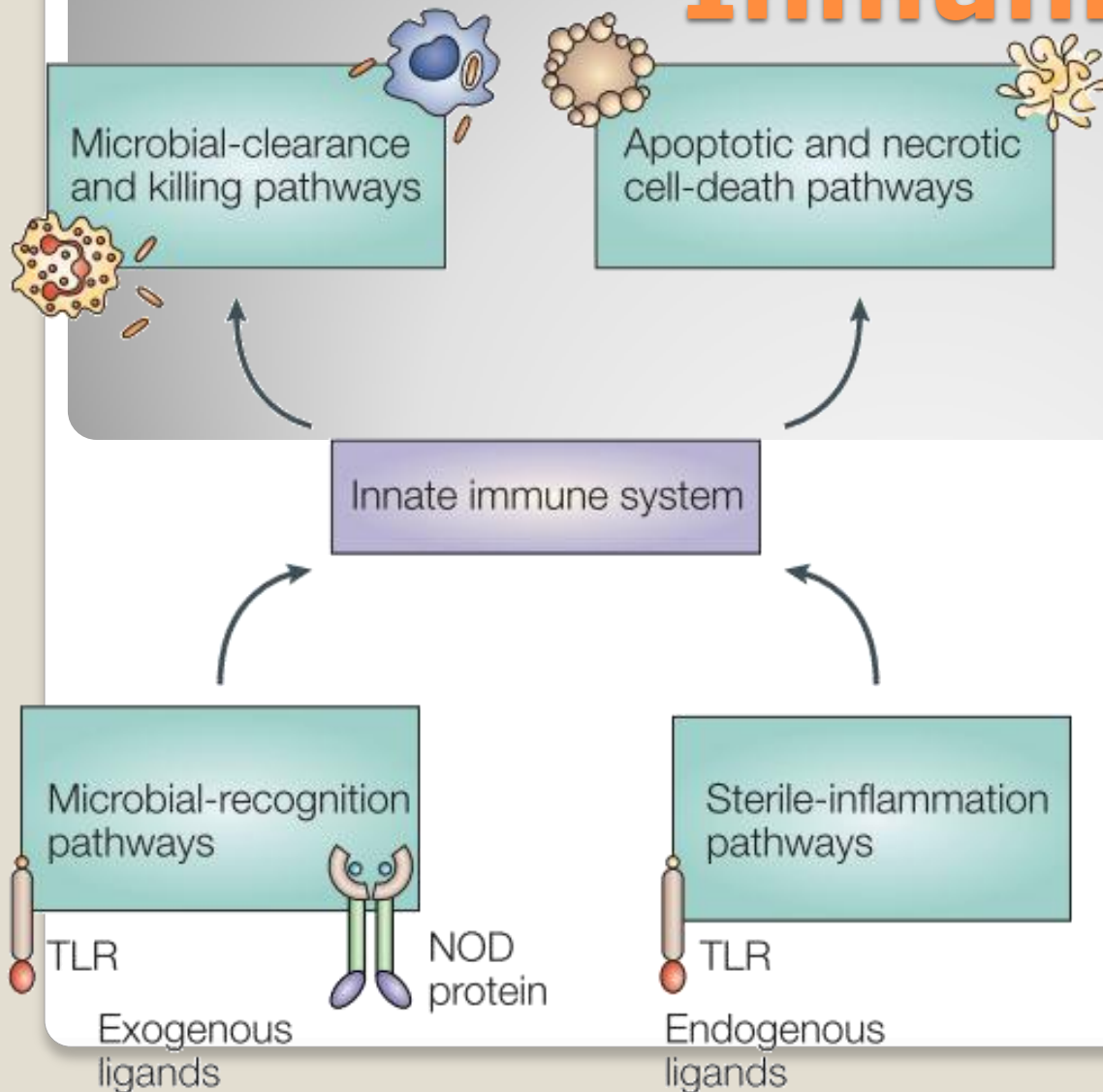


Fisiología de la RI: Inmunidad Innata



Luisa Barboza
IDIC-ULA 2013

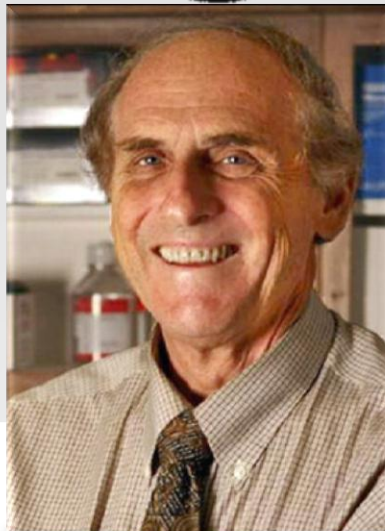
Premio Nobel en Fisiología y Medicina 2011



Bruce Beutler

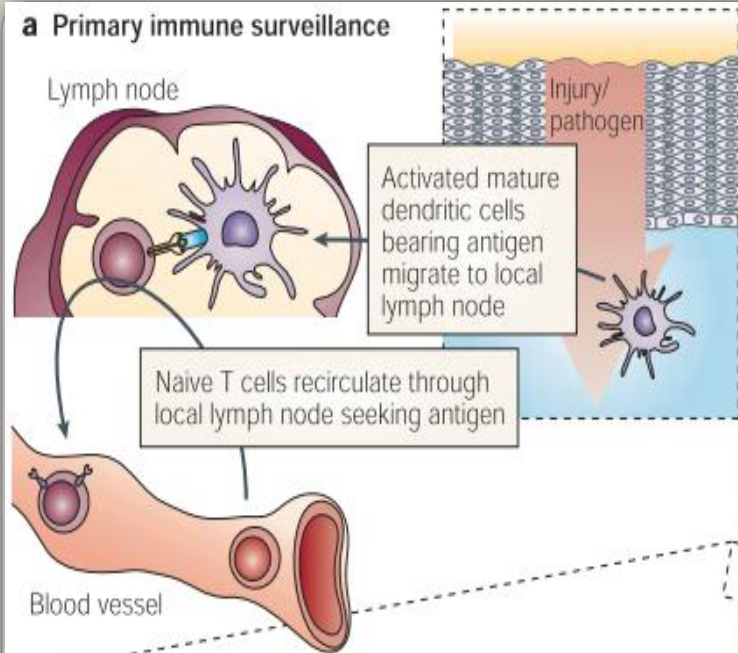


Jules Hoffmann

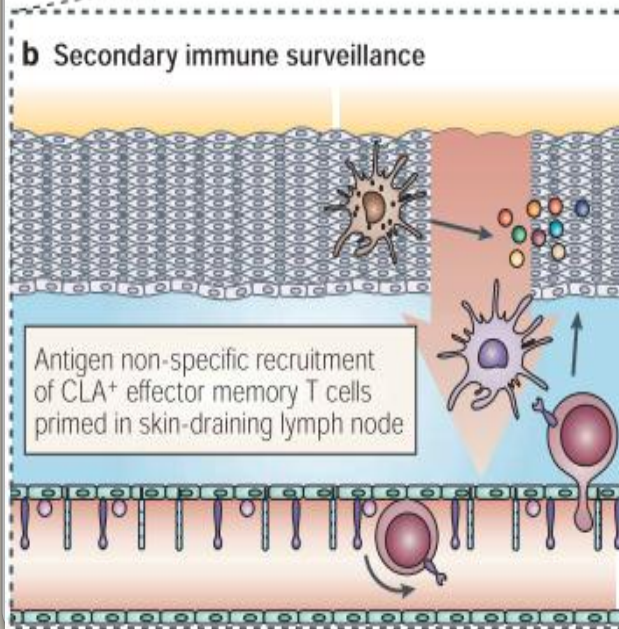


Ralph Steinman

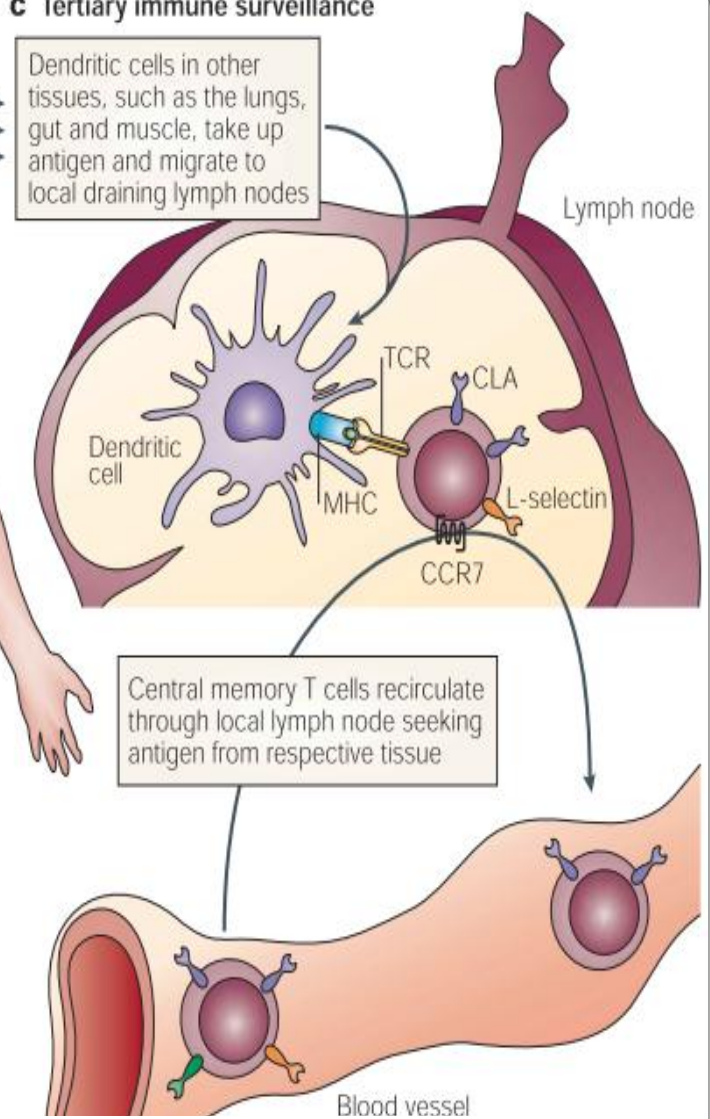
a Primary immune surveillance



b Secondary immune surveillance



c Tertiary immune surveillance

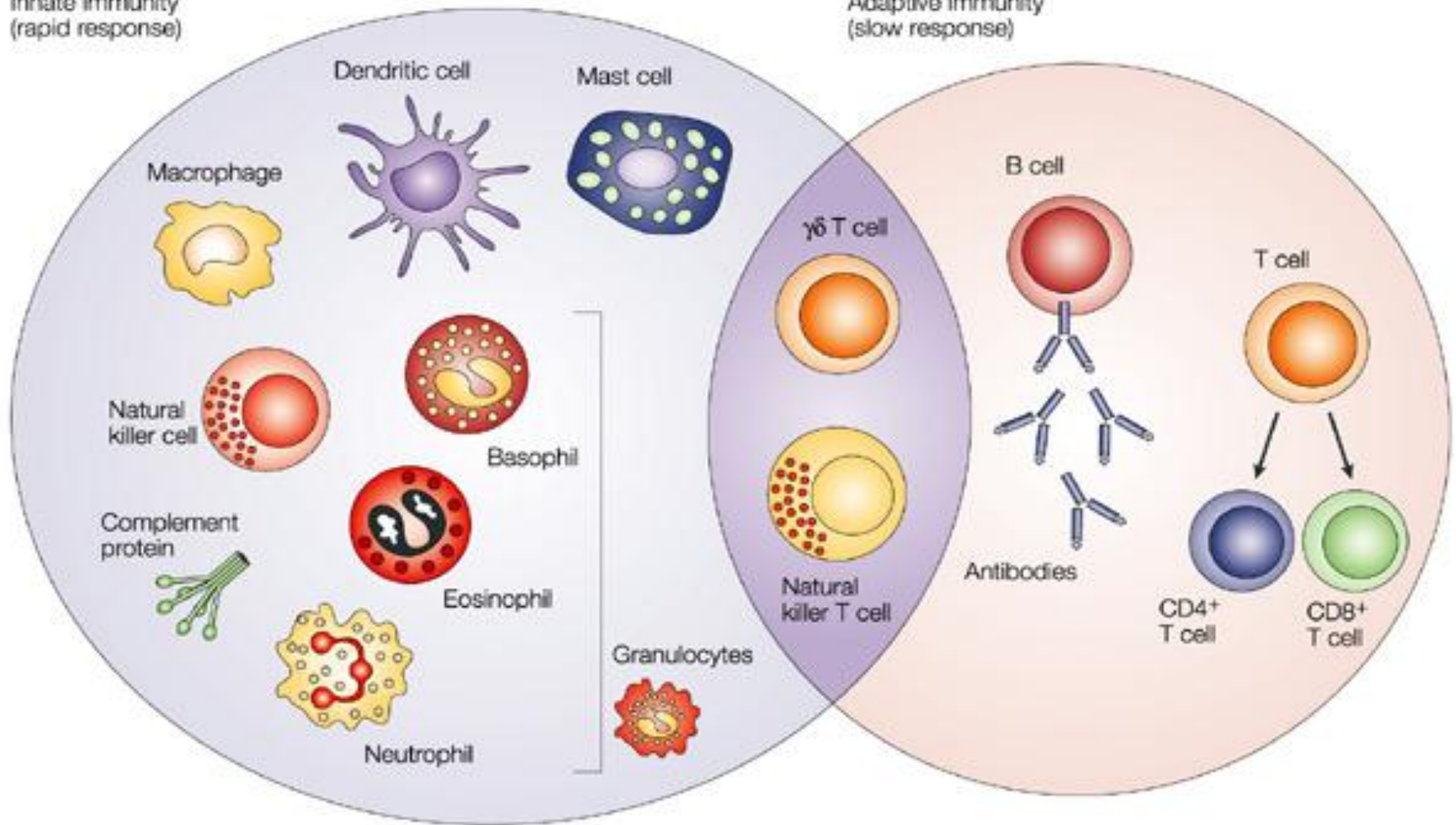


Vigilancia inmunitaria

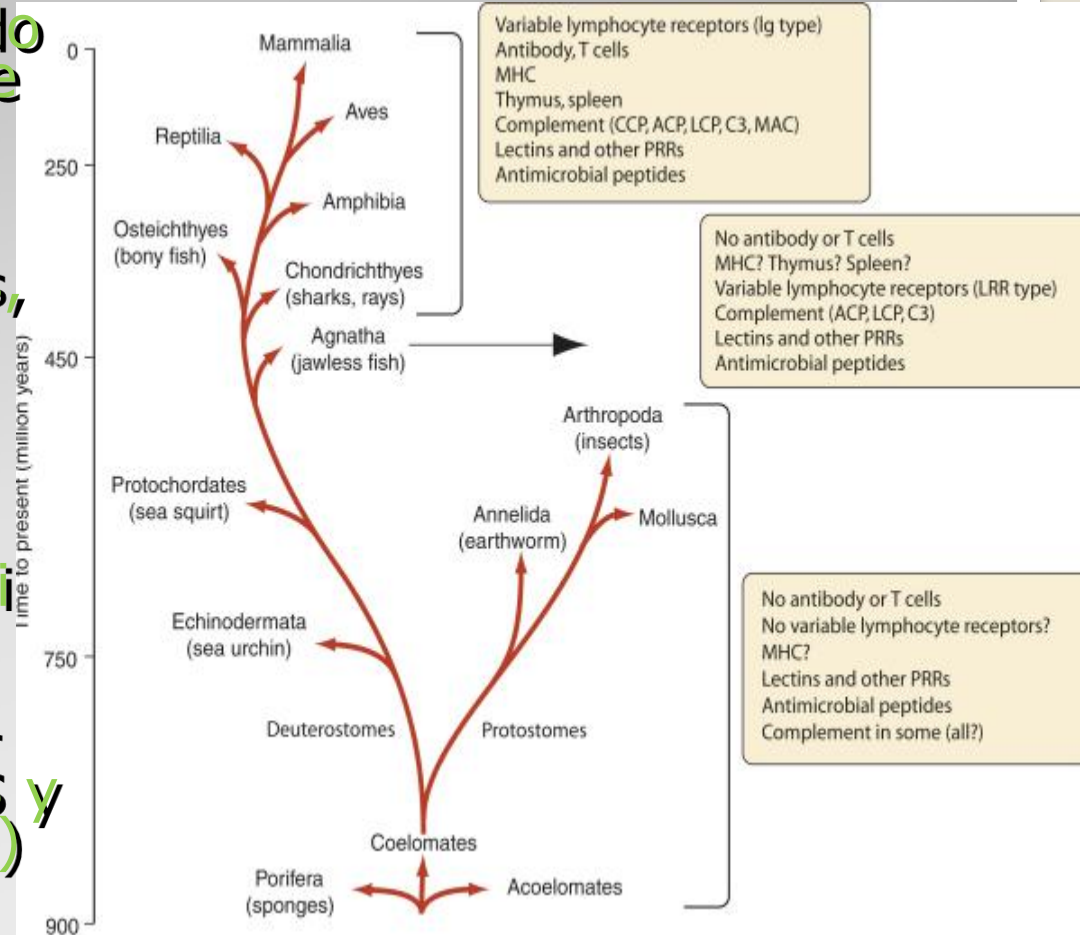
Tipos de respuesta inmune

Innate immunity
(rapid response)

