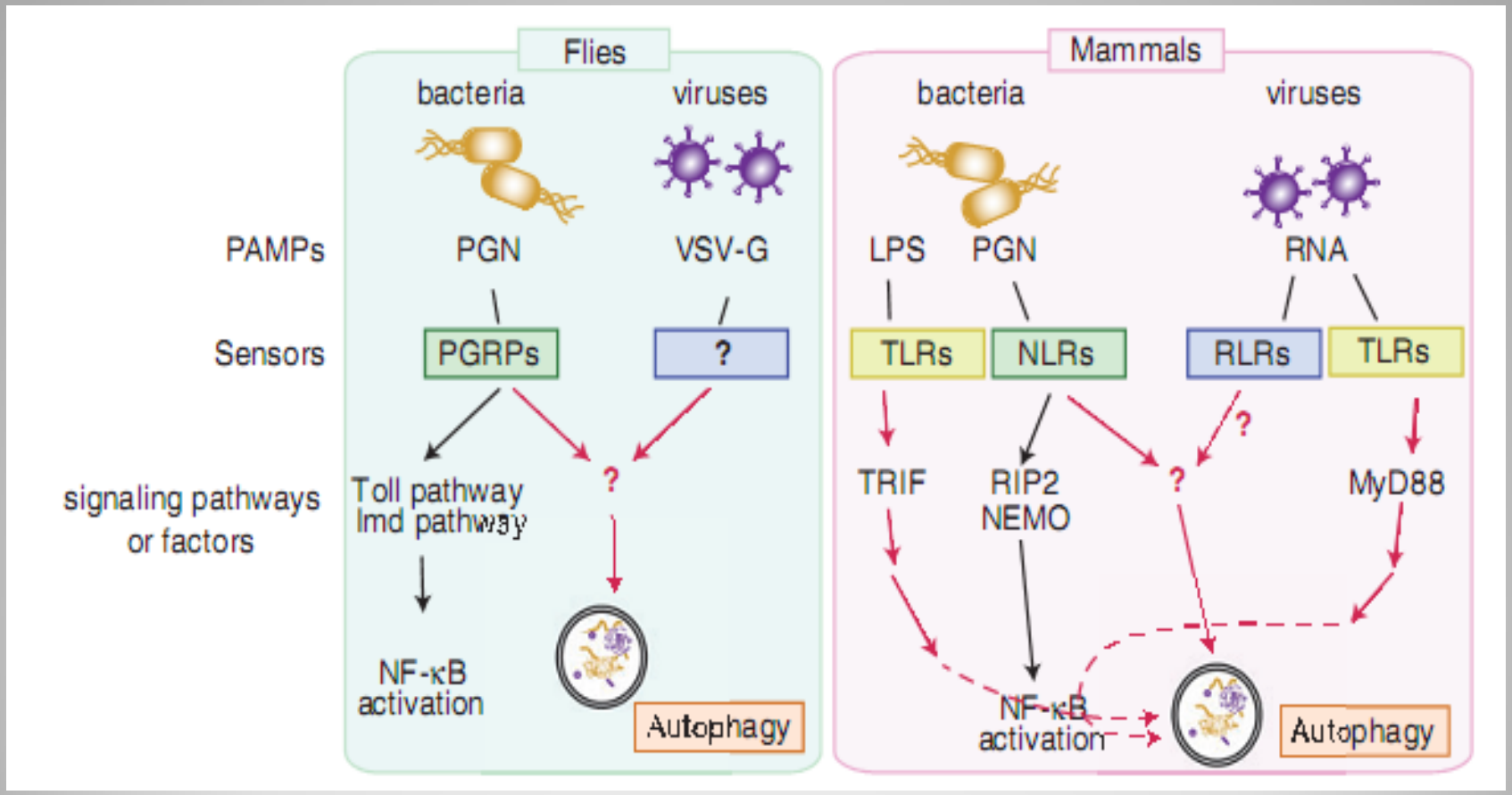
Papel de los receptores Toll en la respuesta inmune adaptativa



