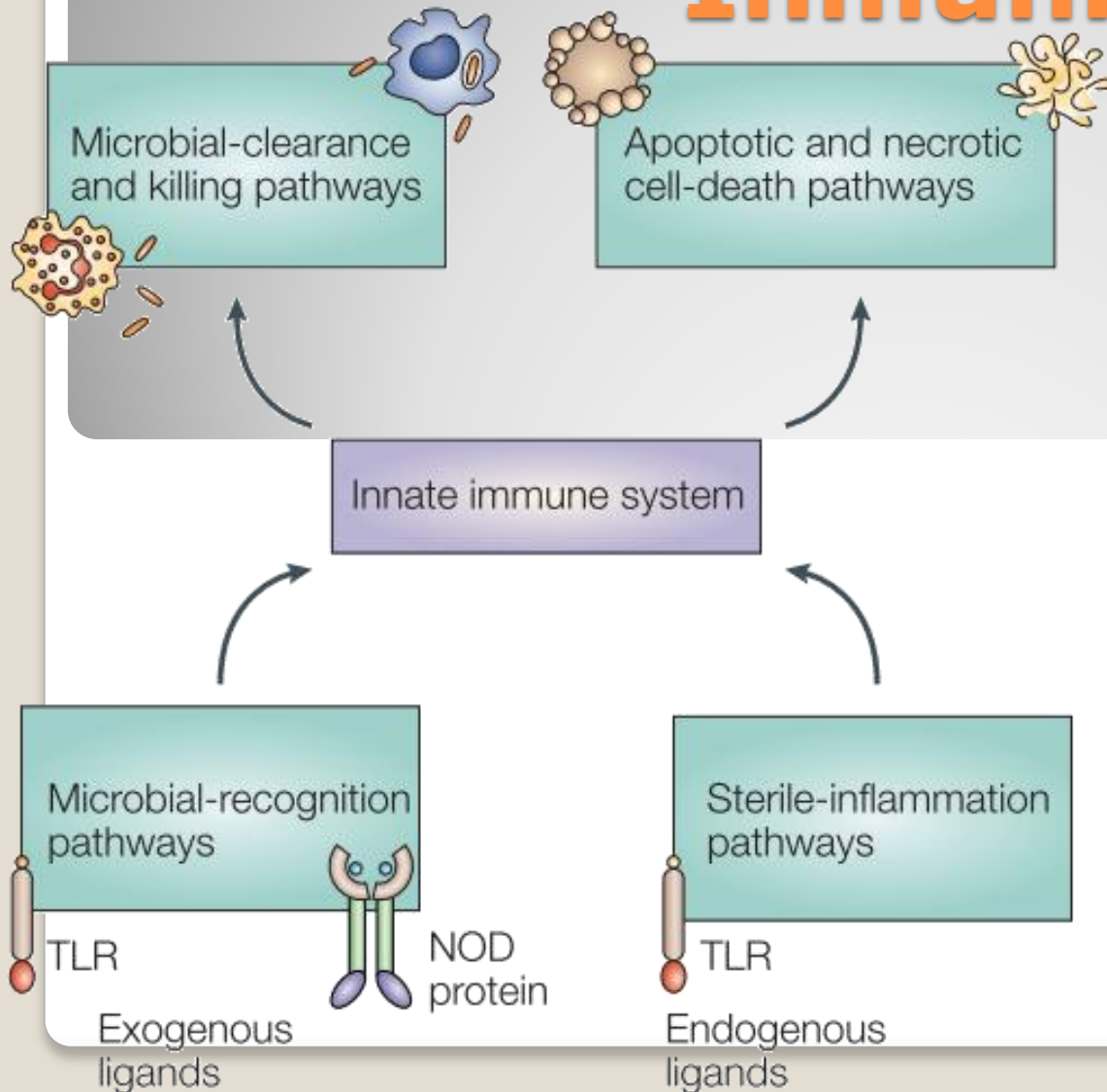


Fisiología de la RI: Inmunidad Innata



Luisa Barboza
IDIC-ULA 2015

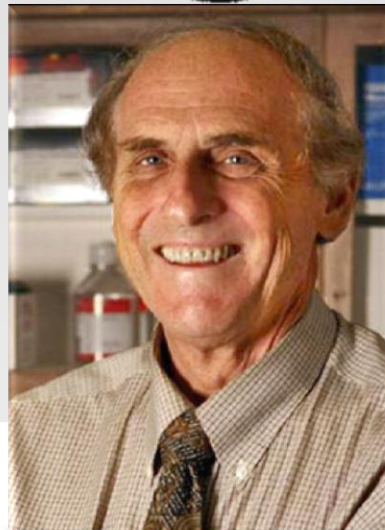
Premio Nobel en Fisiología y Medicina 2011