Adaptive immunity
(slow response)

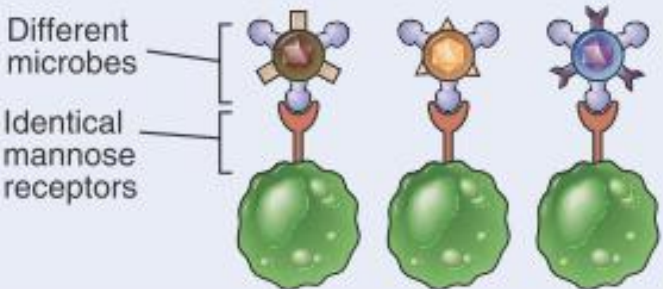
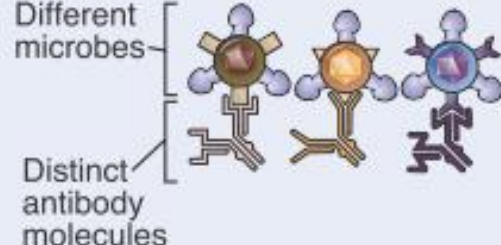
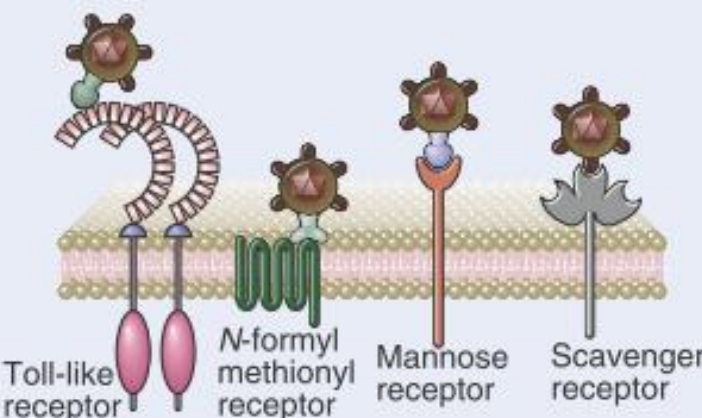
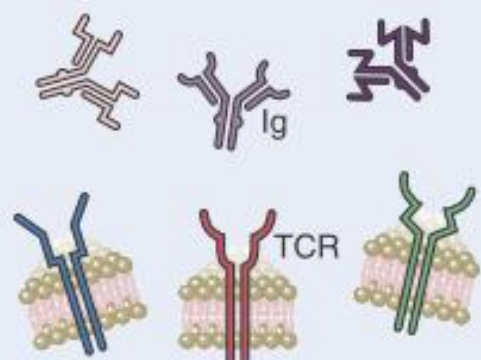


- Sistema muy conservado y evolucionado presente en plantas y animales
- Tiene como lecho una respuesta inflamatoria iniciada por macrófagos, polimorfonucleares y mastocitos a través de receptores de la inmunidad innata
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales
- Reconocimiento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



Sistema inmune innato

TABLE 4-1 Specificity of Innate and Adaptive Immunity

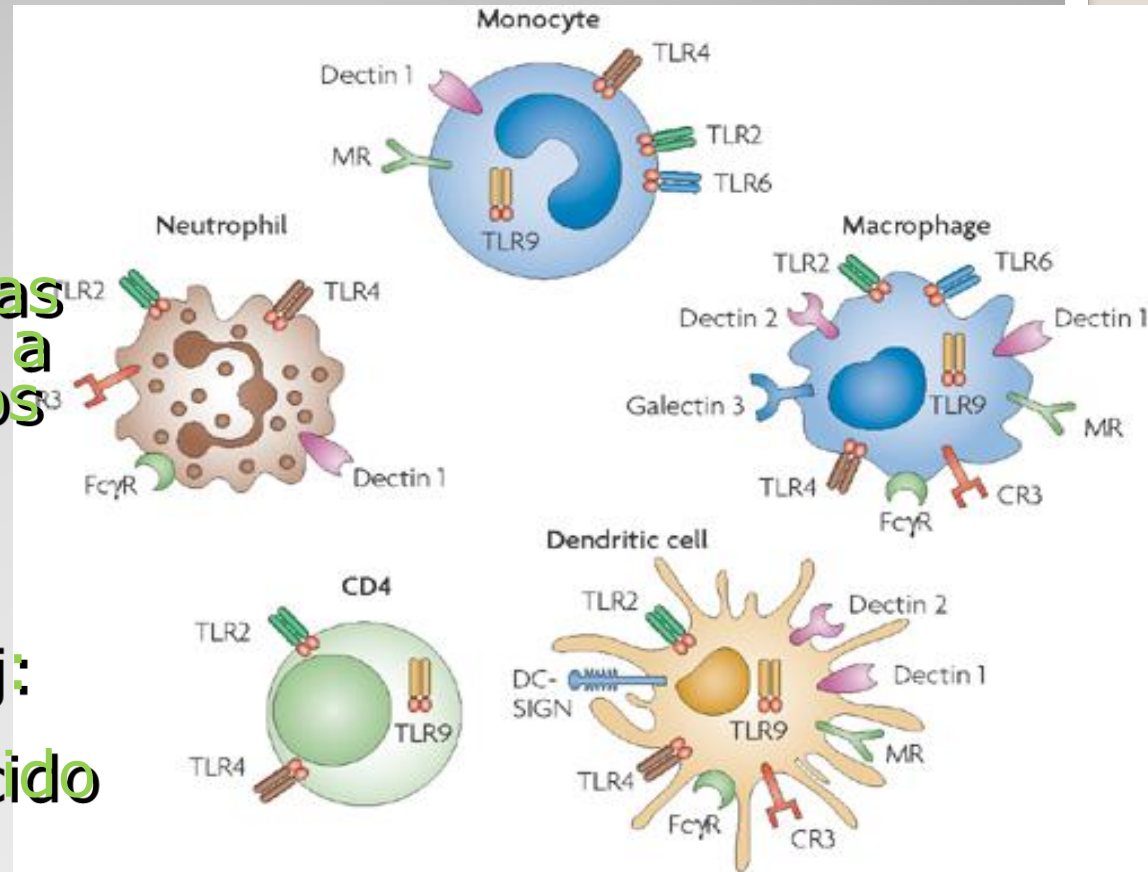
	Innate Immunity	Adaptive Immunity
Specificity	For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns) Different microbes Identical mannose receptors 	For structural detail of microbial molecules (antigens); may recognize nonmicrobial antigens Different microbes Distinct antibody molecules 
Receptors	Encoded in germline; limited diversity (pattern recognition receptors)  Toll-like receptor N-formyl methionyl receptor Mannose receptor Scavenger receptor	Encoded by genes produced by somatic recombination of gene segments; greater diversity  Ig TCR
Distribution of receptors	Nonclonal: identical receptors on all cells of the same lineage	Clonal: clones of lymphocytes with distinct specificities express different receptors
Discrimination of self and non-self	Yes; healthy host cells are not recognized or they may express molecules that prevent innate immune reactions	Yes; based on elimination or inactivation of self-reactive lymphocytes; may be imperfect (giving rise to autoimmunity)

Componente	Función
Barreras	
Capas del epitelio	Prevenir la entrada de microorganismos
Defensinas, linfocitos intraepiteliales	Muerte de microorganismos
Células efectoras circulantes	
Neutrófilos	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	Compartmentalización de tejidos infectados
Citocinas	
TNF, IL-1, quimiocinas	Inflamación
IFN- α y β	Resistencia a infecciones virales
IFN- γ	Activación de macrófagos
IL-12, IL-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

Componentes de la inmunidad innata

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

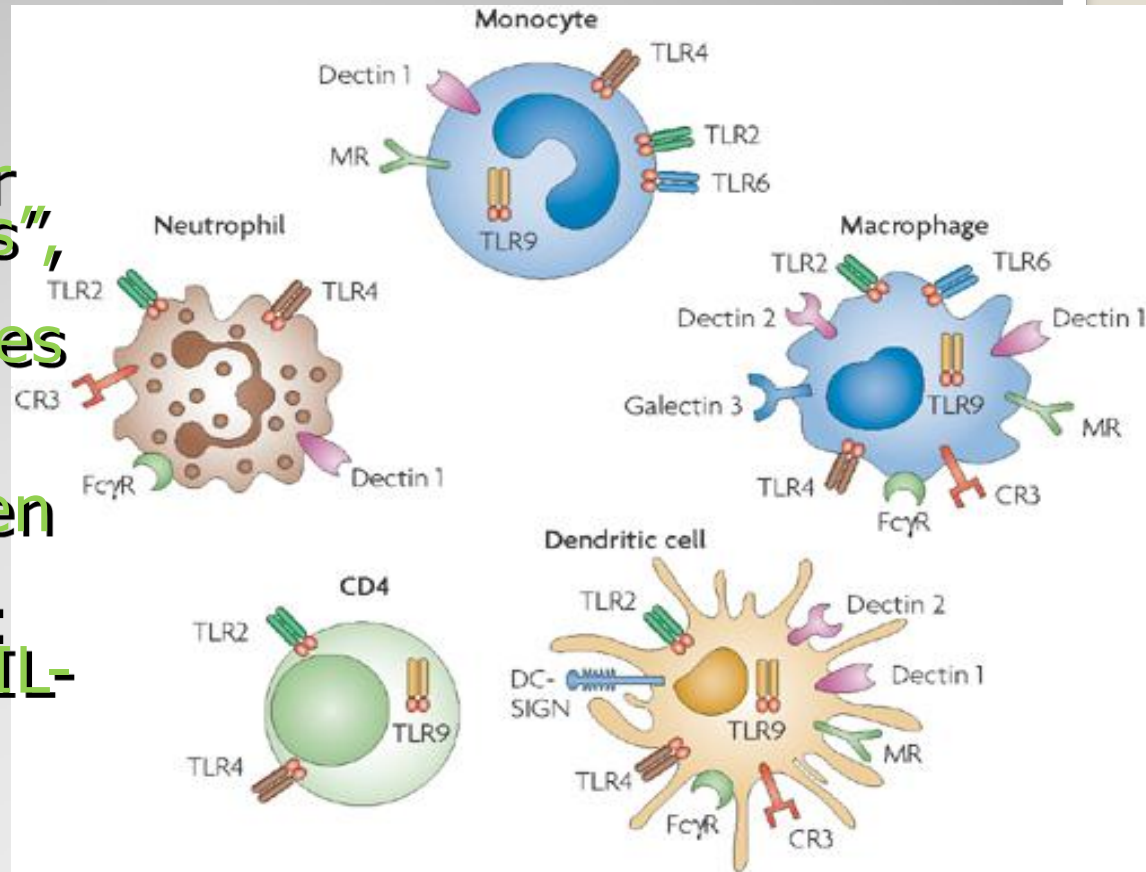


Nature Reviews | Microbiology

Mihai G. Netea, Gordon D. Brown, Bart Jan Kullberg & Neil A. R. Gow *Nature Reviews Microbiology* 6, 67-78 (January 2008)

Reconocimiento inmune innato

- ▶ 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



Nature Reviews | Microbiology

Mihai G. Netea, Gordon D. Brown, Bart Jan Kullberg & Neil A. R. Gow *Nature Reviews Microbiology* 6, 67-78 (January 2008)

Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos

Table 1. Mammalian pattern-recognition receptors and their major ligands.