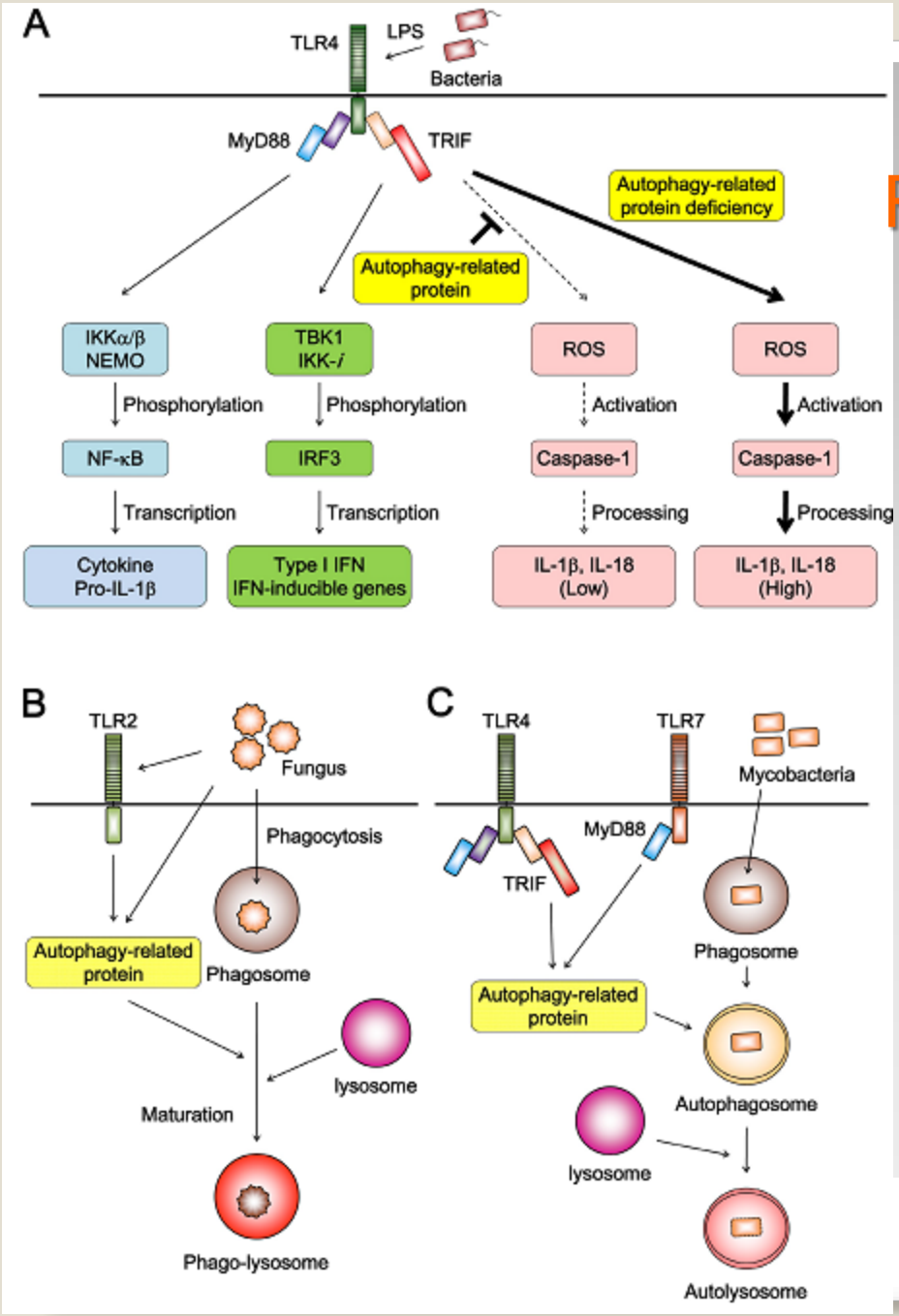


Akiko Iwasaki et al, Science 2010

Autofagia en la respuesta inmune innata



J. Biochem. 2011;150(2):143–149 doi:10.1093/jb/mvr083

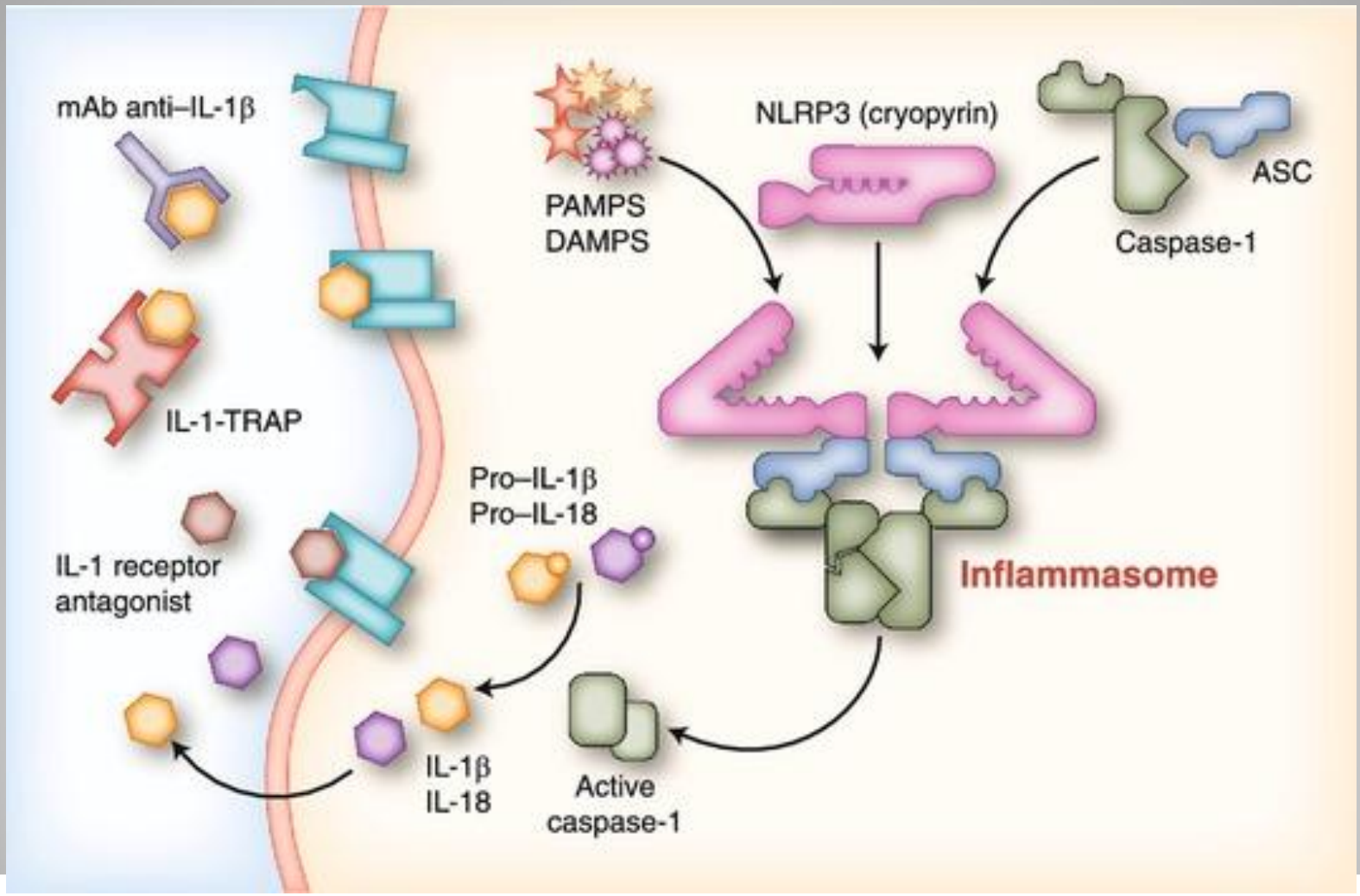


Regulación de la RI innata Por proteínas asociadas A autofagia

J. Biochem. 2011;150(2):143–149 doi:10.1093/jb/mvr083

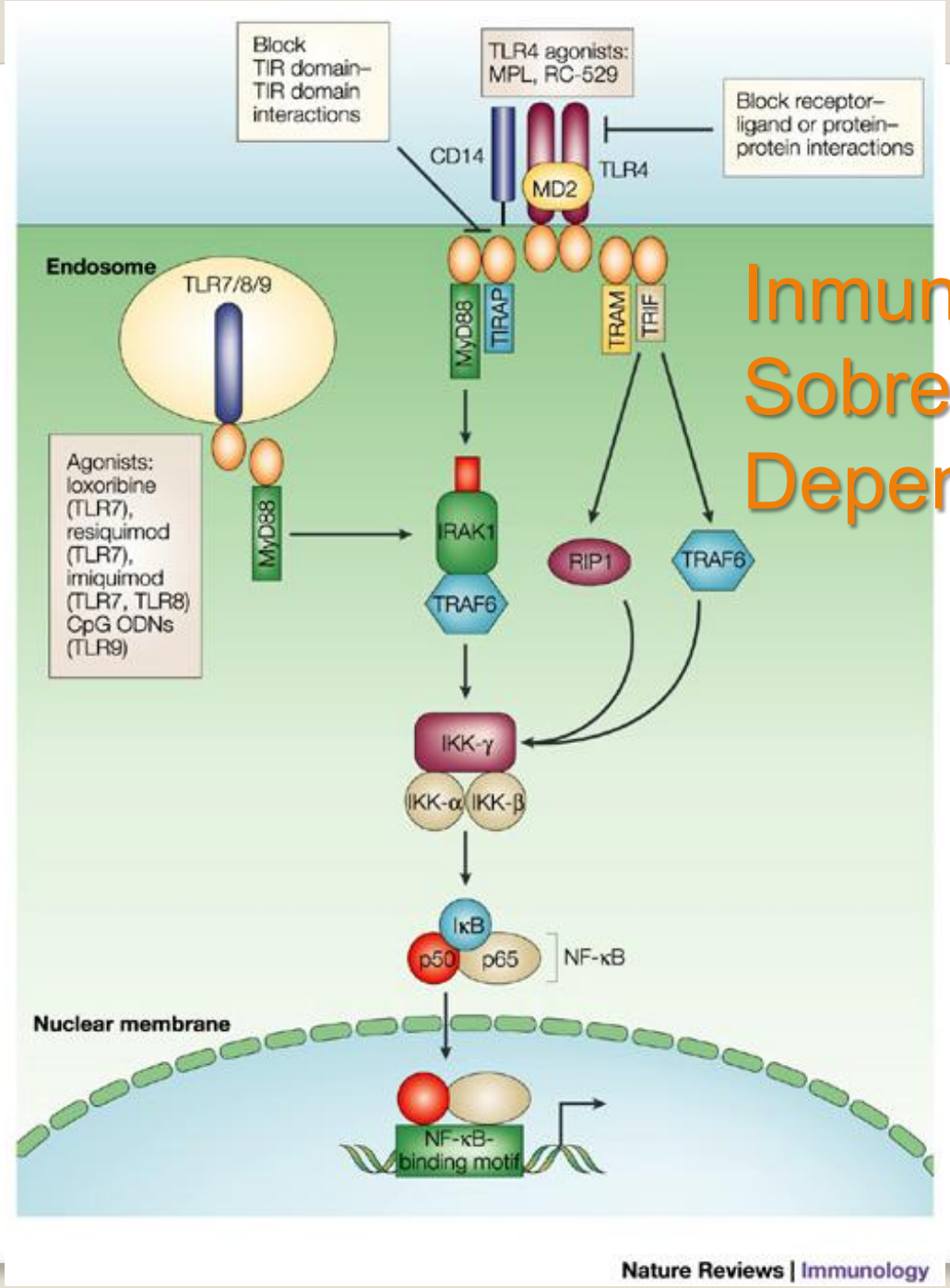
Sterile inflammatory signal	Putative sensor	Associated pathology
Endogenous		
HMGB1	TLR2, TLR4, TLR9, RAGE and CD24	Cellular injury and necrosis
HSPs	TLR2, TLR4, CD91, CD24, CD14 and CD40	Cellular injury and necrosis
S100 proteins	RAGE	Cellular injury and necrosis
SAP130	CLEC4E	Cellular injury and necrosis
RNA	TLR3	Cellular injury and necrosis
DNA	TLR9 and AIM2	Cellular injury and necrosis
Uric acid and MSU crystals	NLRP3	Gout
ATP	NLRP3	Cellular injury and necrosis
Hyaluronan	TLR2, TLR4 and CD44	Cellular injury and necrosis
Biglycan	TLR2 and TLR4	Cellular injury and necrosis
Versican	TLR2	Cellular injury and necrosis
Heparan sulphate	TLR4	Cellular injury and necrosis
Formyl peptides (mitochondrial)	FPR1	Cellular injury and necrosis
DNA (mitochondrial)	TLR9	Cellular injury and necrosis
CPPD crystals	NLRP3	Pseudogout
β-amyloid	NLRP3, CD36 and RAGE	Alzheimer's disease
Cholesterol crystals	NLRP3 and CD36	Atherosclerosis
IL-1α	IL-1R	Cellular injury and necrosis
IL-33	ST2	Cellular injury and necrosis
Exogenous		
Silica	NLRP3	Silicosis and pulmonary interstitial fibrosis
Asbestos	NLRP3	Asbestosis and pulmonary interstitial fibrosis

Inflamación estéril, respuesta al daño endógeno, DAMPS
NLRP· en síndrome autoinflamatorio