Jules Hoffmann



Bruce Beutler

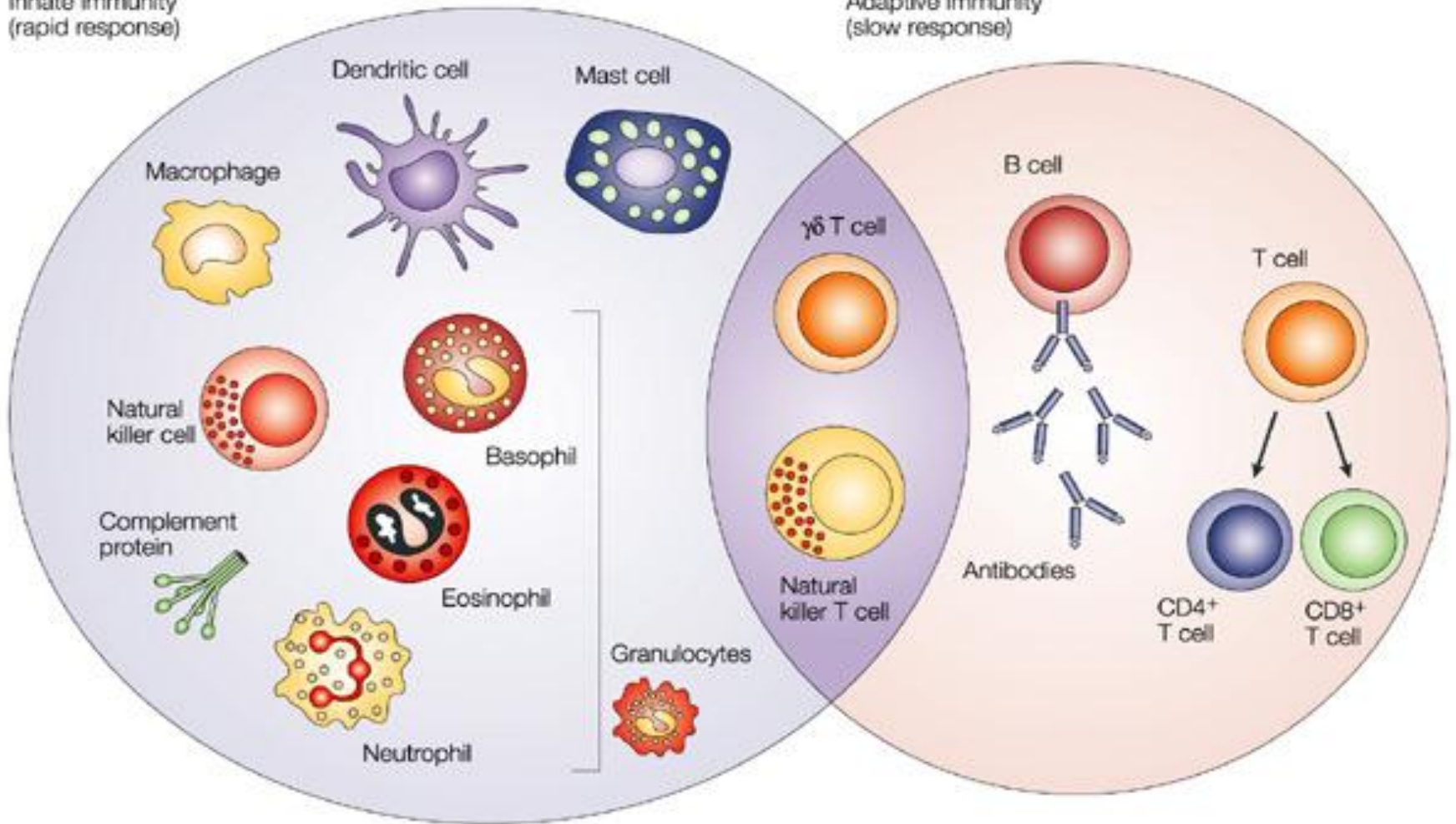


Ralph Steinman

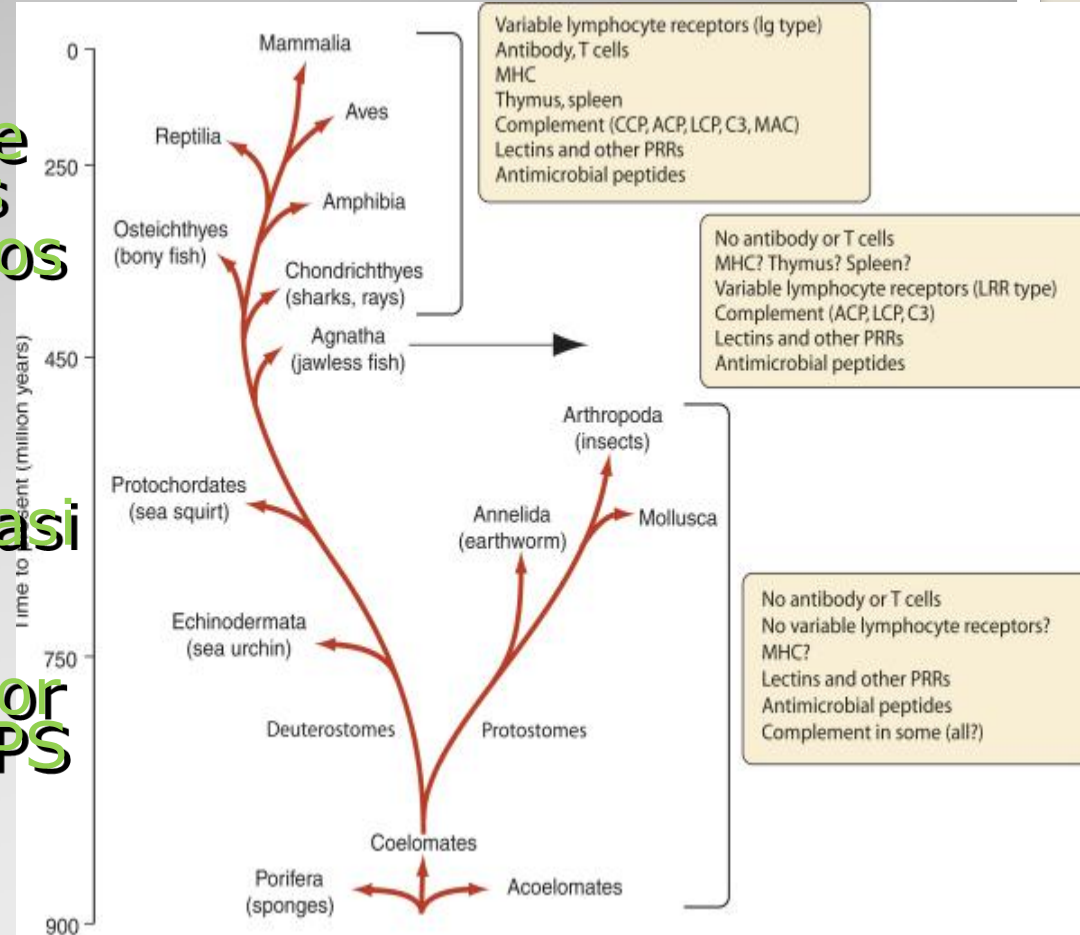
Tipos de respuesta inmune

Innate immunity
(rapid response)

Adaptive immunity
(slow response)