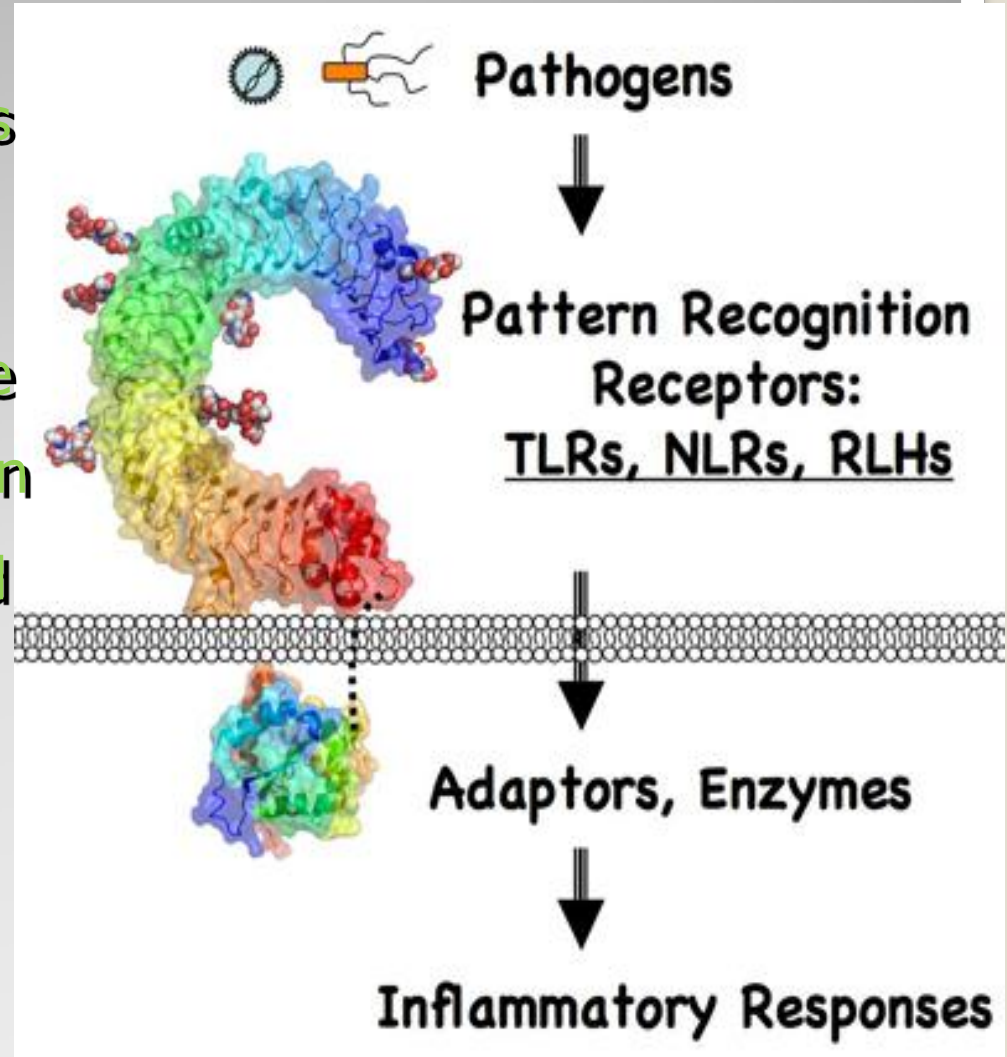
Family	Member (major ligand)
TLRs	TLR1 (triacyl lipopeptides), TLR2 (LTA ^a , zymosan, lipopeptides), TLR3 (dsRNA, polyI:C), TLR4 (LPS), TLR5 (flagellin), TLR6 (diacyl lipopeptides), TLR7 (ssRNA, R848), TLR8 (ssRNA, R848), TLR9 (CpG-DNA), TLR11 (profillin-like molecule)
C-type lectin receptors	Mannose receptor (ligands bearing mannose, fucose, or N-acetyl glucosamine), DC-SIGN (ICAM-2/3, HIV gp120, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ManLAM), Dectin-1 (zymosan, β-glucans from fungi)
Scavenger receptors	Scavenger receptor A (modified LDL, apoptotic cells), CD36 (oxidized LDL, apoptotic cells), MARCO (modified LDL)
Complement receptors	Integrins [CR3 (iC3b, β-glucan, fibrinogen), CR4 (iC3b, β-glucan, fibrinogen)], gC1qR (C1q), C5aR (C5a)
IFN-inducible proteins	PKR (dsRNA), OASs (dsRNA)
CARD helicases	RIG-I (uncapped 5'-triphosphate RNA), MDA5 (polyI:C, dsRNA from EMCV)
NOD-like receptors	NOD1 (iE-DAP), NOD2 (MDP), 14 [*] NALPs [NALP1 (cell rupture), NALP1b (anthrax lethal toxin), NALP3 (bacterial mRNA, R848, extracellular ATP, uric acid crystals)], IPAF (<i>Salmonella</i> flagellin), NAIP5 (<i>Legionella</i> flagellin)
Complement	C3 (carbohydrates and proteins on microbial surfaces), C1q (immune complexes, apoptotic cells)
Pentraxins	SAP (LPS, C1q, apoptotic cells), CRP (PC, C1q, apoptotic cells), PTX3 (galactomannan, C1q, zymosan, apoptotic cells)
Collectins	MBL (LPS, LTA, HIV gp120)

* AIM2-like receptors: Presencia de dominio pirina y dominio HIN de unión al ADN bacteriano

Inflamosoma  PRR citoplasma,  PRR membrana

 PRR solubles

- ▶ 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)

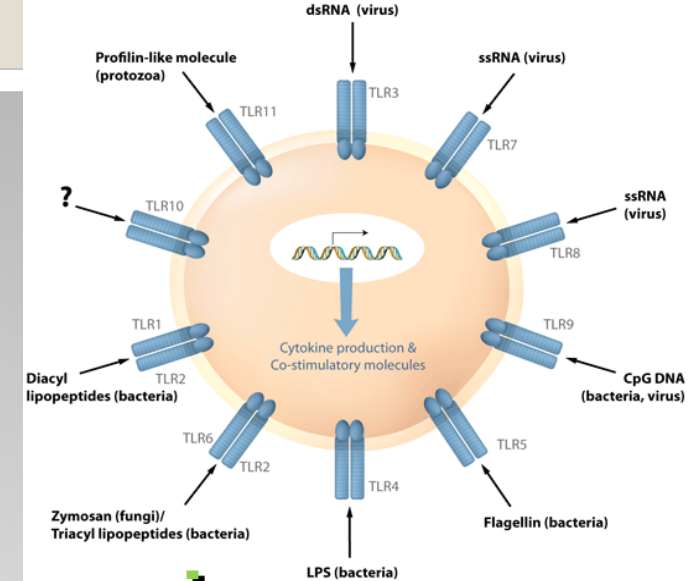


Receptores de la Inmunidad Innata

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
Beutler B. Blood 2009

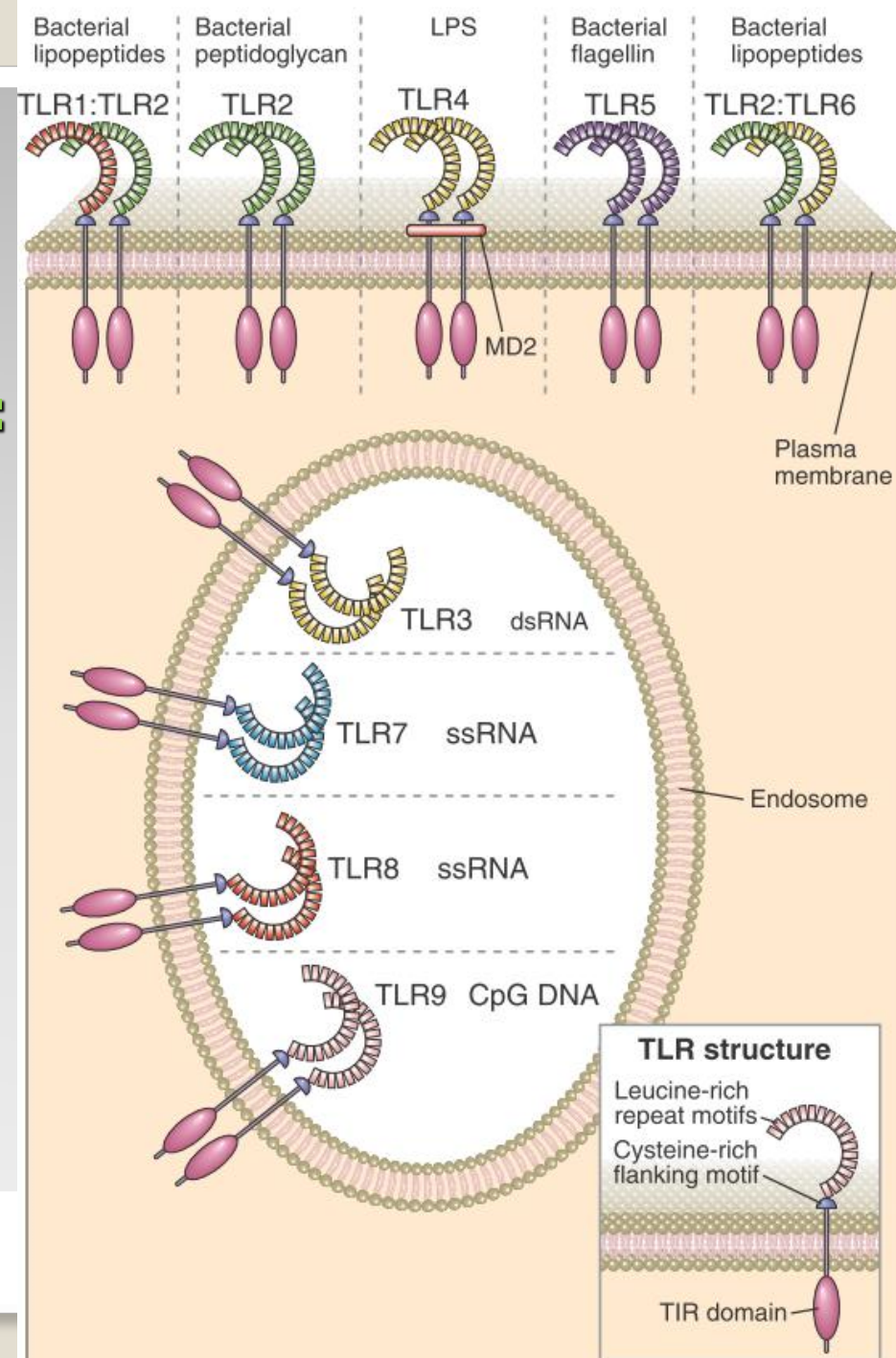
Receptores Toll (TLR)

- 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 (LRR)
- 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)- κ B

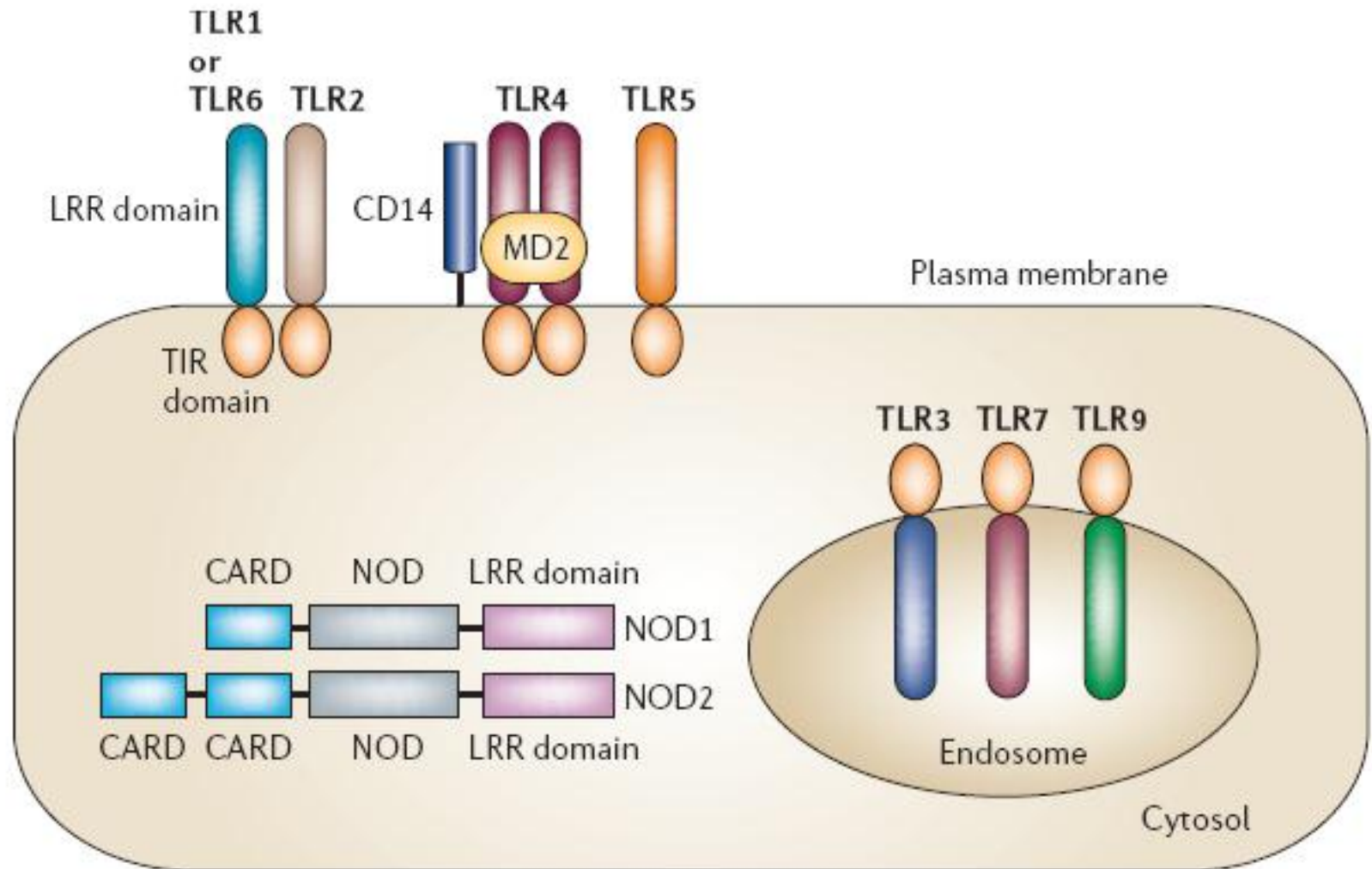


Receptores Toll (TLR)