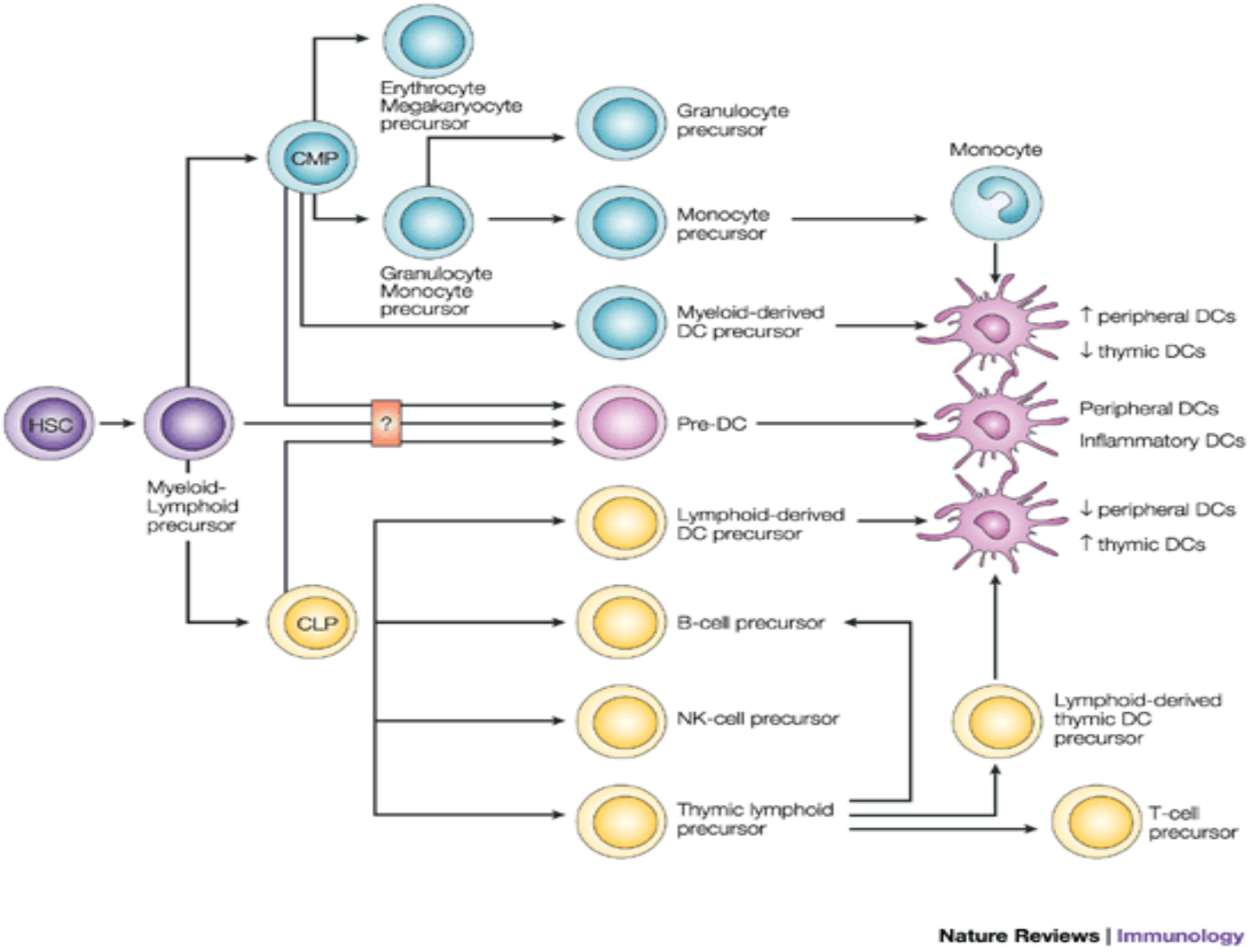


Nat Rev Immunol. 2010 December ; 10(12): 826–837.
doi:10.1038/nri2873

Inmunomodulación Sobre señales Dependientes de TLR



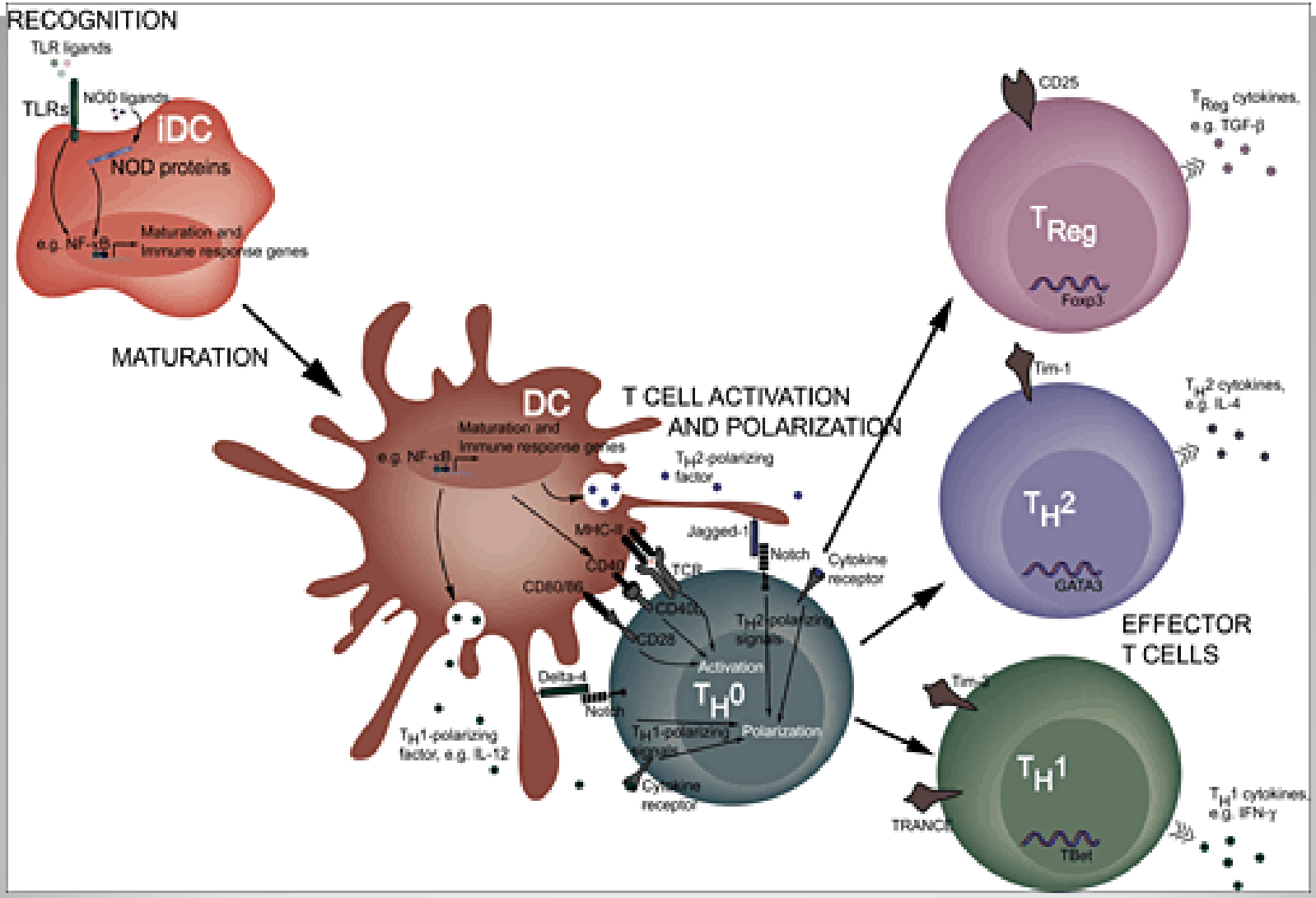
Diferenciación de células dendríticas



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. Th2 differentiation
Lymphoid	$CD11c^{+}CD205^{+}CD11b^{-}$ $CD8^{+}CD4^{-}$	Efficiently cross-present exogenous antigens to $CD8^{+}$ CTL. Favor Th1 differentiation . 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



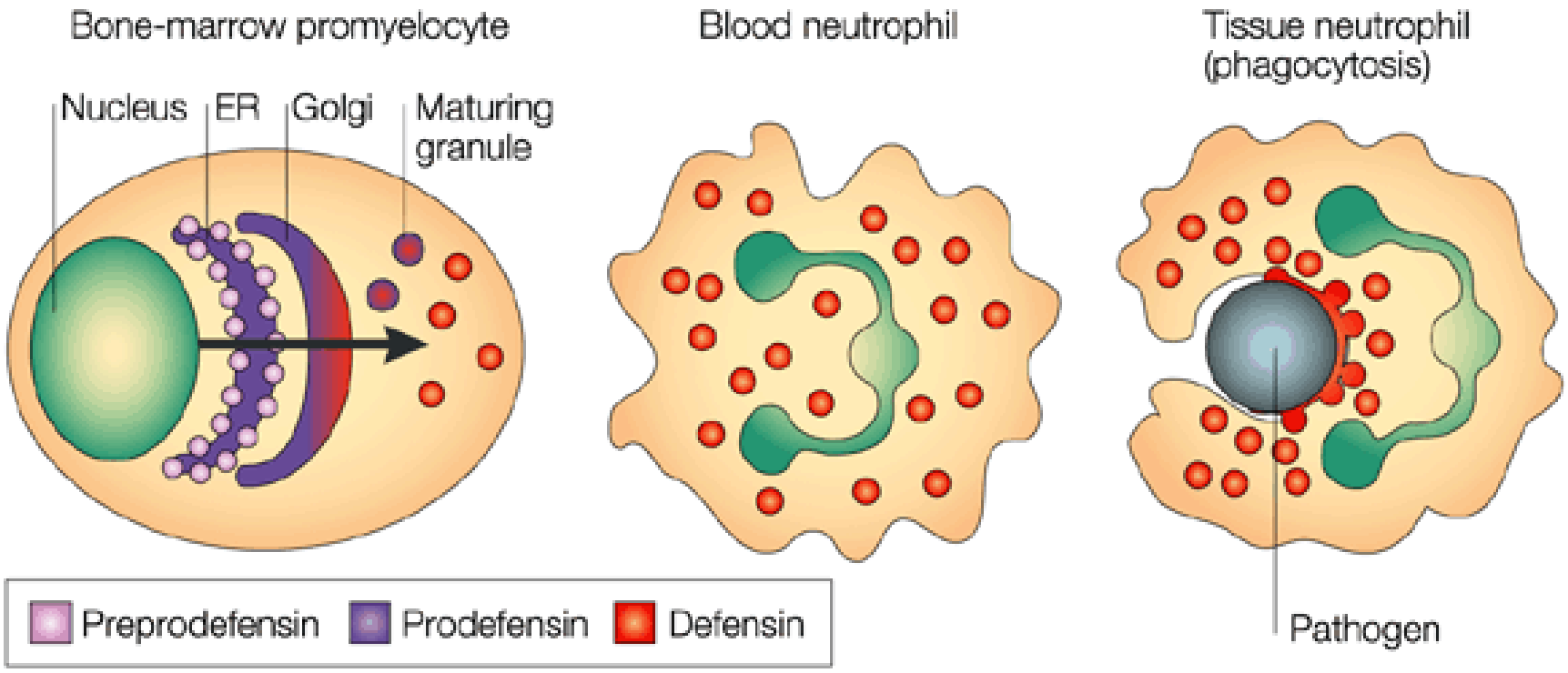
Papel de las células dendríticas en la respuesta inmune