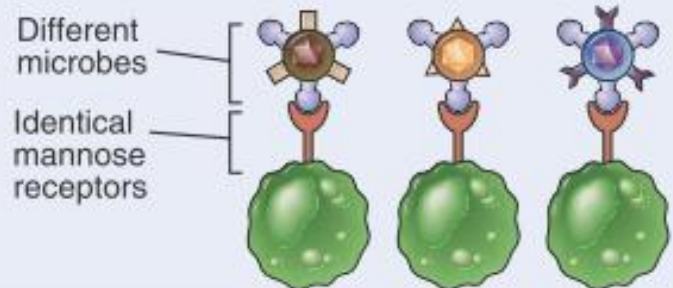
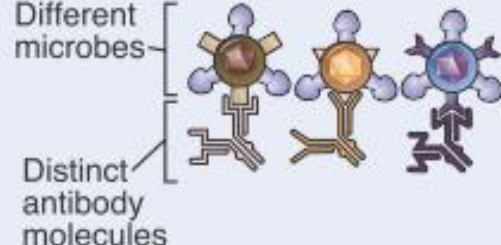
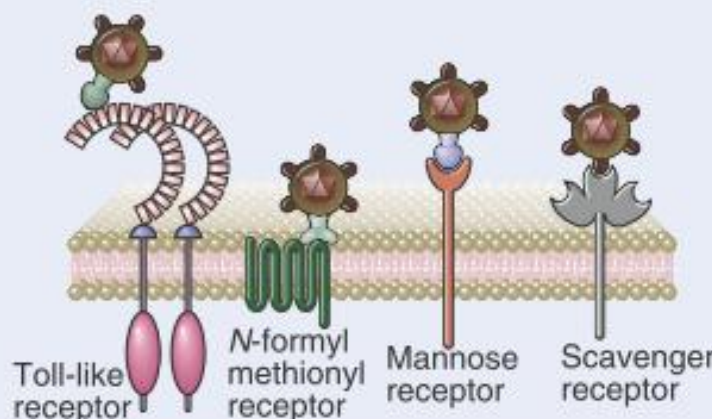
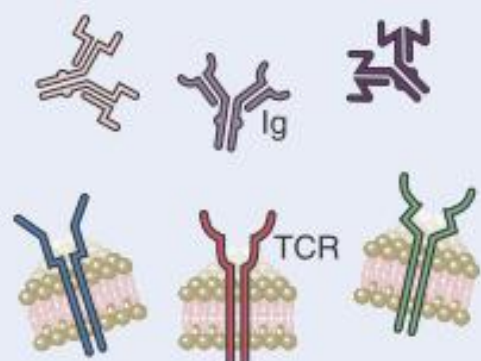


- Sistema muy conservado y evolucionado presente en plantas y animales
- Principales mecanismos de acción:
 - Inflamación
 - Respuesta antivírica
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales
- Reconocimiento de patógenos mediado por receptores: PAMPs (LPS y CpG de ADN bacteriano)



Sistema inmune innato

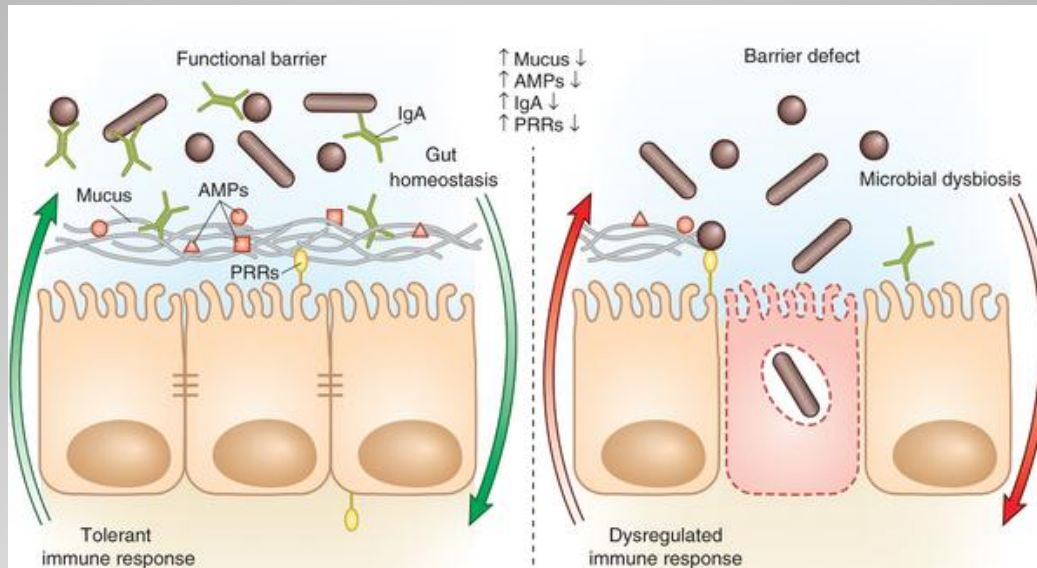
TABLE 4-1 Specificity of Innate and Adaptive Immunity

| | Innate Immunity | Adaptive Immunity |
|-------------------------------------|--|--|
| Specificity | <p>For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns)</p> <p>Different microbes</p> <p>Identical mannose receptors</p>  | <p>For structural detail of microbial molecules (antigens); may recognize nonmicrobial antigens</p> <p>Different microbes</p> <p>Distinct antibody molecules</p>  |
| Receptors | <p>Encoded in germline; limited diversity (pattern recognition receptors)</p>  <p>Toll-like receptor</p> <p>N-formyl methionyl receptor</p> <p>Mannose receptor</p> <p>Scavenger receptor</p> | <p>Encoded by genes produced by somatic recombination of gene segments; greater diversity</p>  <p>Ig</p> <p>TCR</p> |
| 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 | 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, 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