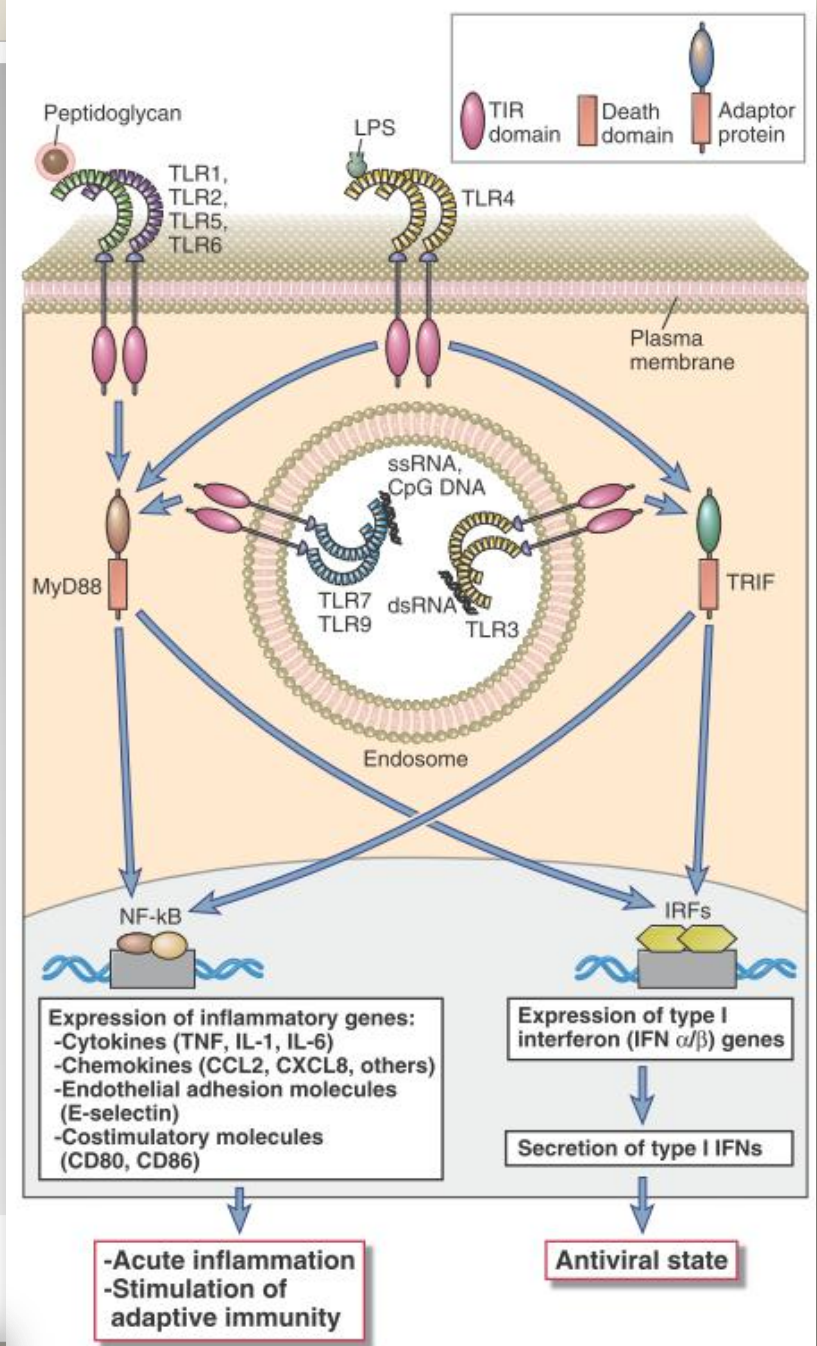
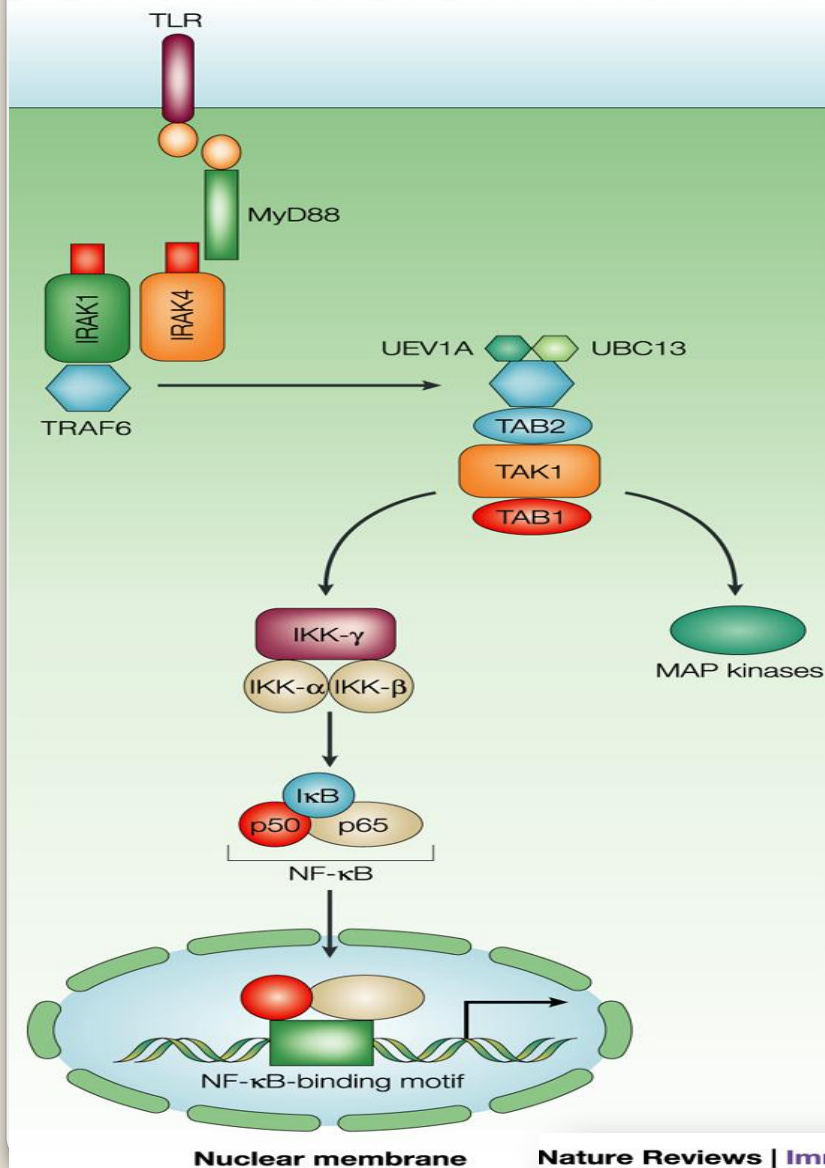
- **Expresados en superficie:**
TLR1, TLR2, TLR4, TLR5,
TLR6 y TLR11
 - **Sus ligandos son componentes de la membrana microbial:**
LPS, lípidos, lipoproteínas...
- **Expresados en vesículas intracelulares (ER, endosomas, lisosomas:**
TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9
 - **Reconocen ácidos nucleicos**



Estructura y localización celular de TLRs y NOD



Estructura y señalización vía TLR

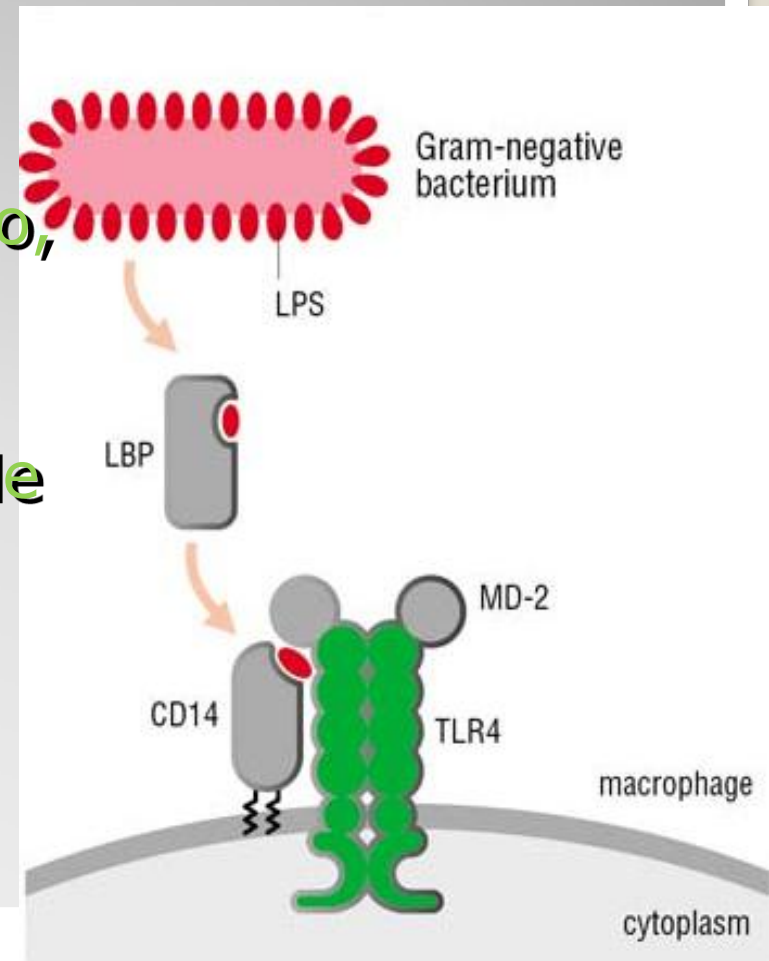


Especificidad de los receptores Toll

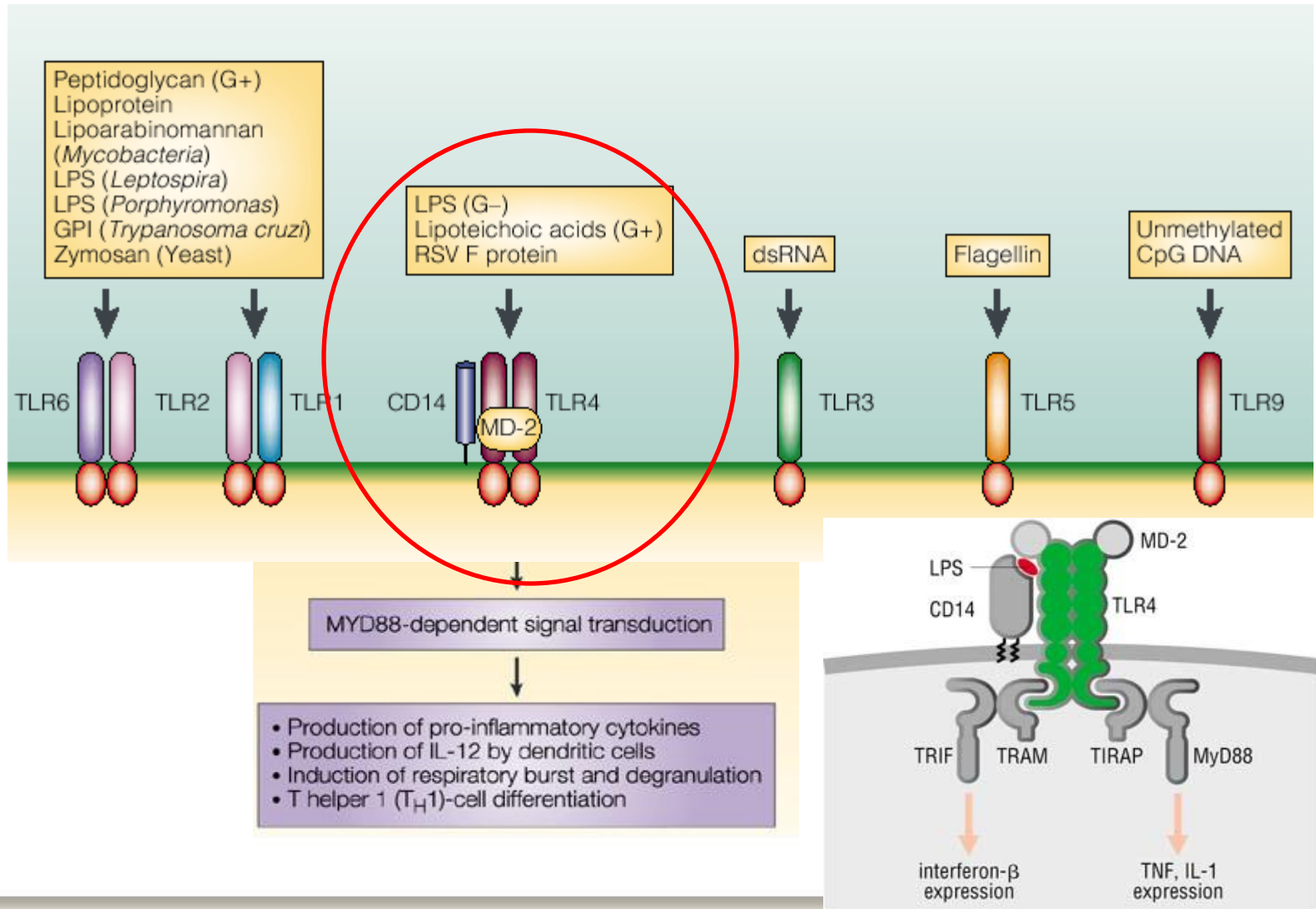
TLR	Ligandos	Microorganismos blanco	
TLR1	Triacil-lipopéptidos	Micobacterias	
TLR2	Peptidoglucanos Proteínas unidas a GPI Lipoproteínas Zimosán	Bacterias grampositivas Tripanosomas Micobacterias Levaduras y otros hongos	
TLR3	RNA bicatenario (dsRNA)	Virus	
TLR4	LPS Proteína F	Bacterias gramnegativas Virus sincicial respiratorio (RSV)	HSP60, fibrinogeno
TLR5	Flagelina	Bacterias	
TLR6	Diacil-lipopéptidos Zimosán	Micobacterias Levaduras y otros hongos	
TLR7	RNA monocatenario (ssRNA)	Virus	
TLR8	RNA monocatenario (ssRNA)	Virus	
TLR9	Dinucleótidos desmetilados CpG Dinucleótidos Infección por herpesvirus	DNA bacteriano Algunos herpesvirus	
TLR10,11*	Desconocido	Desconocido	Bacterias uropatógenas*

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



Señalización vía TLR4



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

Sensores de la inmunidad innata en el TGI

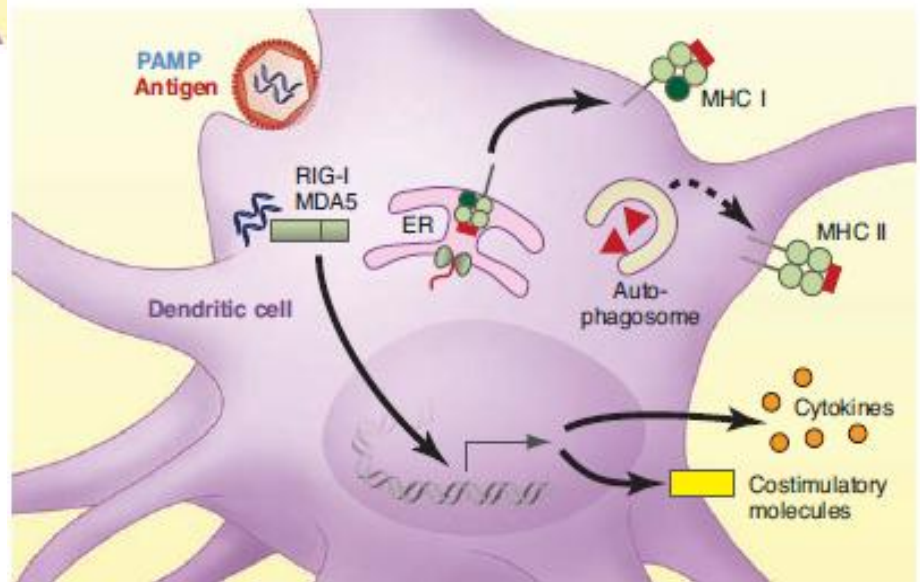
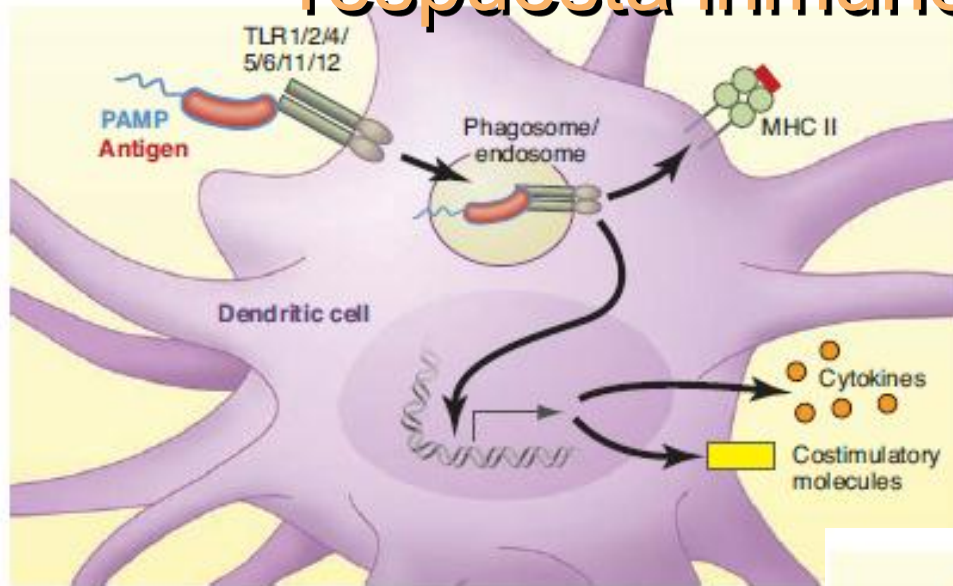
TABLE 1: Pattern recognition receptor activating ligands from *Salmonella* spp. and *Helicobacter pylori*.