Péptidos antimicrobianos: Las defensinas

- Son polipéptidos de menos de 100 aa con actividad antimicrobiana a concentraciones fisiológicas. Dos miembros principales: defensinas y catelicidinas (LL37)
- α, β, θ defensinas: Hoja plegada beta, estructura de cisteínas con puentes disulfuro
  Distribución: mayor concentración 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.
*Mona Doss, et al.*Volume 87, January 2010 *Journal of Leukocyte Biology*

Síntesis y liberación de defensinas

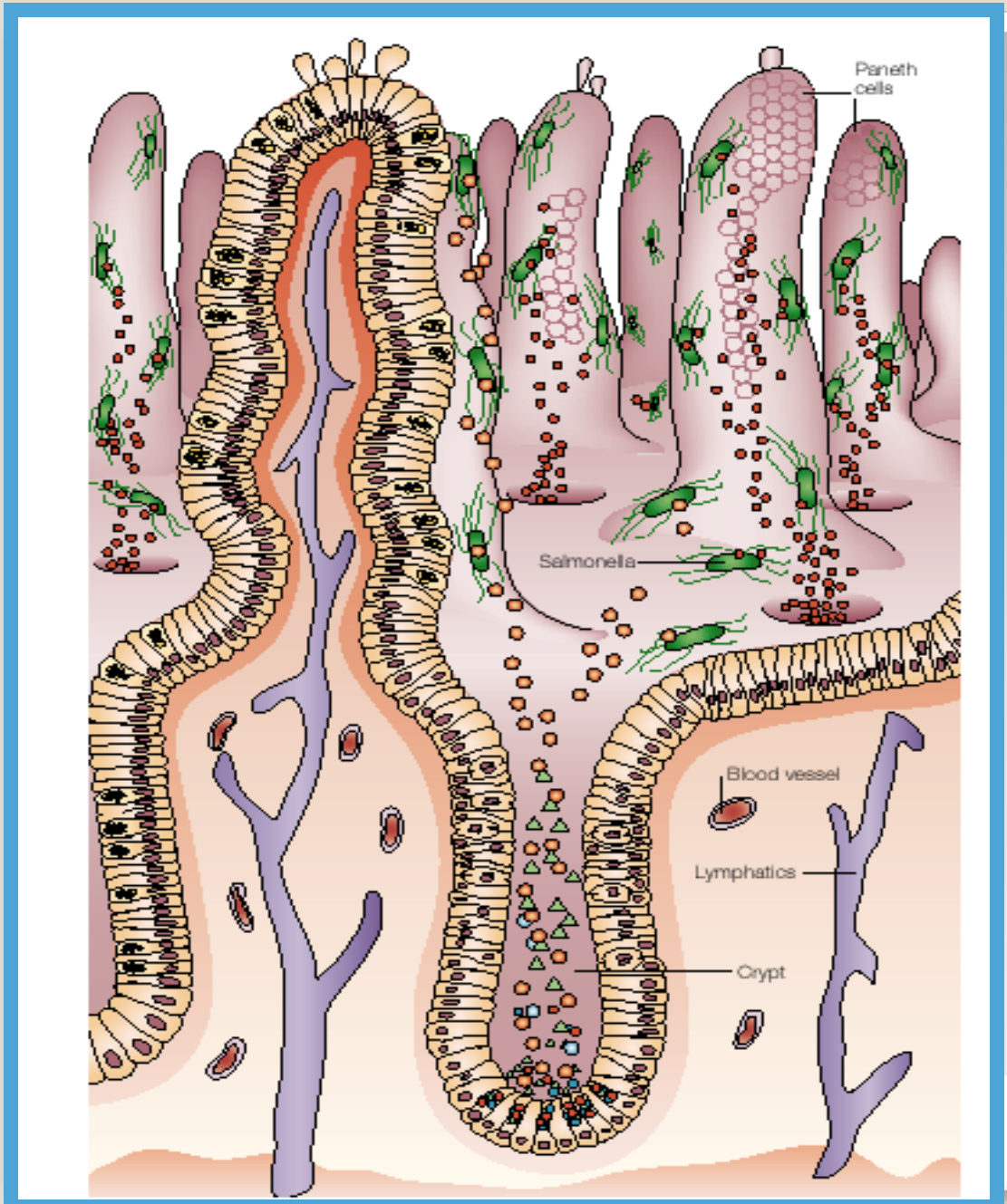


HNP: defensina α, péptido de los neutrófilos humanos

Nature Reviews | Immunology

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

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