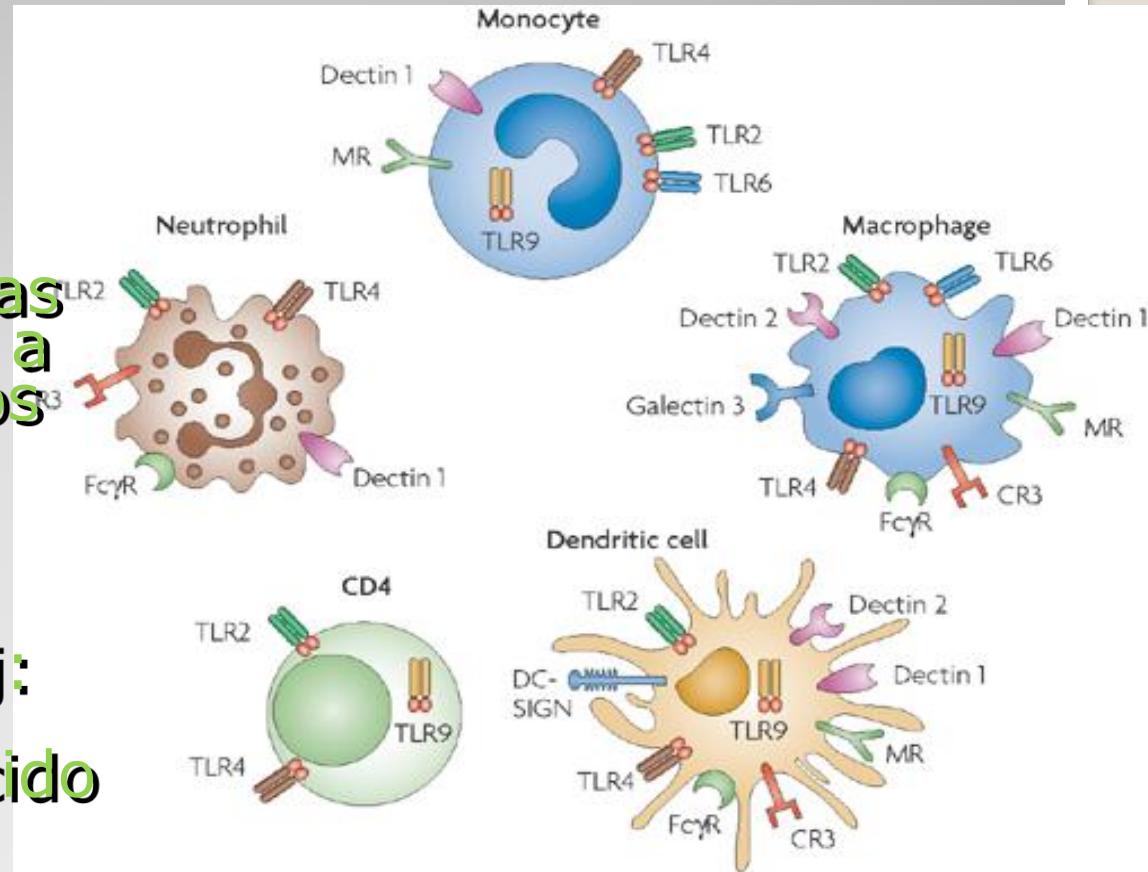
Funciones del sistema innato



- Detección de microorganismos y primera línea de defensa frente a la infección e invasión
- Regulación de la inflamación
- Mantenimiento de la homeostasis inmunológica
- Activación e instrucción de la respuesta inmunitaria adaptativa