PRR	<i>Salmonella</i> spp. ligand	<i>Helicobacter pylori</i> 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 <i>Salmonella</i> 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].

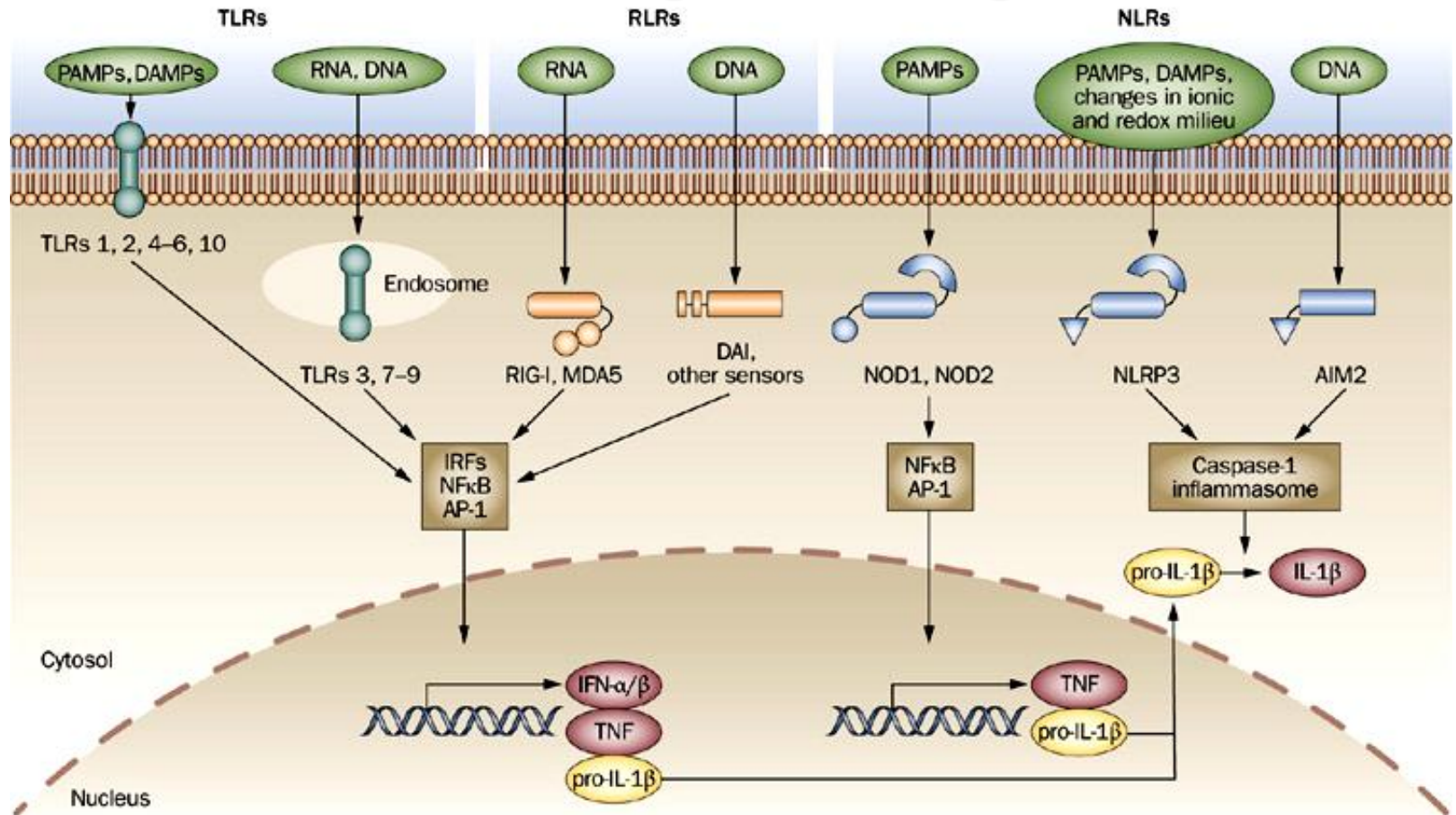
TLR	Stomach	Small intestine	Large intestine
1	Not detected	RNA	RNA
2	RNA	RNA/protein	RNA/protein
3	Not detected	RNA/protein	RNA/protein
4	RNA/protein	RNA/protein	RNA/protein
5	RNA/protein	RNA/protein	RNA/protein
6	Not detected	Not detected	RNA
7	Not detected	Not detected	RNA
8	Not detected	Not detected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

Papel de los receptores Toll en la respuesta inmune adaptativa

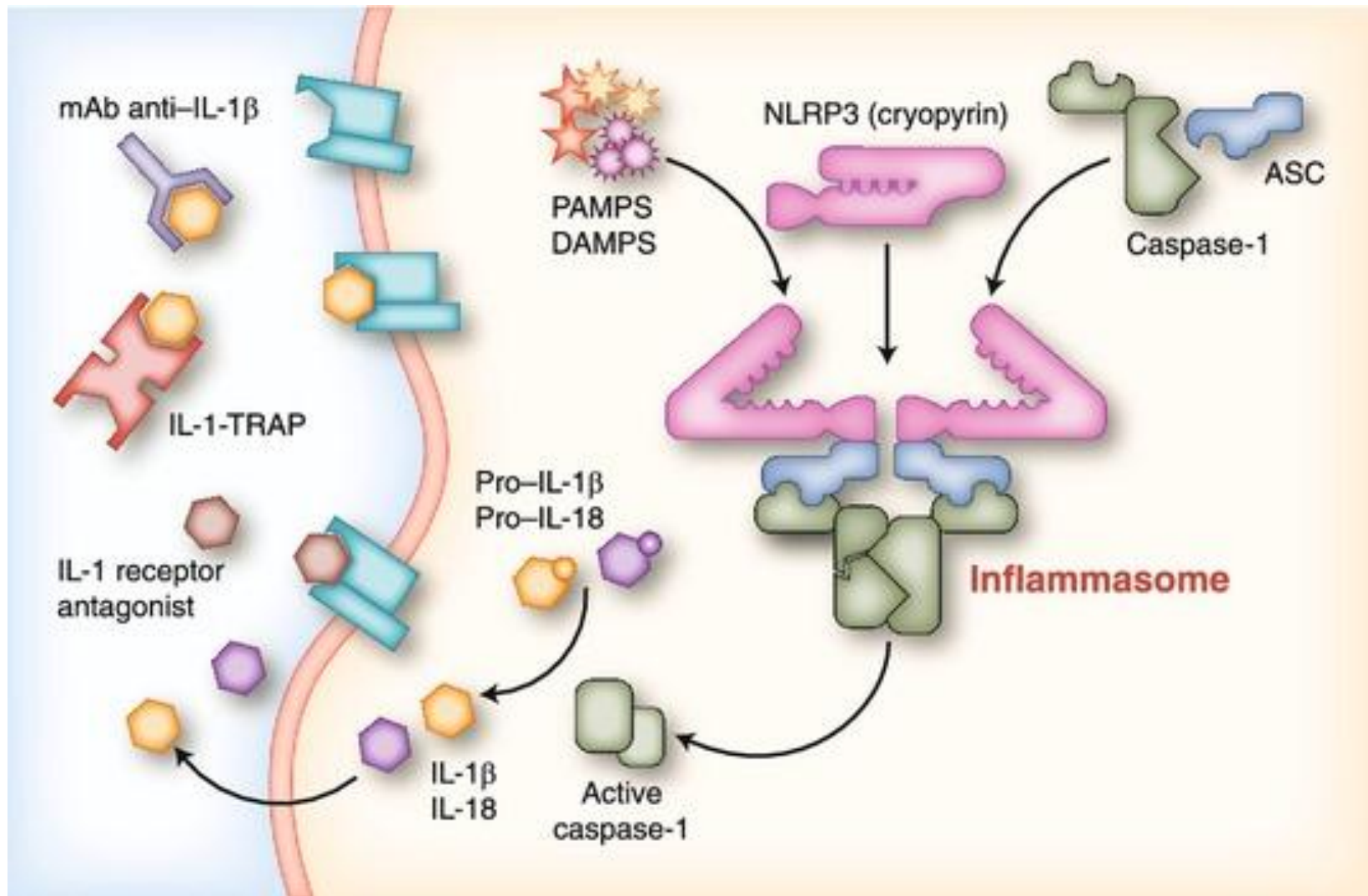


Akiko Iwasaki et al, Science 2010

Patrones moleculares asociados a daño (DAMPs)



Inflamación ésteril. Inflamosoma

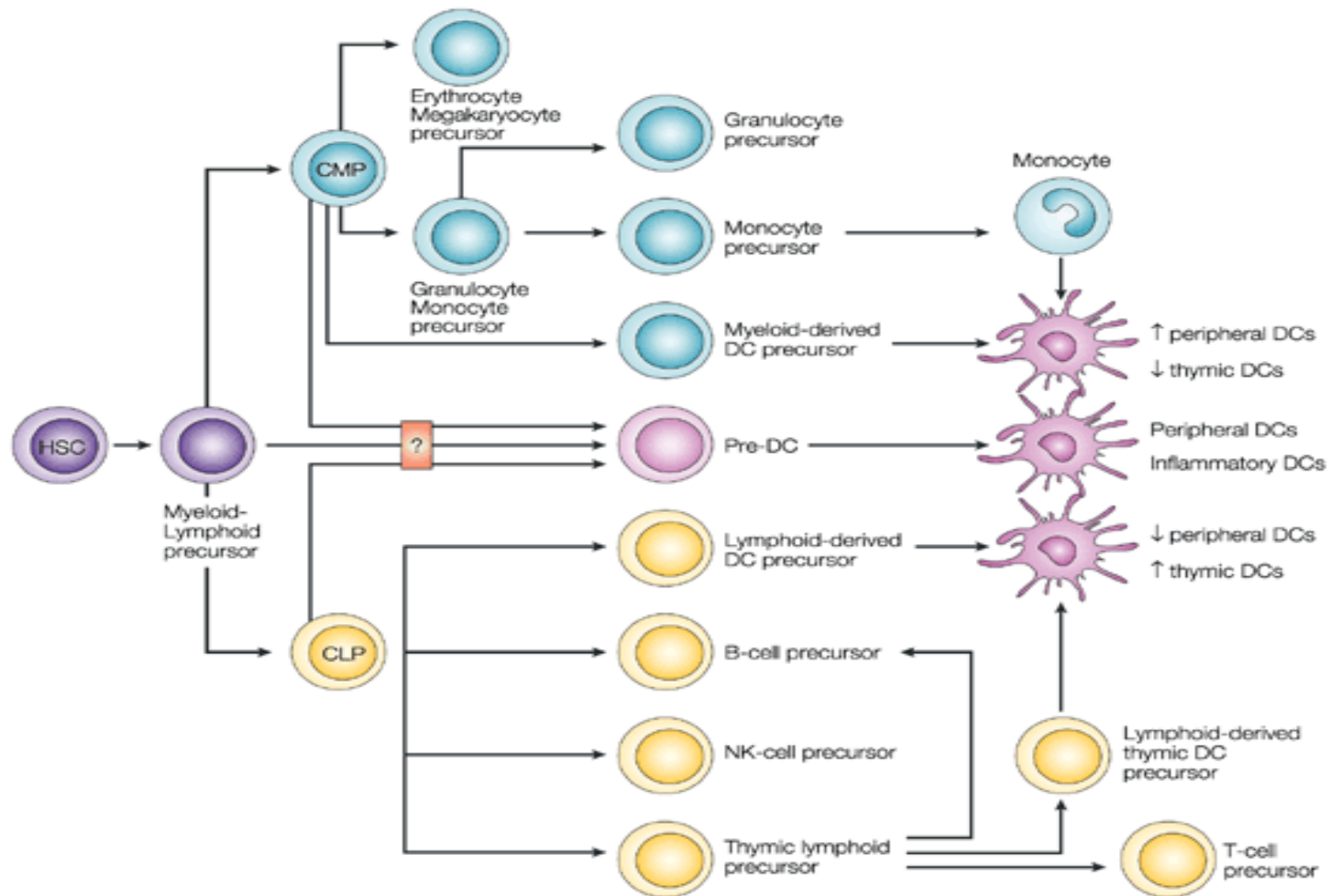


Enfermedades asociadas

Síndromes autoinflamatorios.

Disease	Clinical features	Gene mutated	Etiologic agent	Inflammasome involvement	Anakinra response
Familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS)	Fever, arthralgia, cold-induced urticaria	NALP3		overactive	yes
Muckle-Wells syndrome (MWS)	Fever, arthralgia, urticaria, sensorineural deafness, amyloidosis	NALP3		overactive	yes
Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome (CINCA, NOMID)	Fever, severe arthralgia, urticaria, neurological problems, severe amyloidosis	NALP3		overactive	yes
Familial Mediterranean fever (FMF)	Fever, peritonitis, pleuritis, amyloidosis	Pyrin		overactive	partial
Pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, and acne syndrome (PAPA)	Pyogenic sterile arthritis	PSTPIP1		overactive	yes
Hyperimmunoglobulin D syndrome (HIDS)	Arthralgia, abdominal pain, lymphadenopathy	Mevalonate kinase		to be demonstrated	yes
Tumor necrosis factor receptor-1-associated syndrome (TRAPS)	Fever, abdominal pain, skin lesions	TNF-R1		to be demonstrated	yes
Systemic juvenile idiopathic arthritis (SJIA)	Chronic joint inflammation		unknown	to be demonstrated	yes
Adult-onset Still's disease (AOSD)	Arthralgia, fever		unknown	to be demonstrated	yes
Behcet's disease	Arthralgia, uveitis, ulcers		unknown	to be demonstrated	yes
Schnitzler's syndrome	Urticaria, fever arthralgia		unknown	to be demonstrated	yes
Gout	Metabolic arthritis, pain		uric acid (MSU)	activated	yes
Pseudogout	Arthritis		CPPD	activated	yes
Contact dermatitis	Urticaria		irritants	activated	unknown
Fever syndrome	Fever	NALP12		unknown	unknown
Hydatidiform mole	Hydatid mole	NALP7		unknown	unknown
Vitiligo	Skin depigmentation, automimmunity	NALP1		unknown	unknown

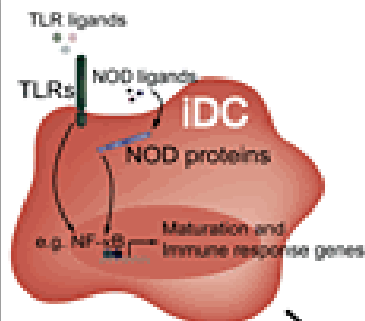
Diferenciación de células dendríticas



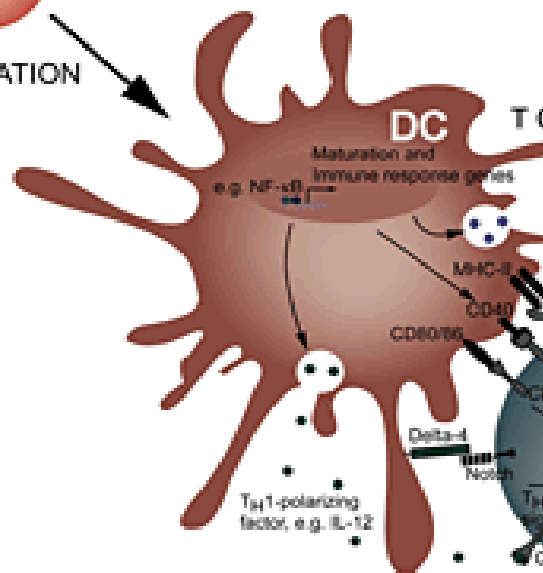
Subpoblaciones de células dendríticas

Dendritic cell subset	Markers	Function
Myeloid	CD11c ⁺ CD205 ⁻ CD11b ⁺ CD8 ⁻ CD4 ^{+/-} α	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 .