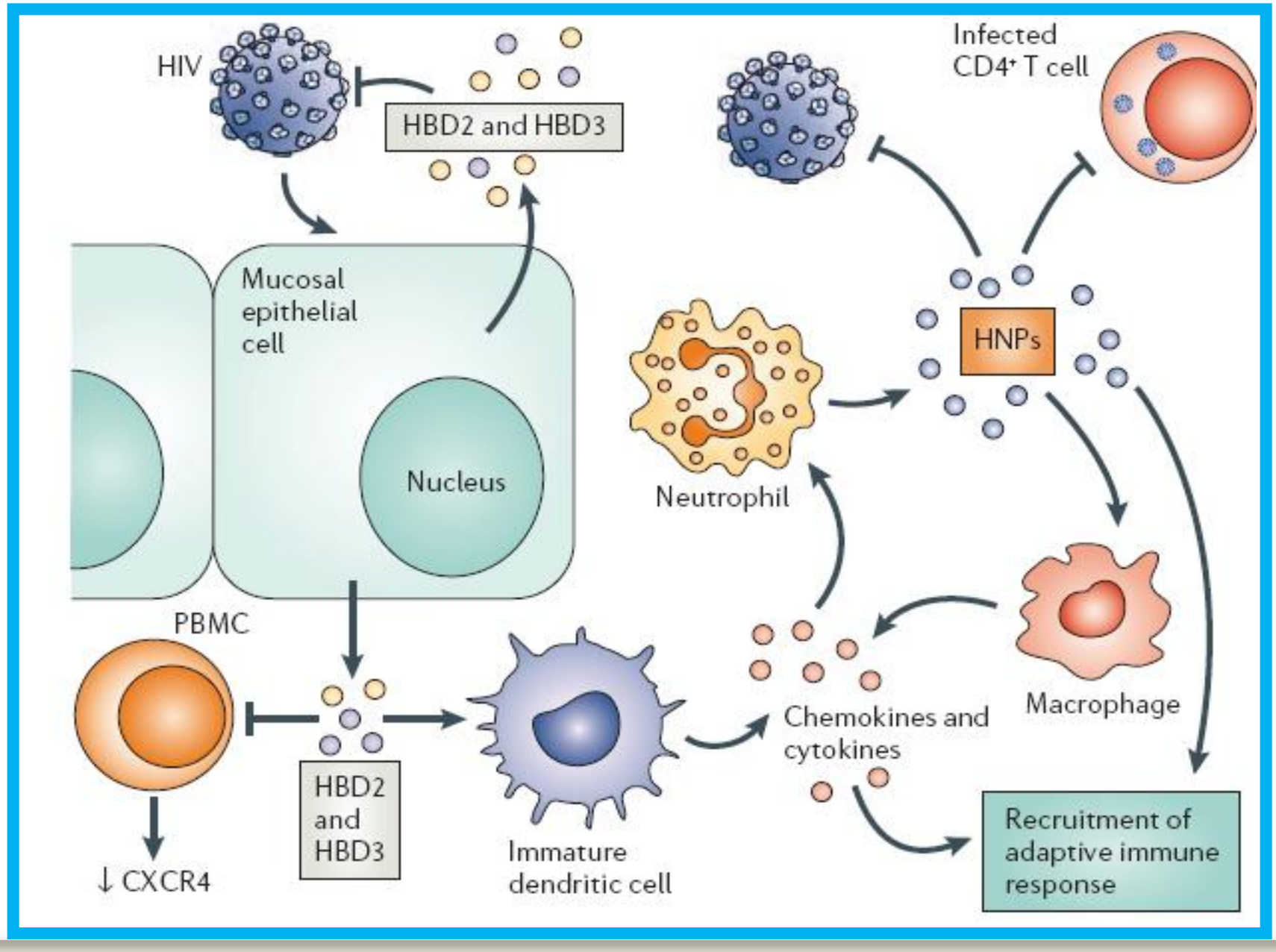


Acción bactericida de las defensinas:

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

Clinical and Developmental Immunology
Volume 2011,ArticleID579650, 11 pages
doi:10.1155/2011/579650

Papel de las defensinas en la infección contra el HIV



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

Receptores Scavenger en Inmunidad Innata

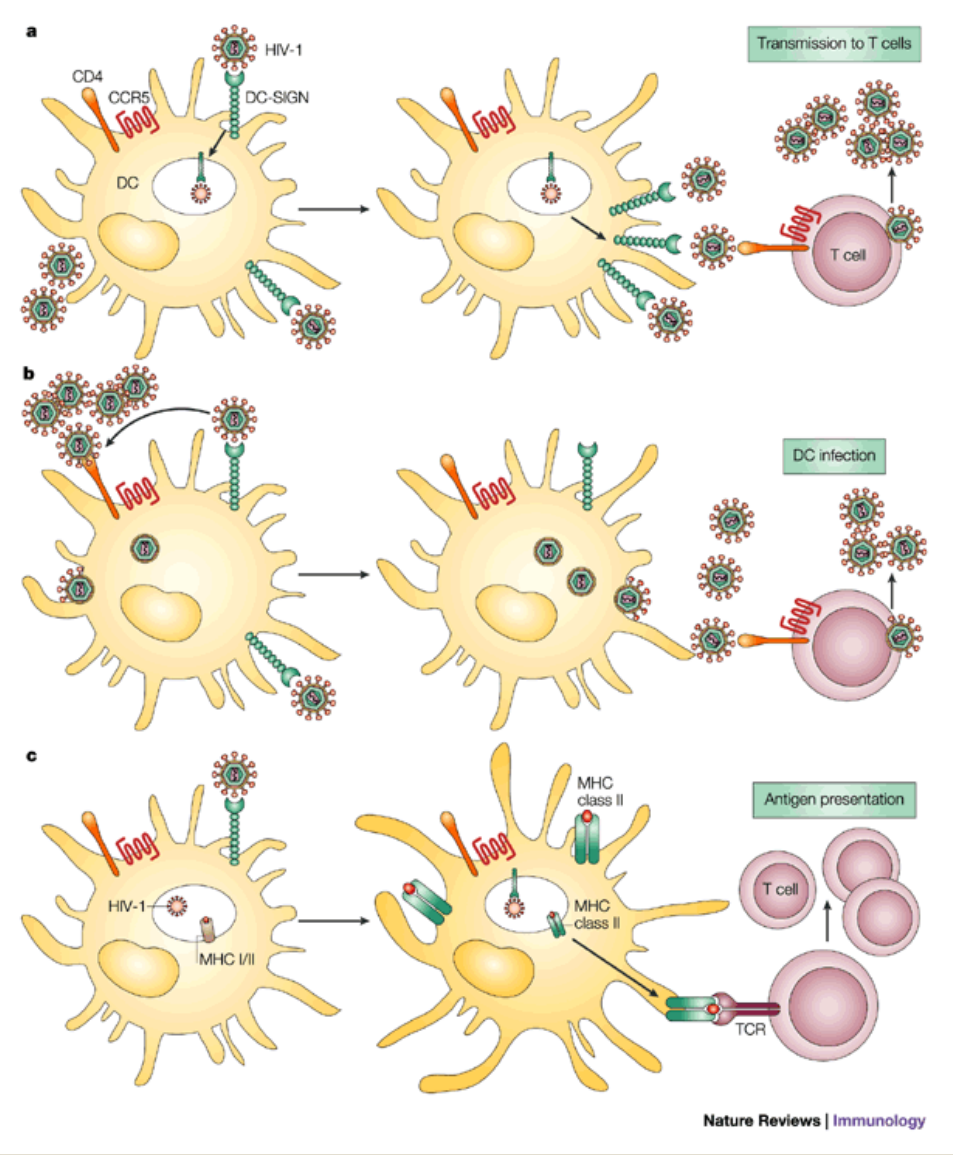
- Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales
- Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)
- Interacciones con bacterias
  - SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).
  - La eliminación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