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

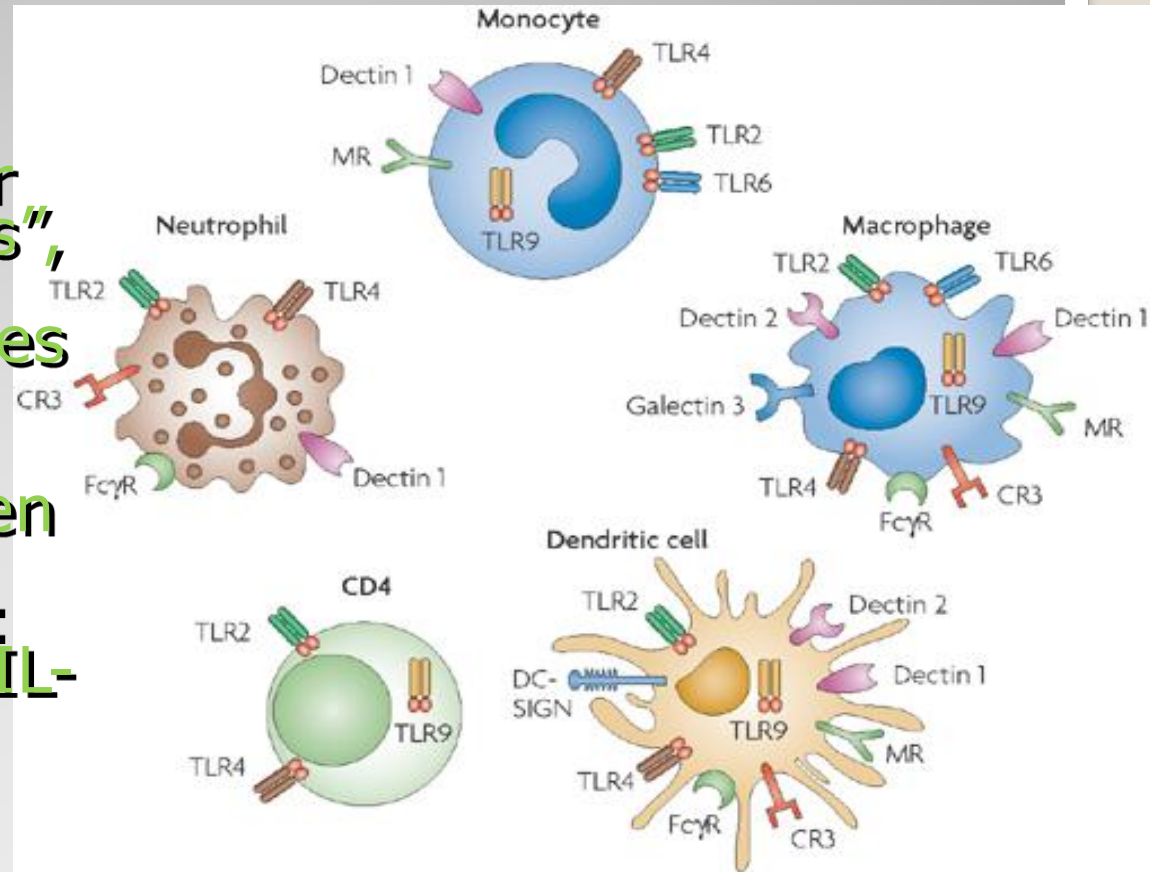


Nature Reviews | Microbiology

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

Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos

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

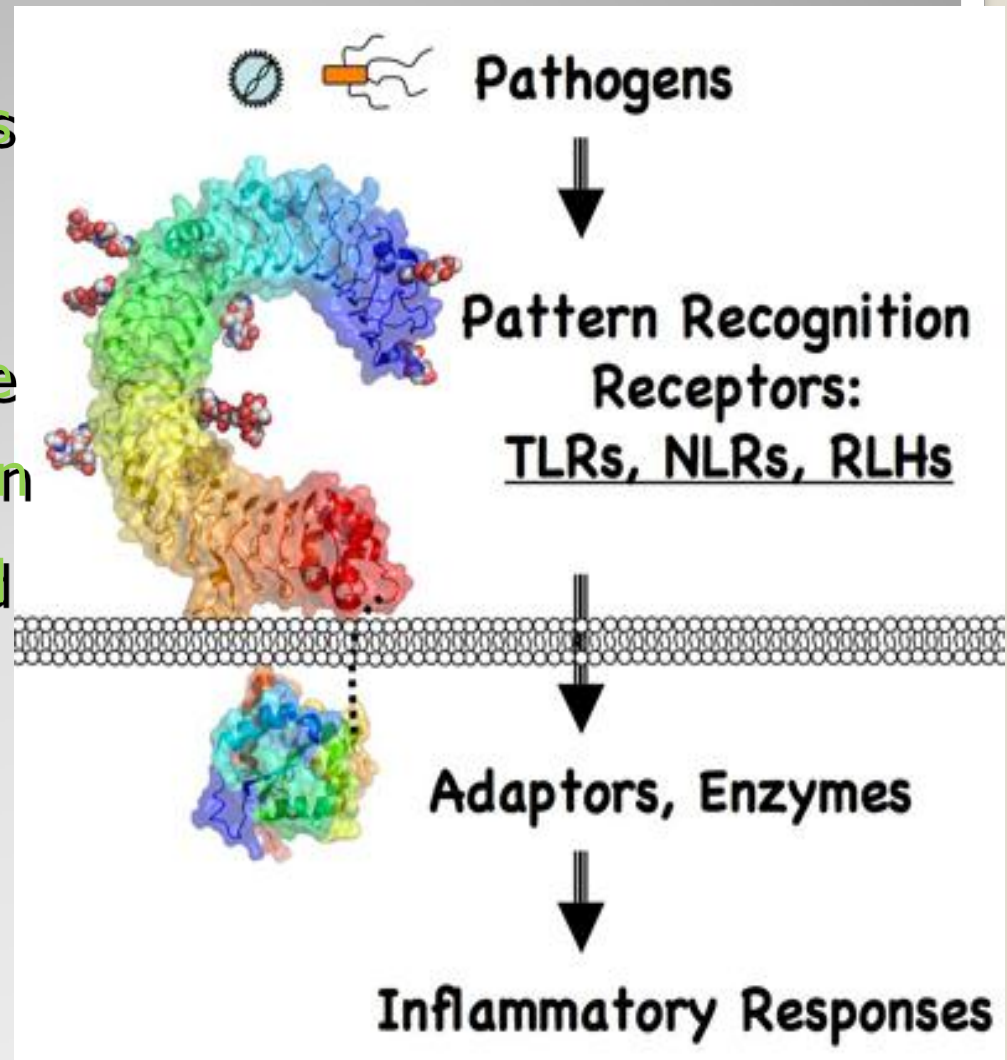
| Family | Member (major ligand) |
|-------------------------|--|
| TLRs | TLR1 (triacyl lipopeptides), TLR2 (LTA ^a , zymosan, lipopeptides), TLR3 (dsRNA, polyI:C), TLR4 (LPS), TLR5 (flagellin), TLR6 (diacyl lipopeptides), TLR7 (ssRNA, R848), TLR8 (ssRNA, R848), TLR9 (CpG-DNA), TLR11 (profillin-like 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.

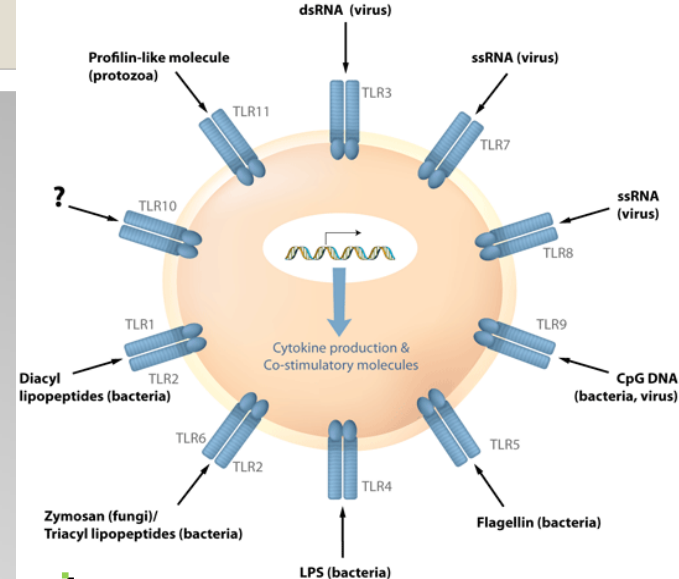
Pasare C. And Medzhitov R. Curr Opin Immunol, 2003, 15:1-6.

Goldstein DR. Curr Opin Immunol. 2004)

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

Beutler B. Blood 2009

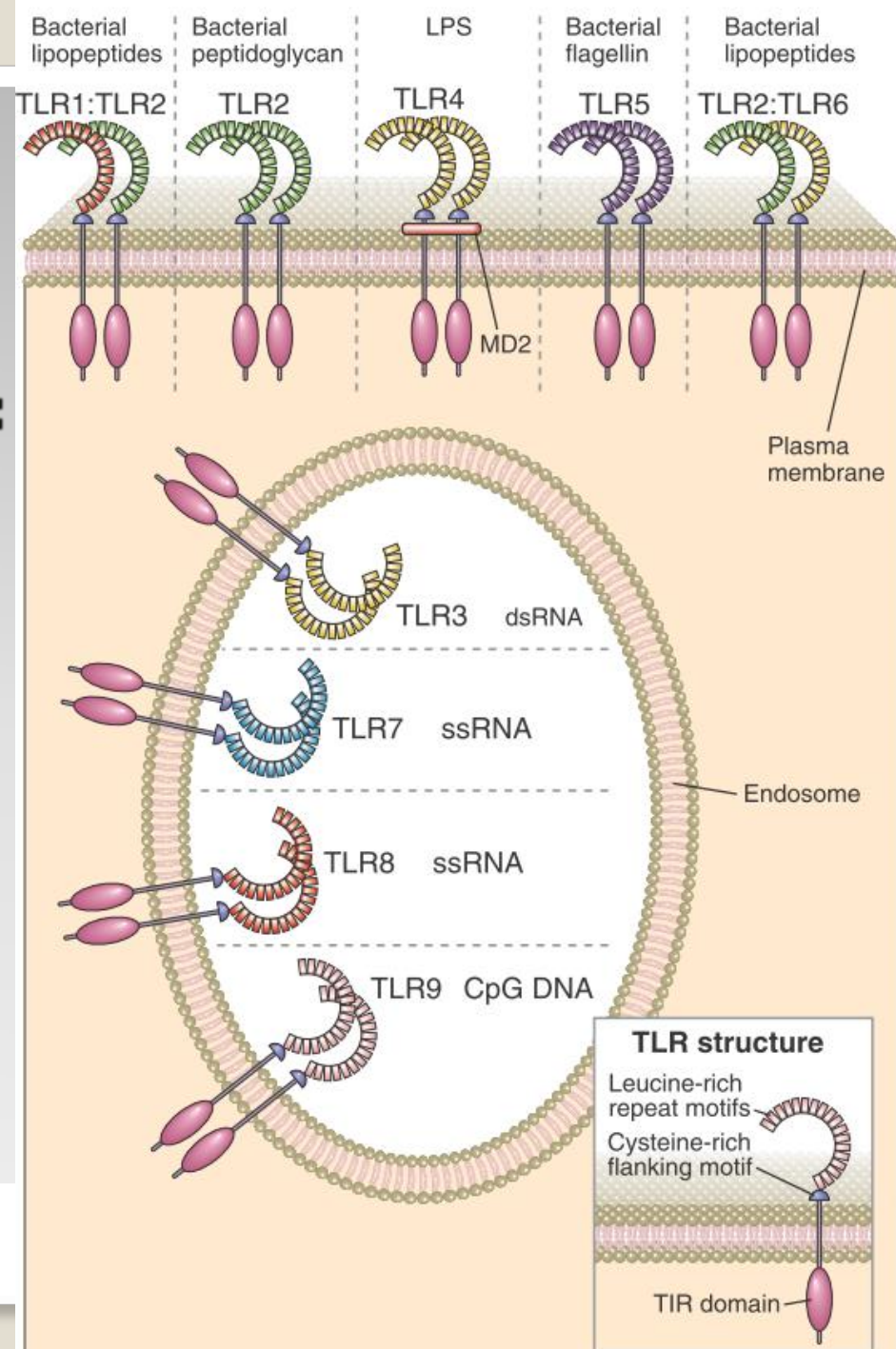
Receptores Toll (TLR)