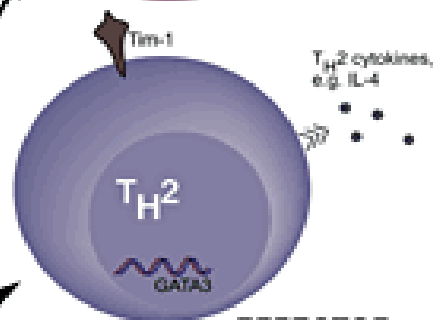
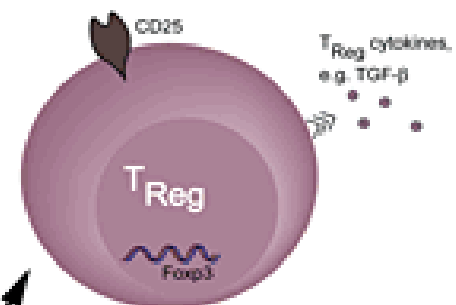
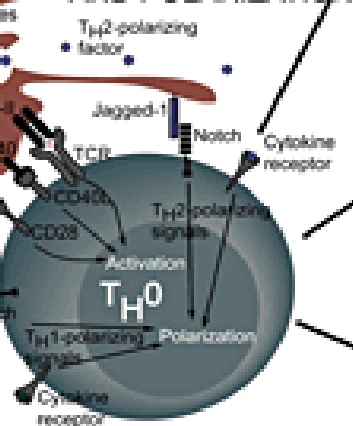
RECOGNITION



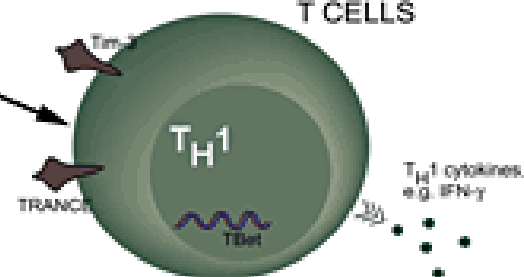
MATURATION



T CELL ACTIVATION AND POLARIZATION



EFFECTOR T CELLS



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 presente en gránulos de almacenamiento. Células de Paneth en el intestino delgado. Leucocitos
- Actividad contra bacterias, hongos y virus

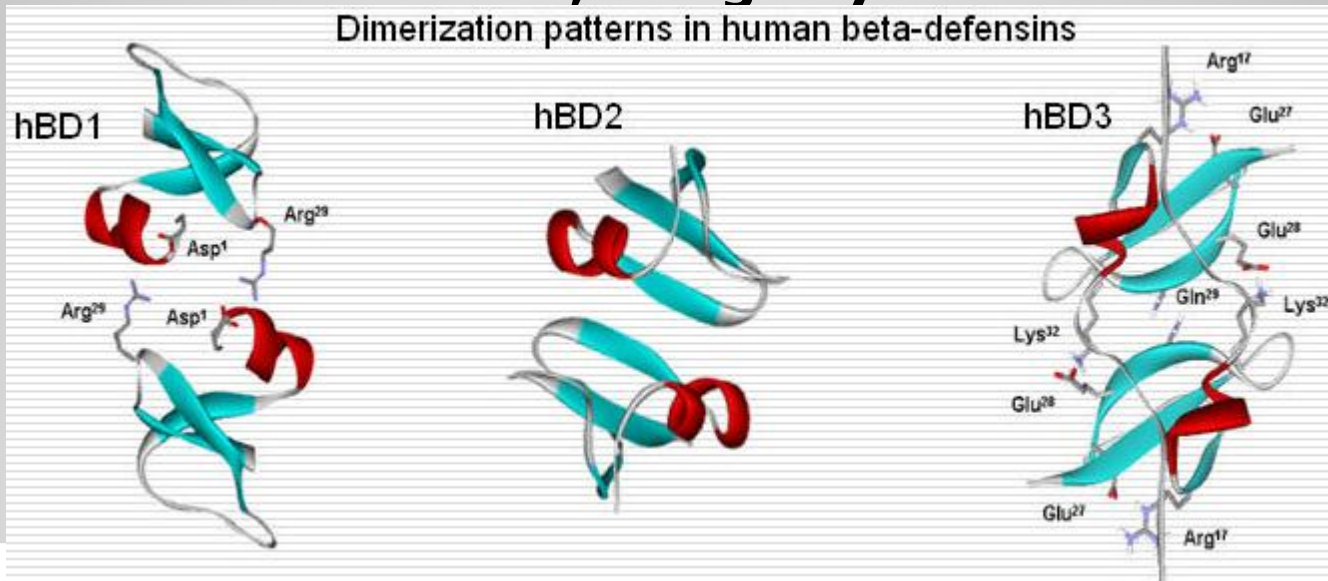
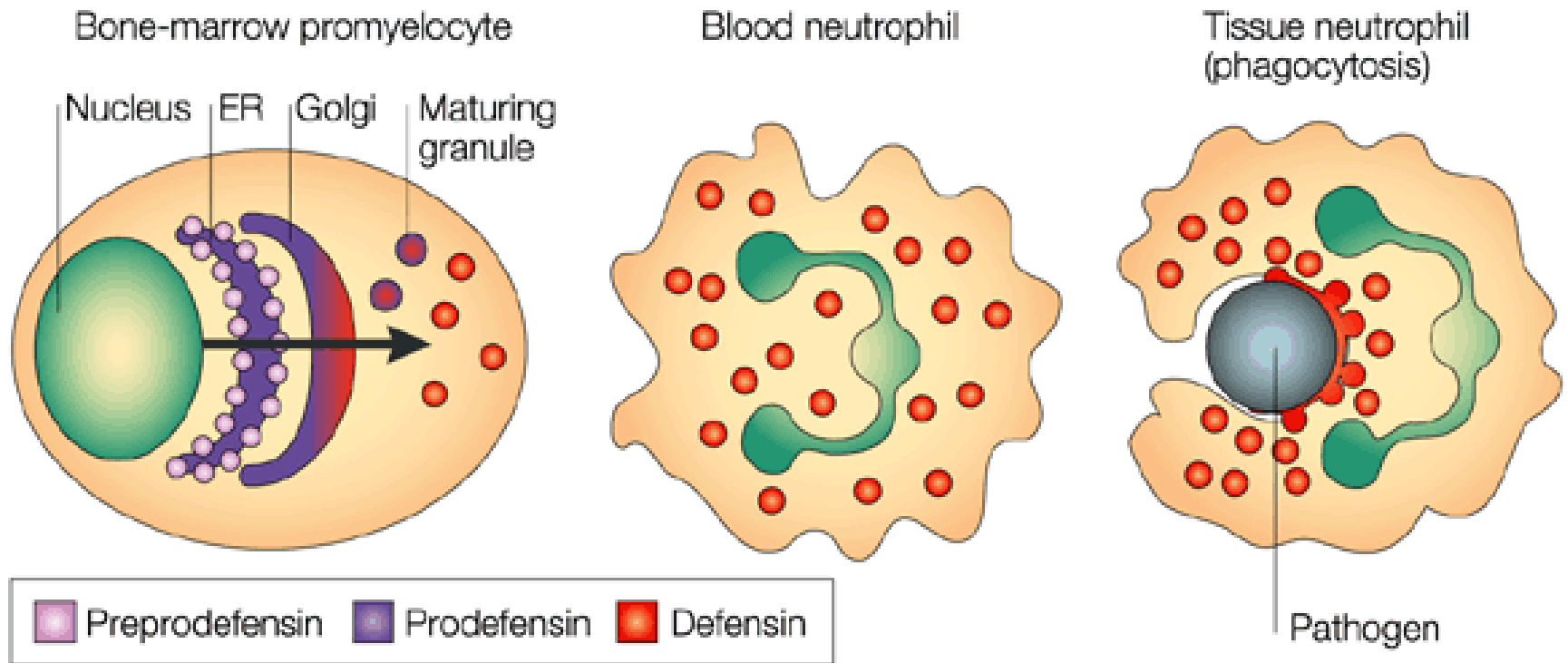


Table 1 | **Distribution and source of defensins**

Defensin	Tissue distribution	Cell source	Synthesis and regulation
HNP1, HNP2 and HNP3	Placenta, intestinal mucosa and cervical mucus plug	Neutrophils*, monocytes, macrophages, natural killer cells, B cells and $\gamma\delta$ T cells	Constitutive
HNP4	Not determined	Neutrophils*	Constitutive
HD5 and HD6	Salivary glands, small bowel, inflamed large bowel, stomach, eye, female genital tract (HD5 only), breast milk and inflamed urethral lumen	Intestinal paneth cells* and vaginal epithelial cells (HD5 only)	Constitutive or inducible, such as by sexually transmitted infection
HBD1	Oral and nasal mucosa, lungs, plasma, salivary glands, small and large bowel, stomach, skin, eyes, mammary glands, urogenital tract and kidneys	Epithelial cells*, monocytes, macrophages, monocyte-derived dendritic cells and keratinocytes	Constitutive or inducible in response to interferon- γ , lipopolysaccharide and peptidoglycan
HBD2 and HBD3	Oral and nasal mucosa, lungs, plasma, salivary glands, small and large bowel, stomach, skin, eyes, mammary glands, urogenital tract and kidneys	Epithelial cells*, monocytes, macrophages, monocyte-derived dendritic cells and keratinocytes	Inducible in response to viruses, bacteria, lipopolysaccharide, peptidoglycan, lipoproteins, cytokines (IL-1 β , TNF) and growth factors
HBD4	Gastric antrum and testes	Epithelial cells*	Constitutive or inducible in response to PMA and bacteria

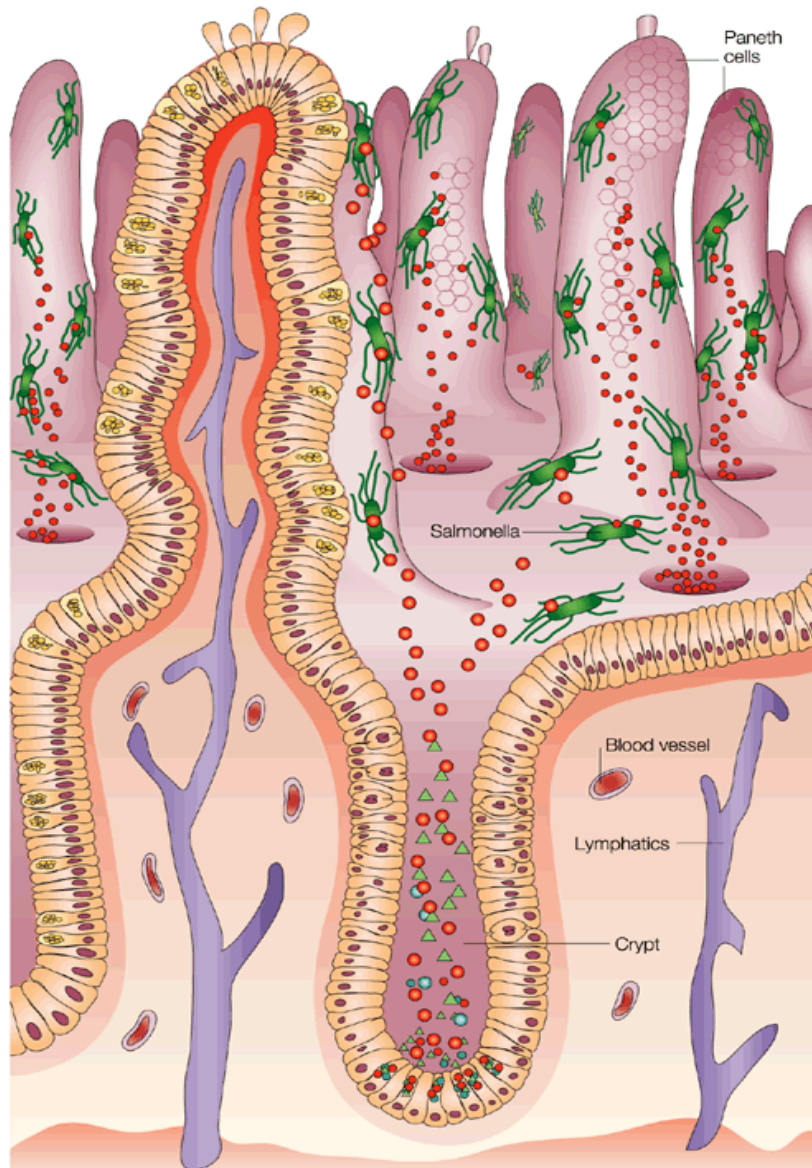
*Main cellular source. HBD, human β -defensin; HD, human α -defensin; HNP, human neutrophil peptide; IL-1 β , interleukin-1 β ; PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate; TNF, tumour-necrosis factor.