Receptores 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

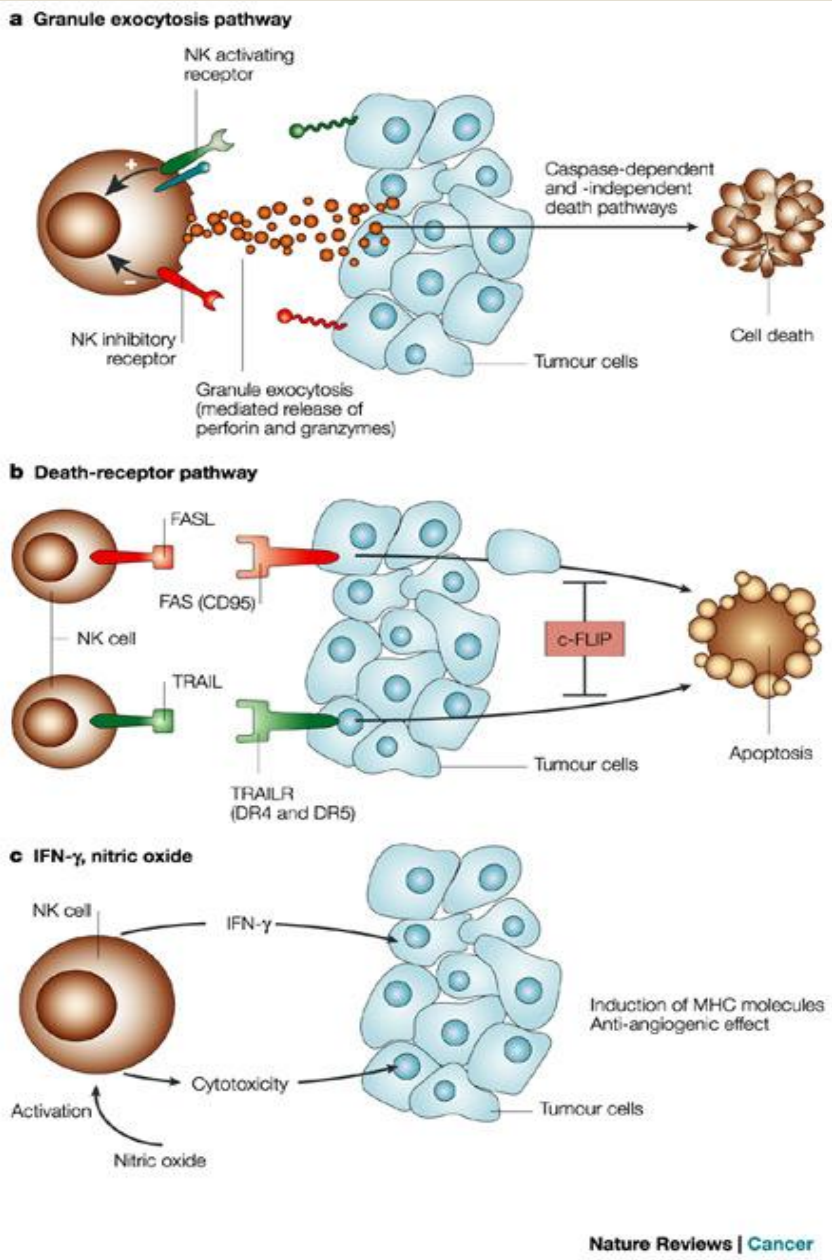
- Familia de receptores unidos a la membrana del tipo lectina: de tipo I (posee varios CRDs) y de tipo II (un solo dominio CRD)
- De tipo I: MMr, DEC 205
- De tipo II: Langerina, DC-Sign, induce proliferación de células T mediada por DC.



Origen y funciones de las células NK

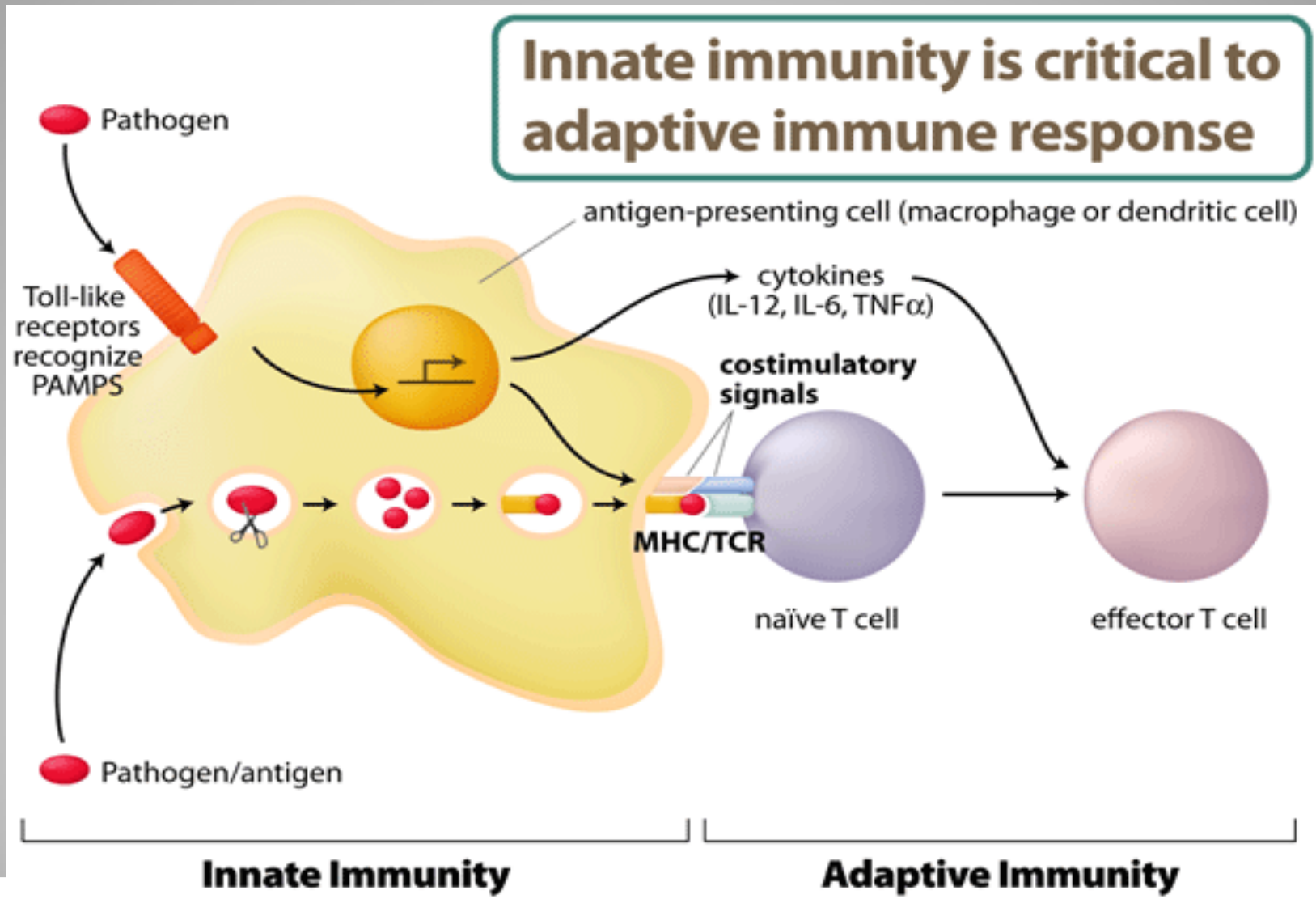
- Representan entre 5-20% de los linfocitos circulantes, 5% de los linfocitos esplénicos
- Expresión de CD56 y CD16, ausencia de CD3
- Producen citokinas: INF-γ, TNF-α, Linfotoxina, IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-13, IL-10, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, entre otras.
- Deficiencia de NK, infecciones virales severas
-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