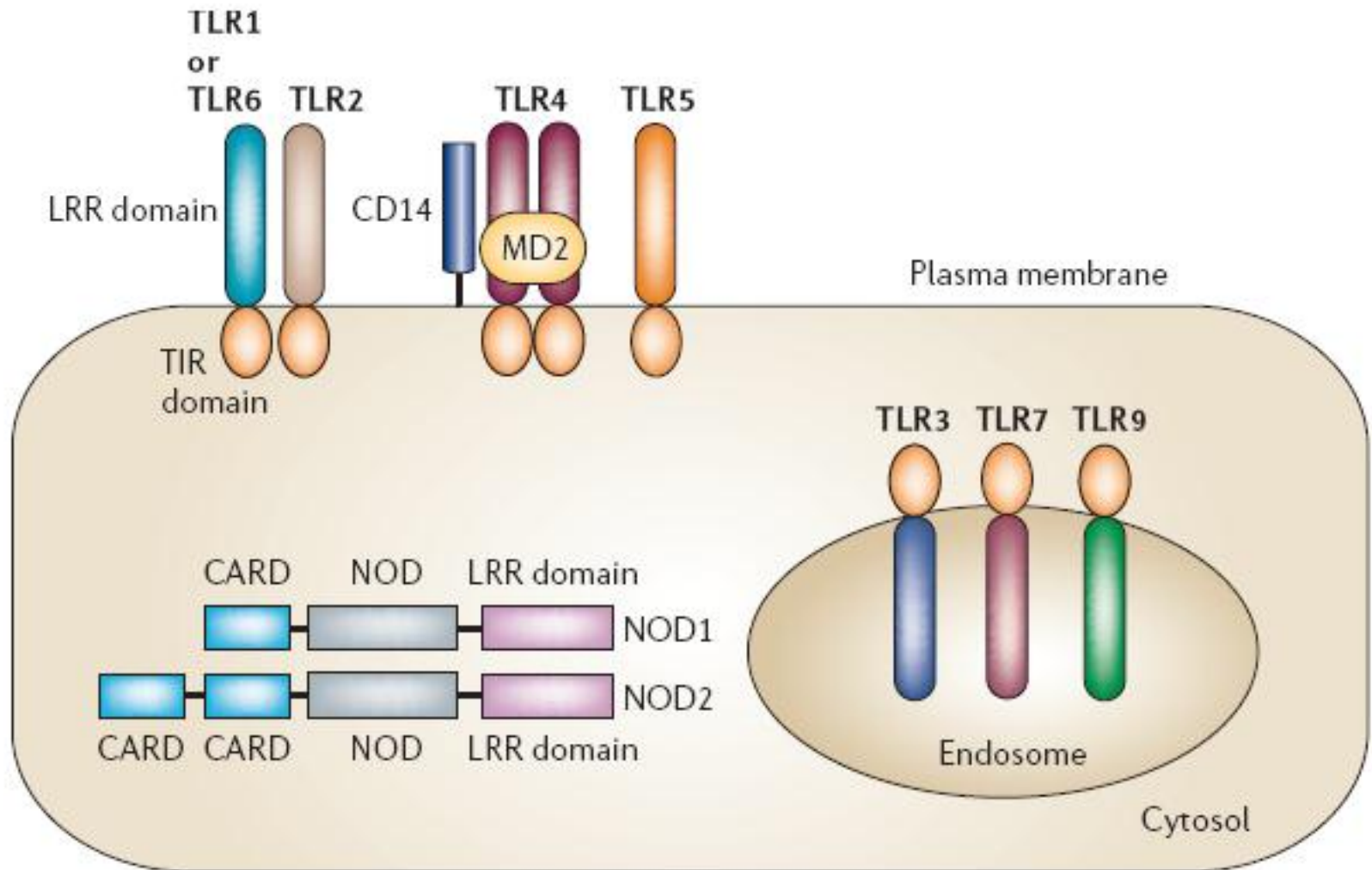
- ▶ Reconocen bacterias, hongos y virus
- ▶ Reconocimiento de motivos altamente conservados: patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS)
- ▶ 13 receptores Toll hasta ahora descritos
- ▶ Dominio extracelular rico en leucina (LRR)
- ▶ Dominio intracitoplasmático similar al receptor de IL-1 (TIR)
- ▶ 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**