Síntesis y liberación de defensinas



HNP: defensina α , péptido de los neutrófilos humanos

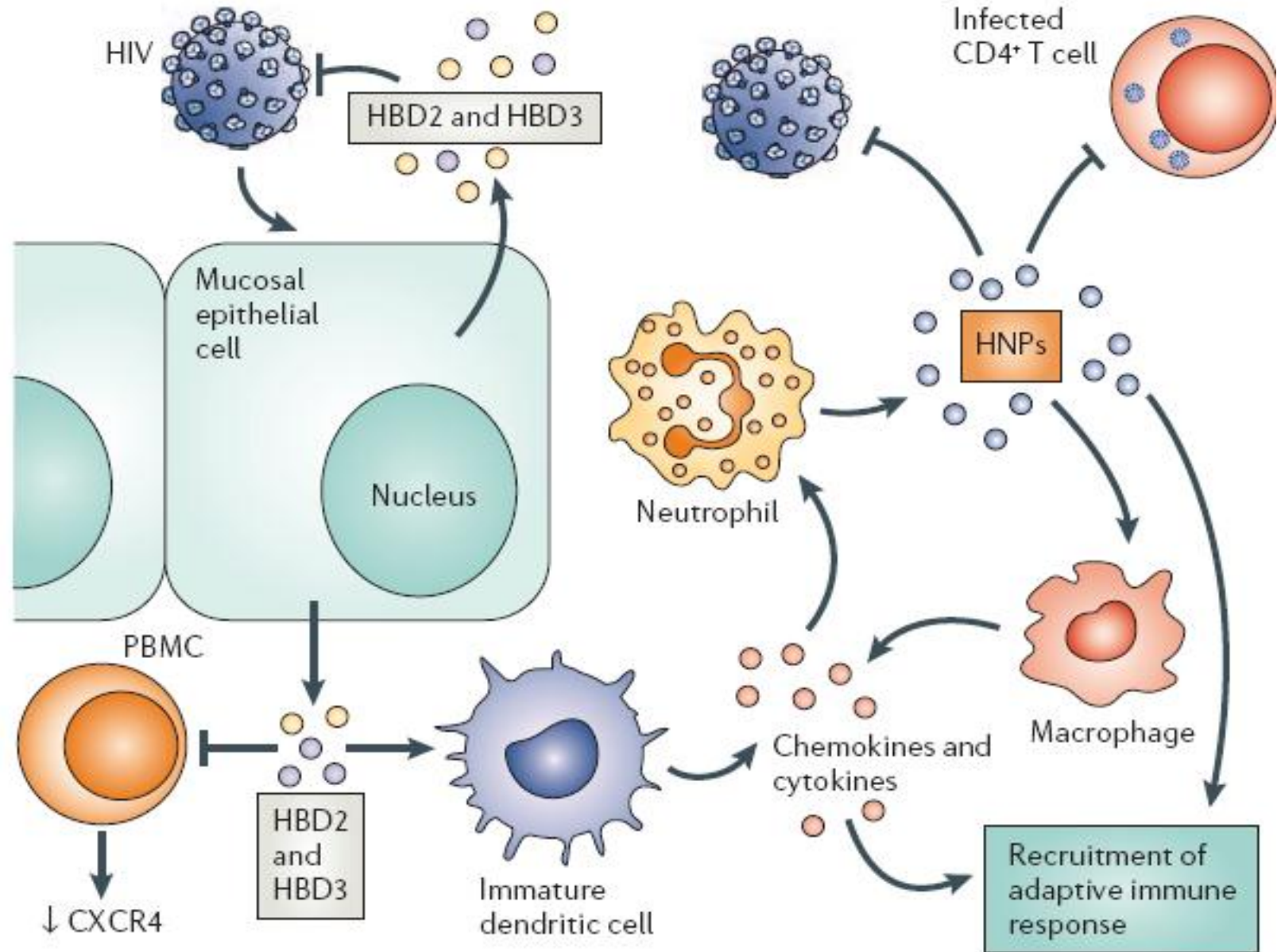
Nature Reviews | Immunology



Nature Reviews | Immunology

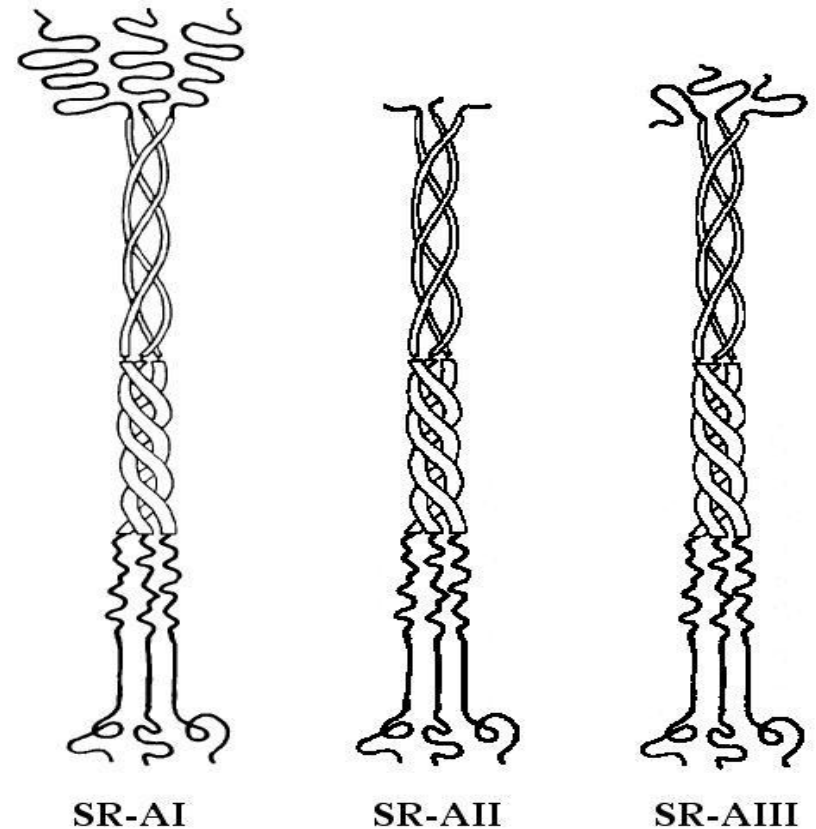
**Acción
bactericida
de las
defensinas:**
papel de la
prodefensina 5,
defensina 5 y
tripsina a nivel de
las criptas

Papel de las defensinas en la infección contra el HIV



Receptores "Scavenger" en Inmunidad Innata

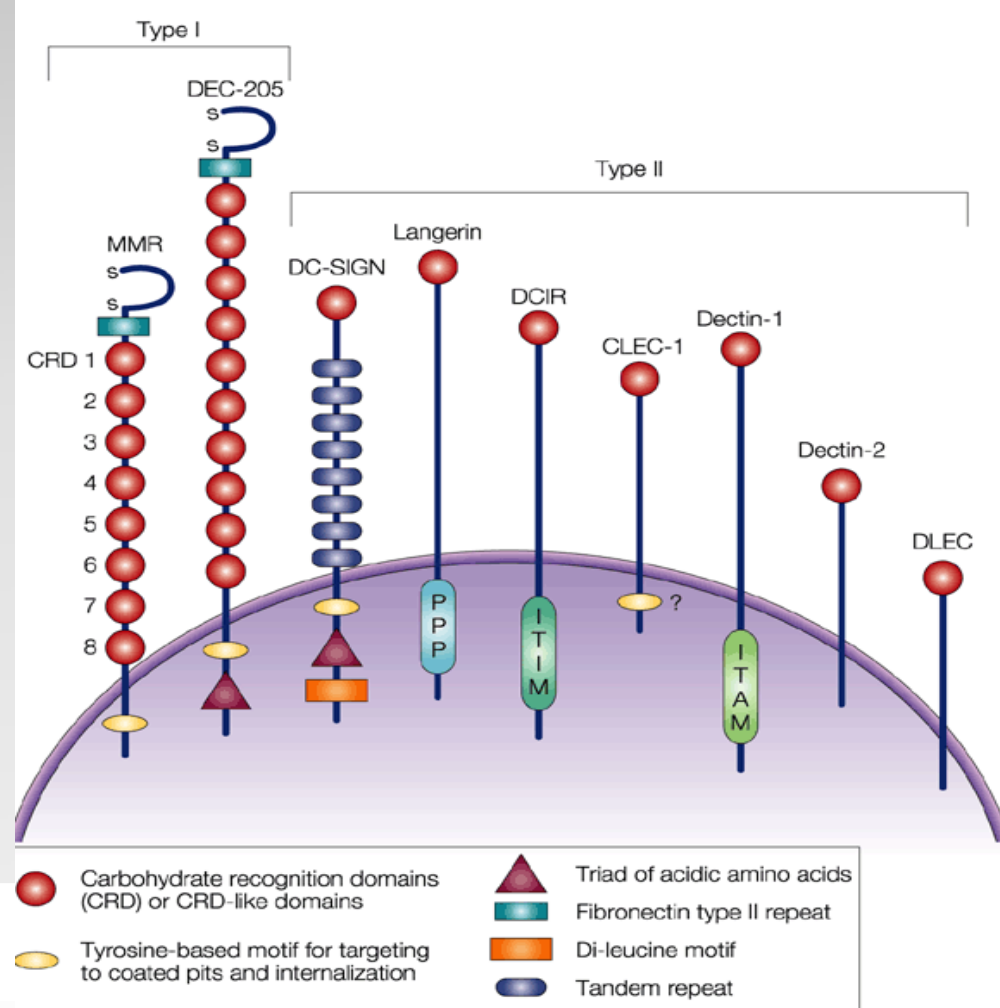
- ▶ Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales
- ▶ Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)
- ▶ Interacciones con bacterias
 - SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).



The class A macrophage scavenger receptor

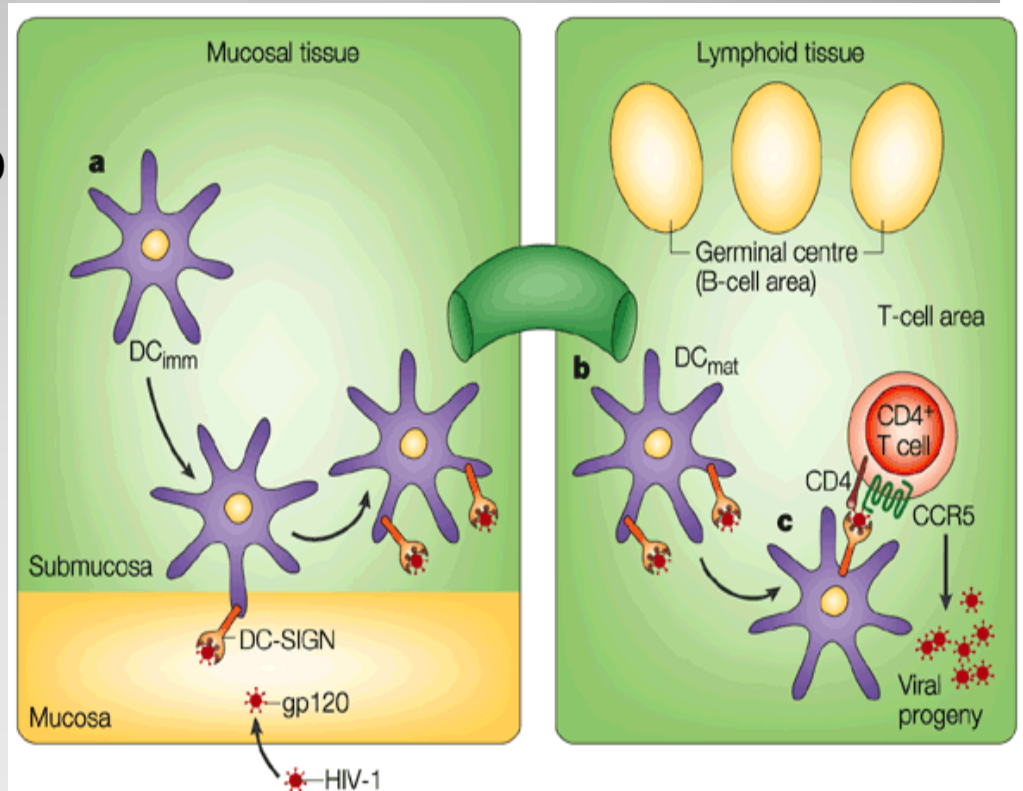
Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

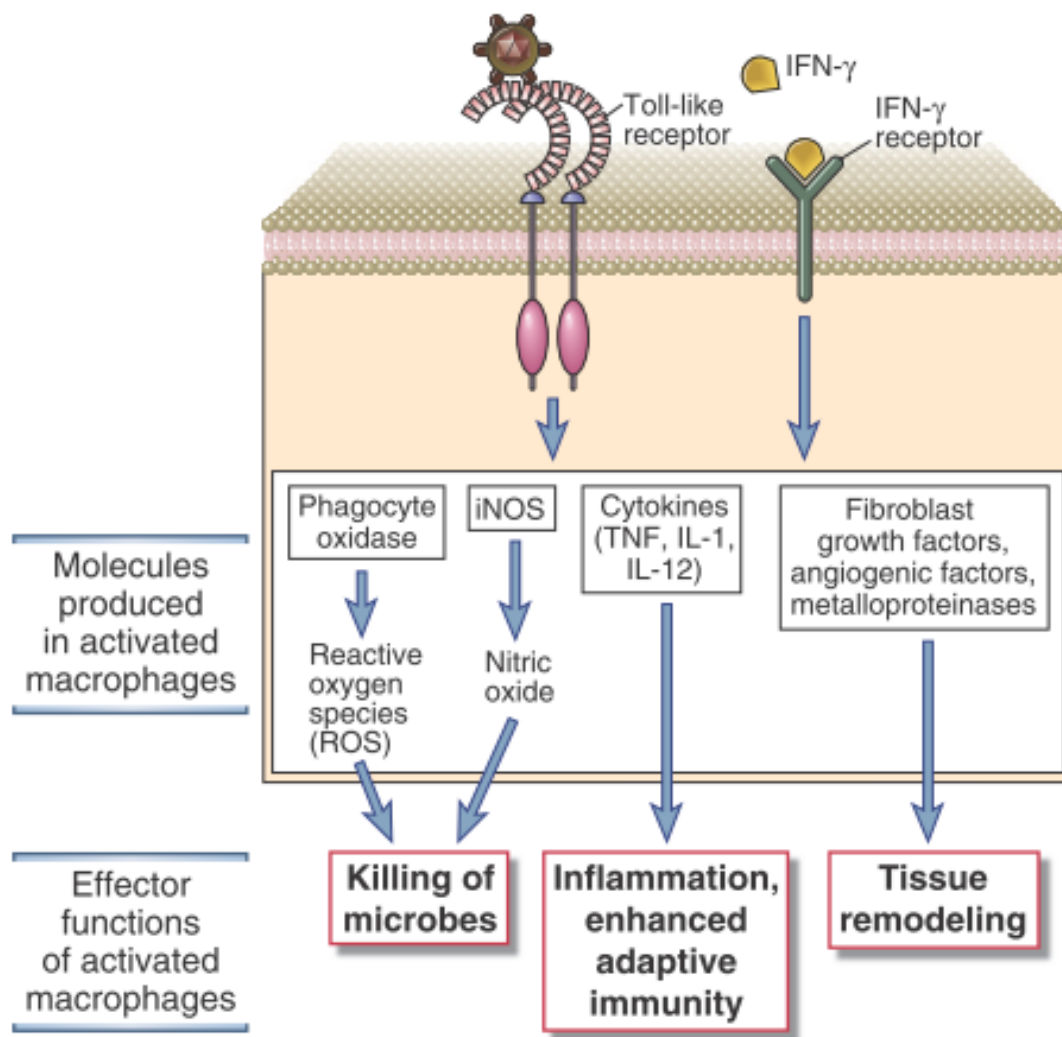
- ▶ Se unen a azúcares en una manera dependiente de Ca utilizando residuos de carbohidratos altamente conservados (CRDs).
- ▶ Algunas lectinas solubles: Surfactante pulmonar (SPA y SPD), llamadas colectinas (colágeno+lectina).
- ▶ Al unirse a sus ligandos, las colectinas se asocian a receptores en la membrana promoviendo la fagocitosis



Receptores 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.