Lisis mediada por NK



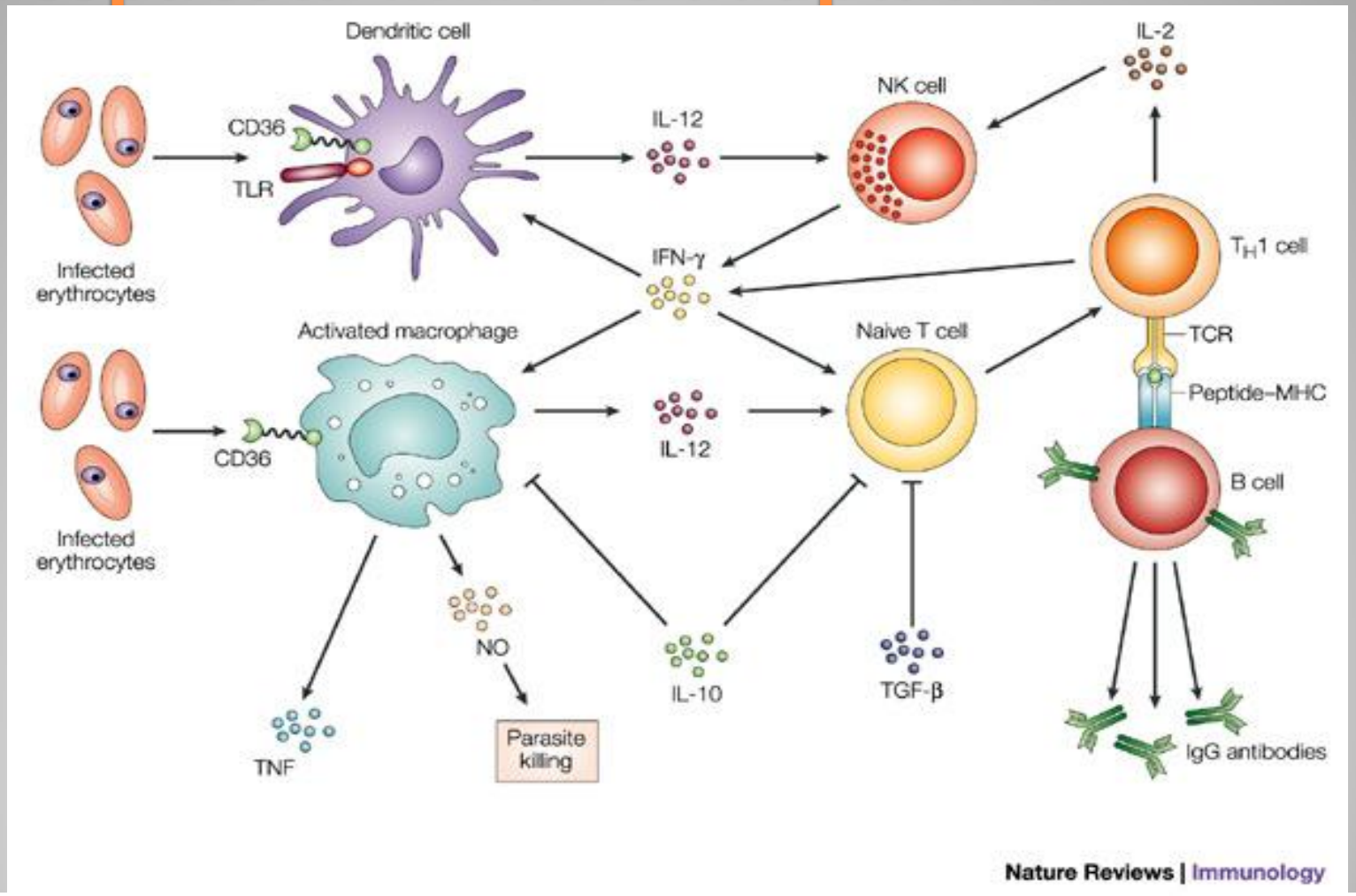
Citotoxicidad

- 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

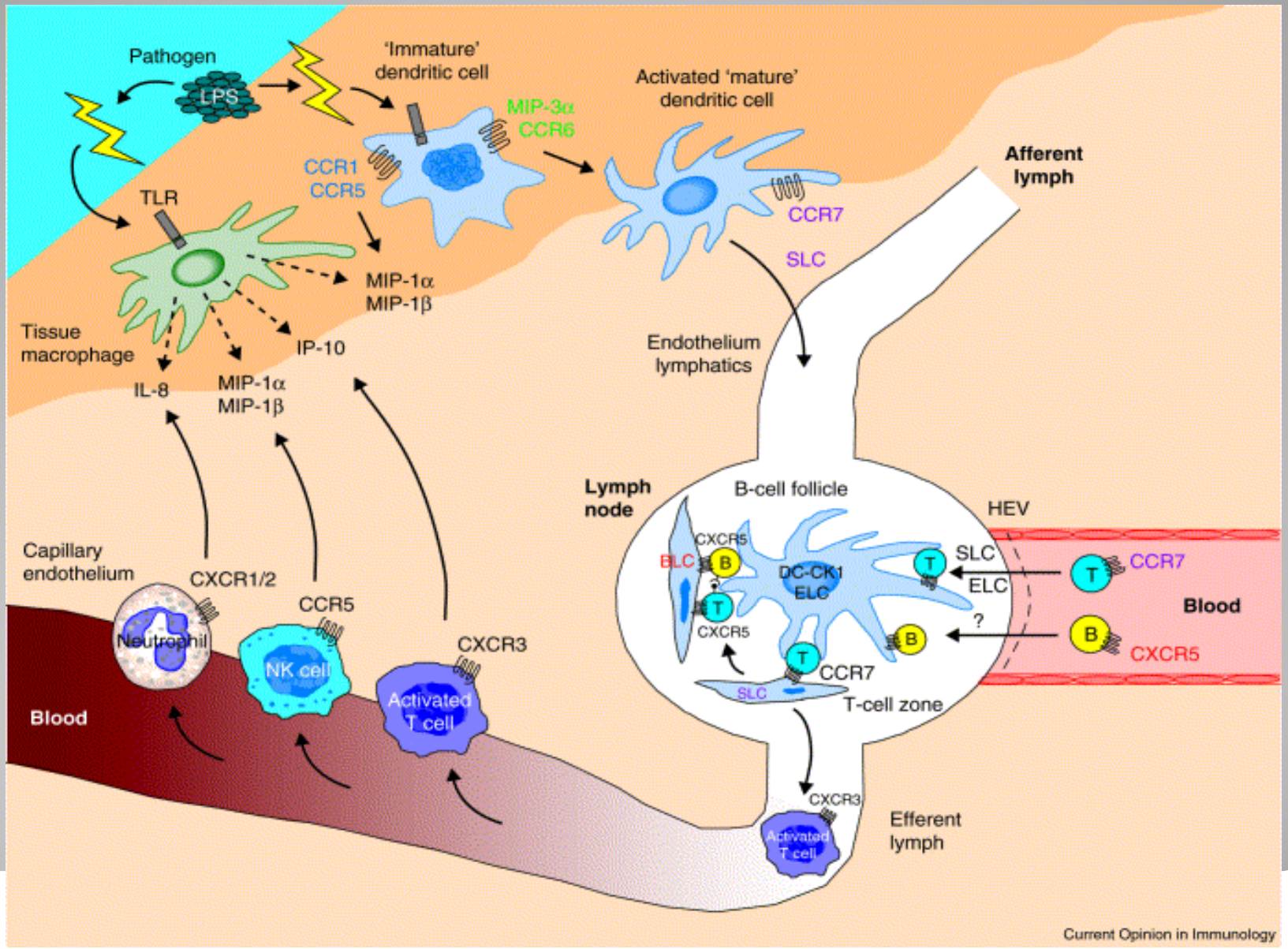


http://research4.dfci.harvard.edu/innate/innate.html

Conexión Respuesta inmune innata y respuesta inmune adaptativa



Tráfico de CD mediado por quimiocinas



Luster AD., Curr Opin Immunol, 2002