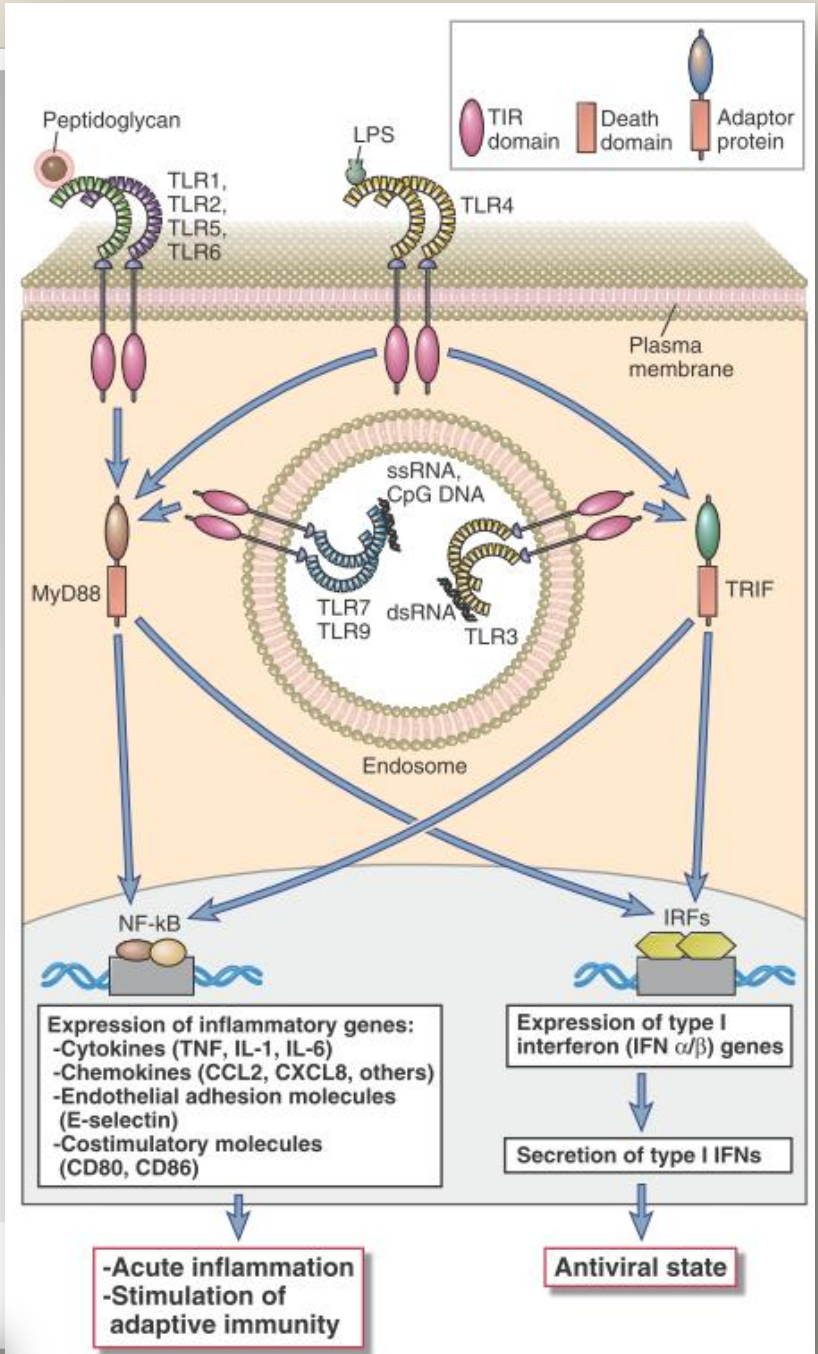
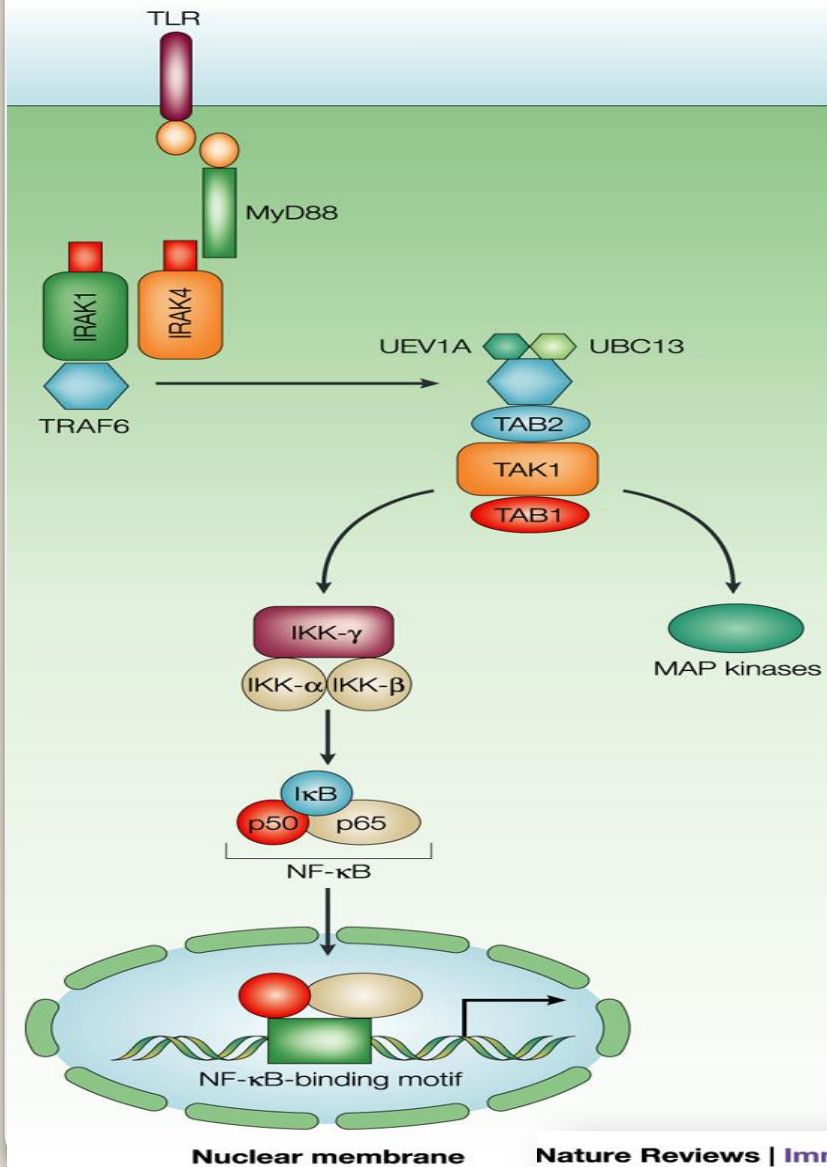