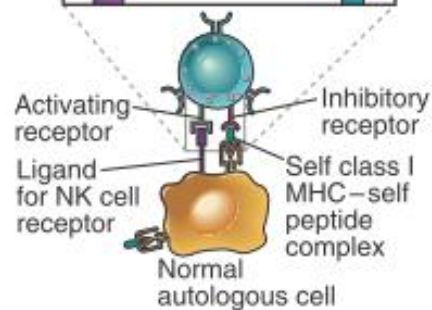
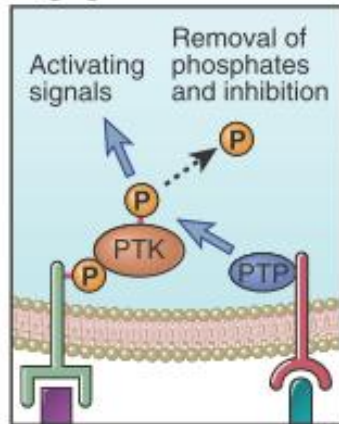
Papel de los macrófagos en la Inmunidad Innata

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: IFN- γ , TNF- α , Linfotoxina, IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-13, IL-10, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , entre otras.
- ▶ Deficiencia de NK, infecciones virales severas
- ▶ Resistencia contra: *L. monocitogenes*, malaria, *T. gondii*, *Leishmania*.

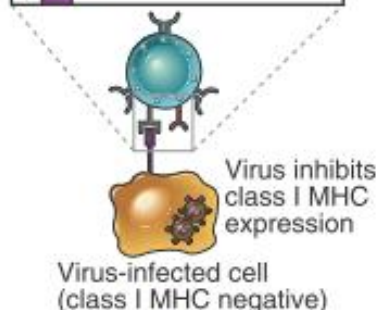
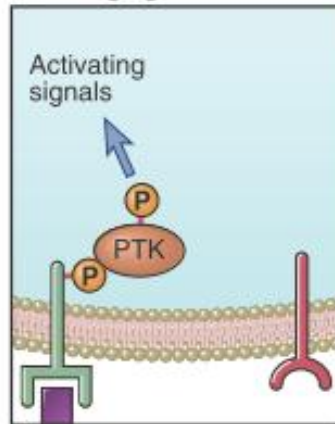
Activación de NK

A Inhibitory receptor engaged



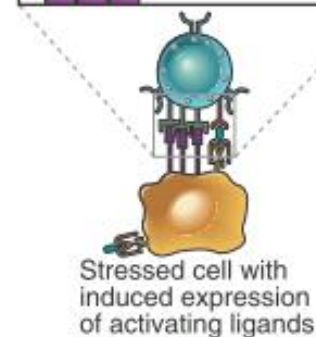
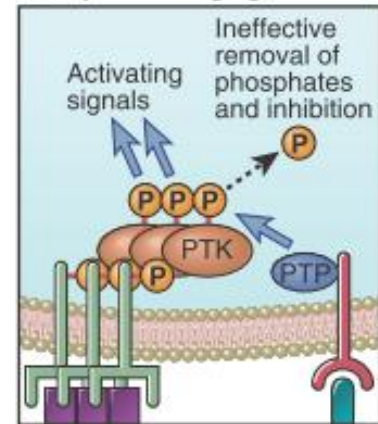
**NK cell
not activated;
no cell killing**

B Inhibitory receptor not engaged



**NK cell activated;
killing of
infected cell**

C Multiple activating receptors engaged



**NK cell activated;
killing of
stressed cell**

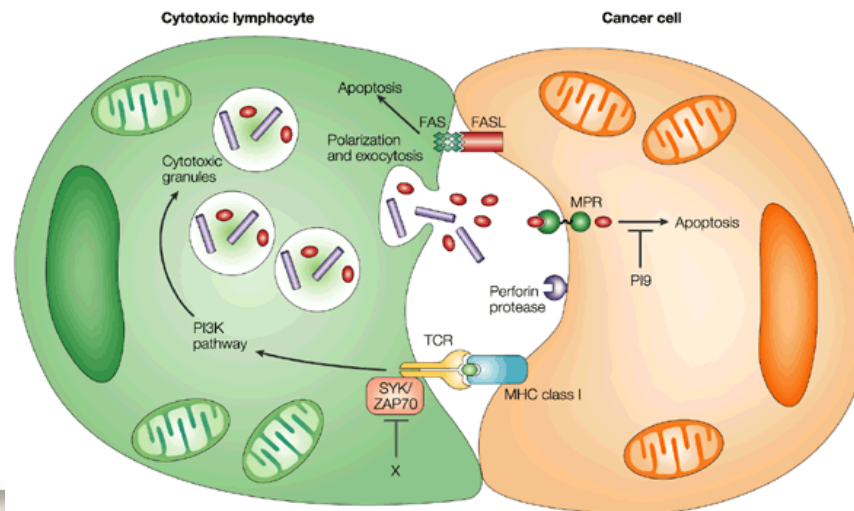
Citotoxicidad

► CD8 citotóxicas

- Educadas para reconocer péptidos
- Gránulos citolíticos formadores de poros
- Poseen perforina análogo al C9, granzime (neoformada)
- Citotóxicidad vía FasL
- Pico máximo de activación 5-8 días

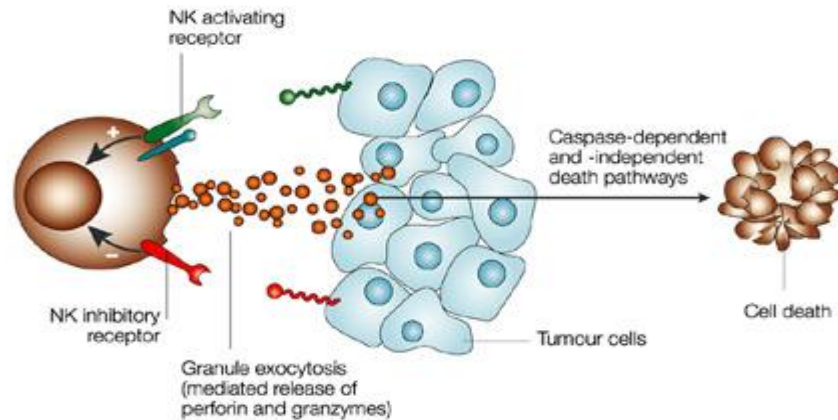
► Células NK

- Reconocen MHC propias
- Gránulos citolíticos formadores de poros
- Poseen perforina análogo al C9, granzime (constitutivamente)
- Citotóxicidad vía FasL
- Pico máximo de activación 1-3 días

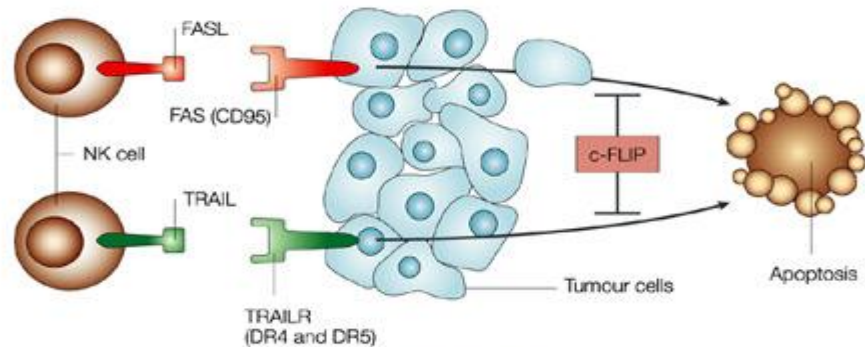


Lisis mediada por NK

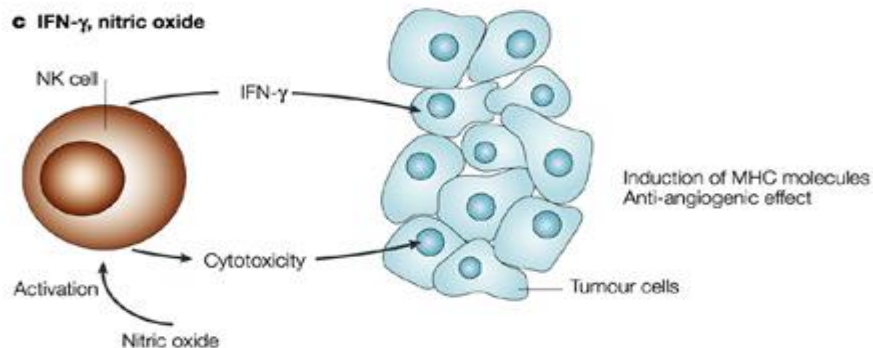
a Granule exocytosis pathway



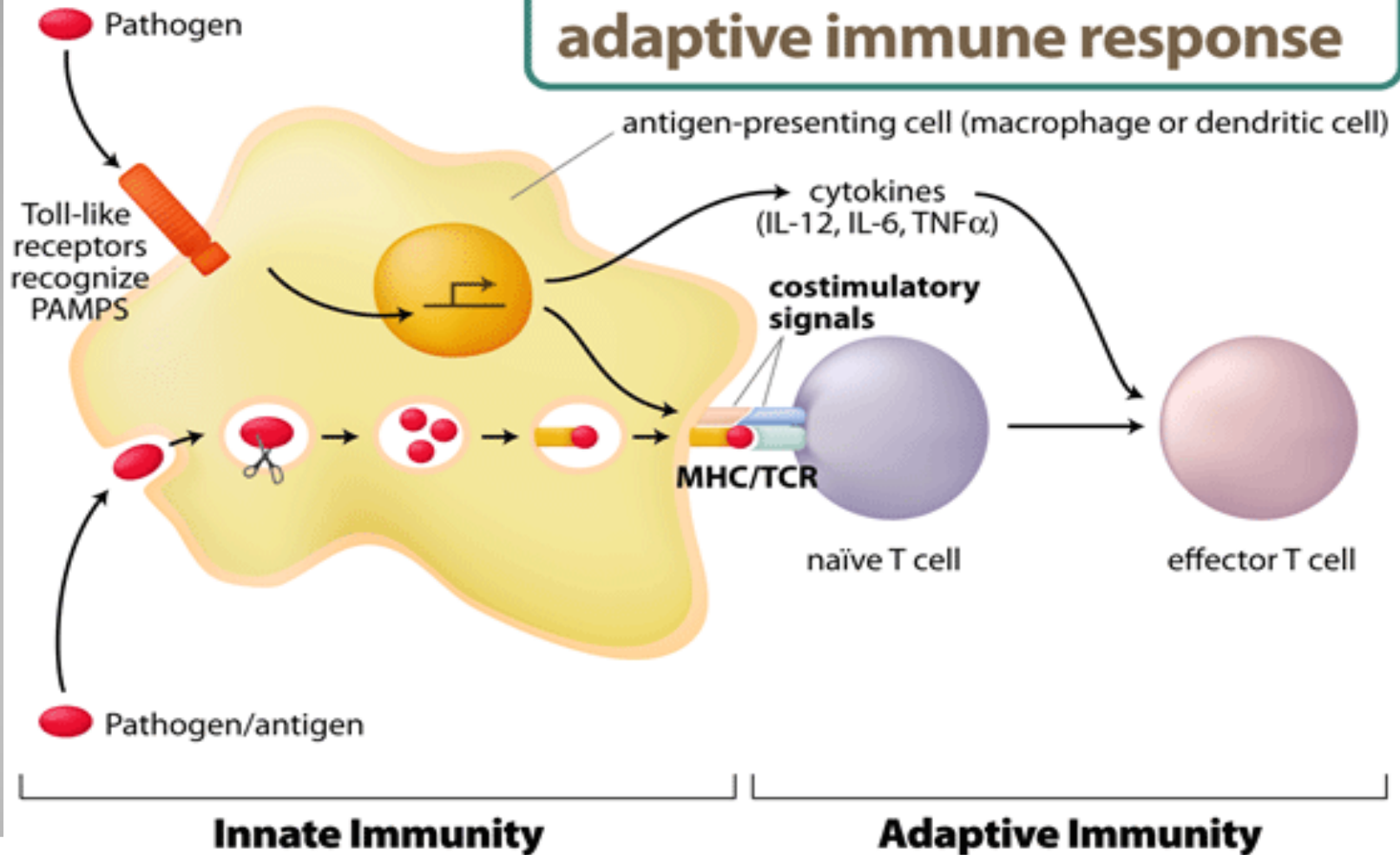
b Death-receptor pathway



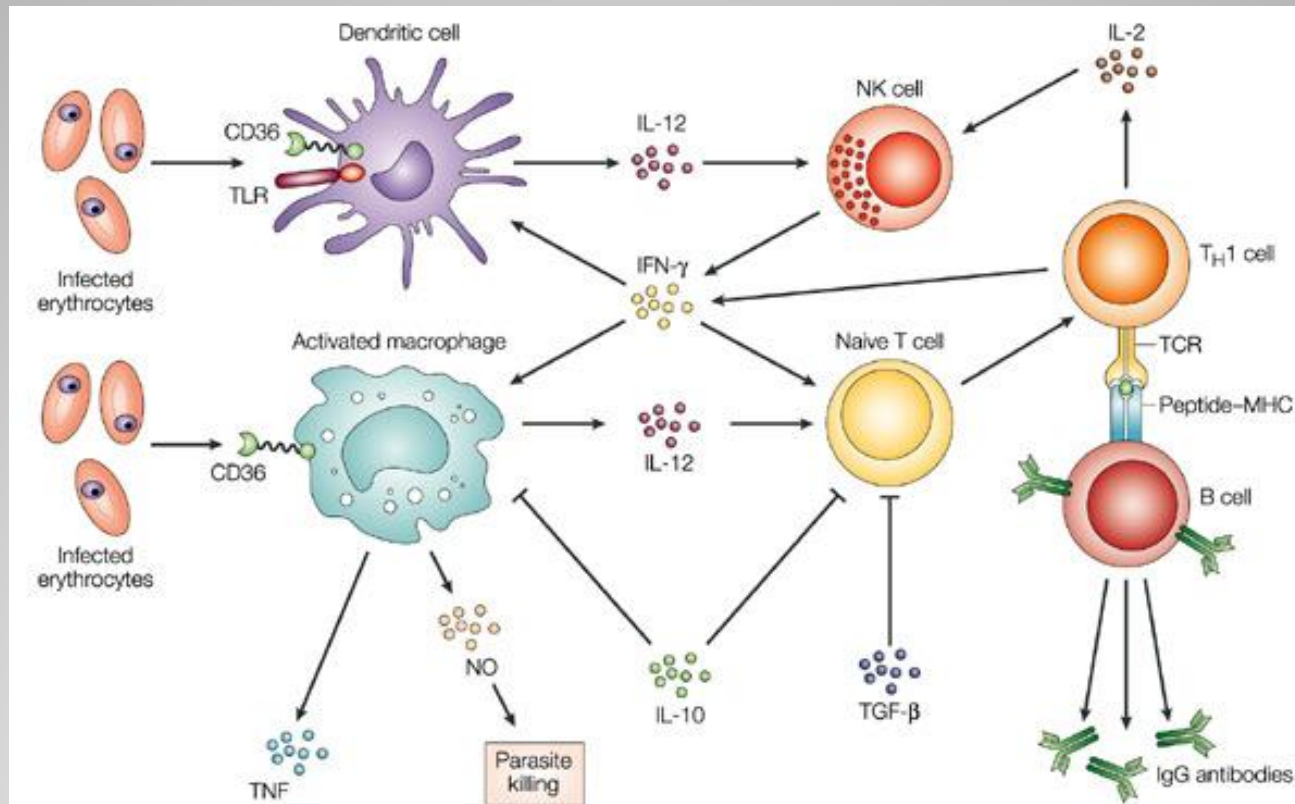
c IFN- γ , nitric oxide



Innate immunity is critical to adaptive immune response



Conexión Respuesta inmune innata y respuesta inmune adaptativa



Tráfico de CD mediado por quimiocinas