Estructura y localización celular de TLRs y NOD



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

Estructura y señalización vía TLR

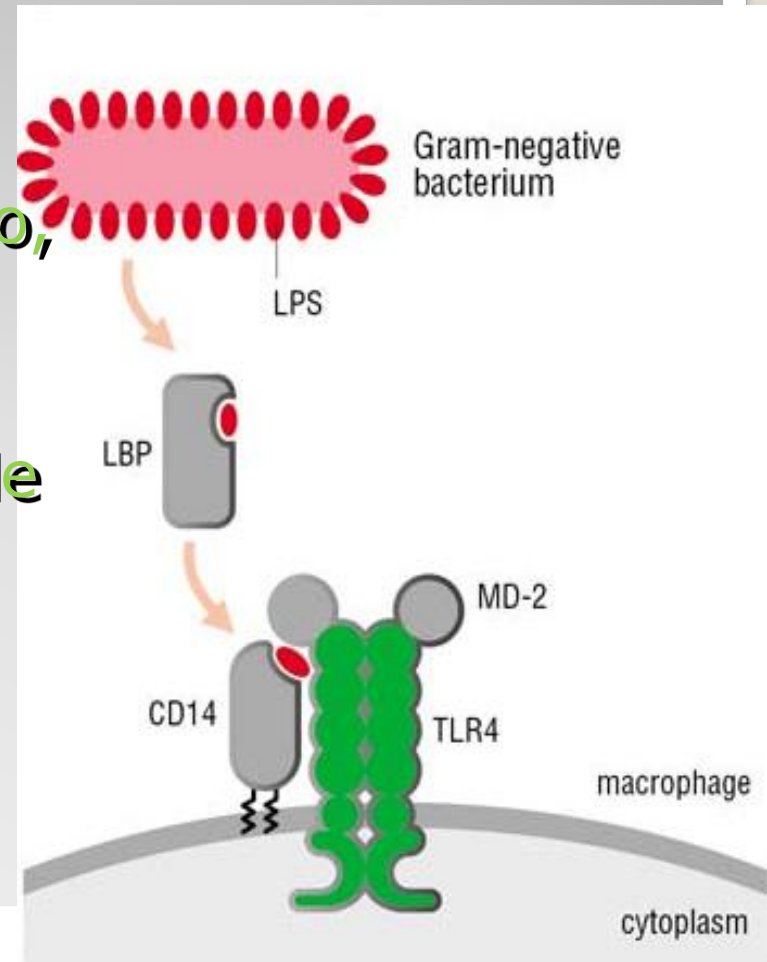


Especificidad de los receptores Toll

| 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



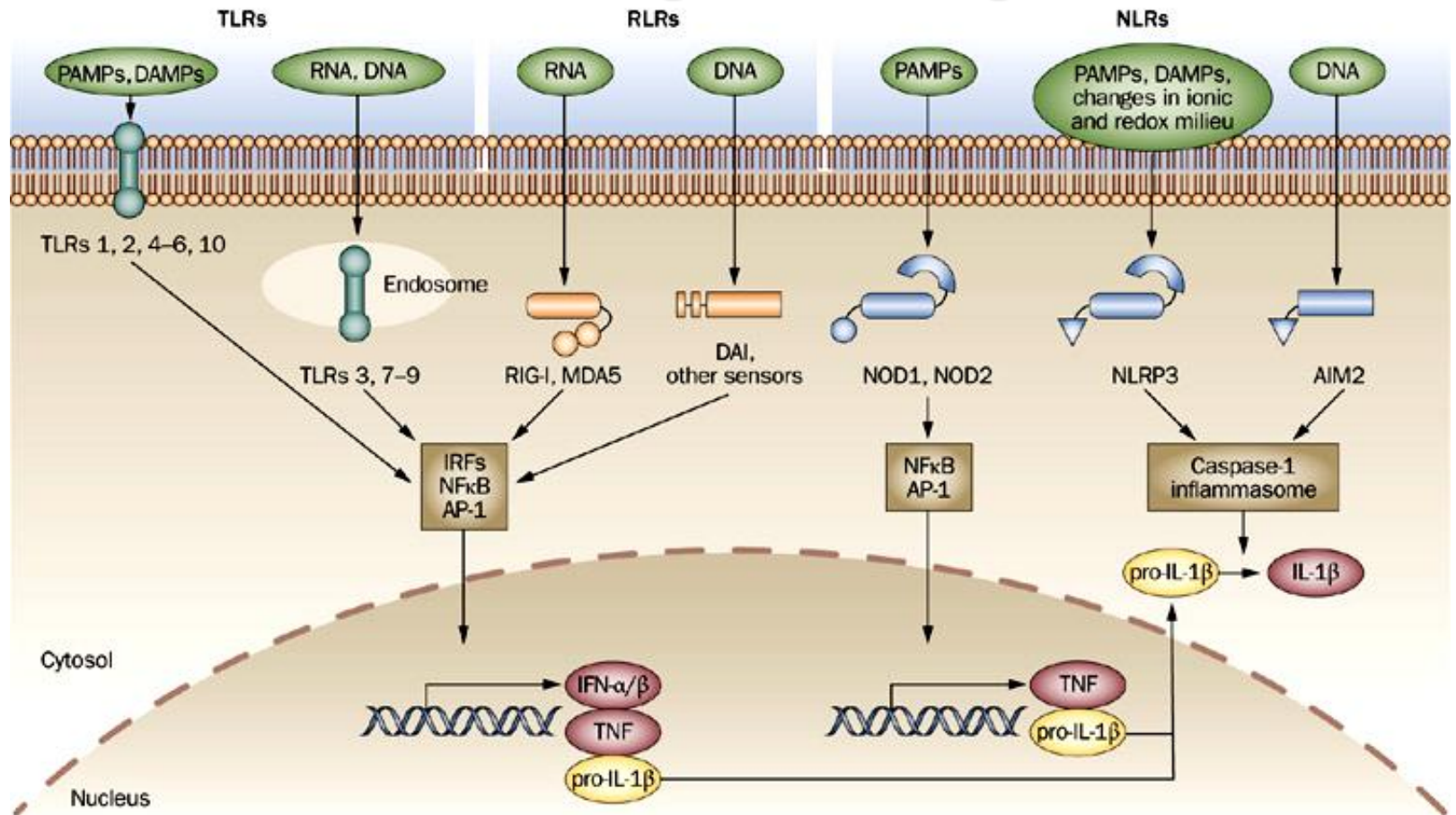
Reconocimiento de PAMPS mediado por TLR

- ▶ **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

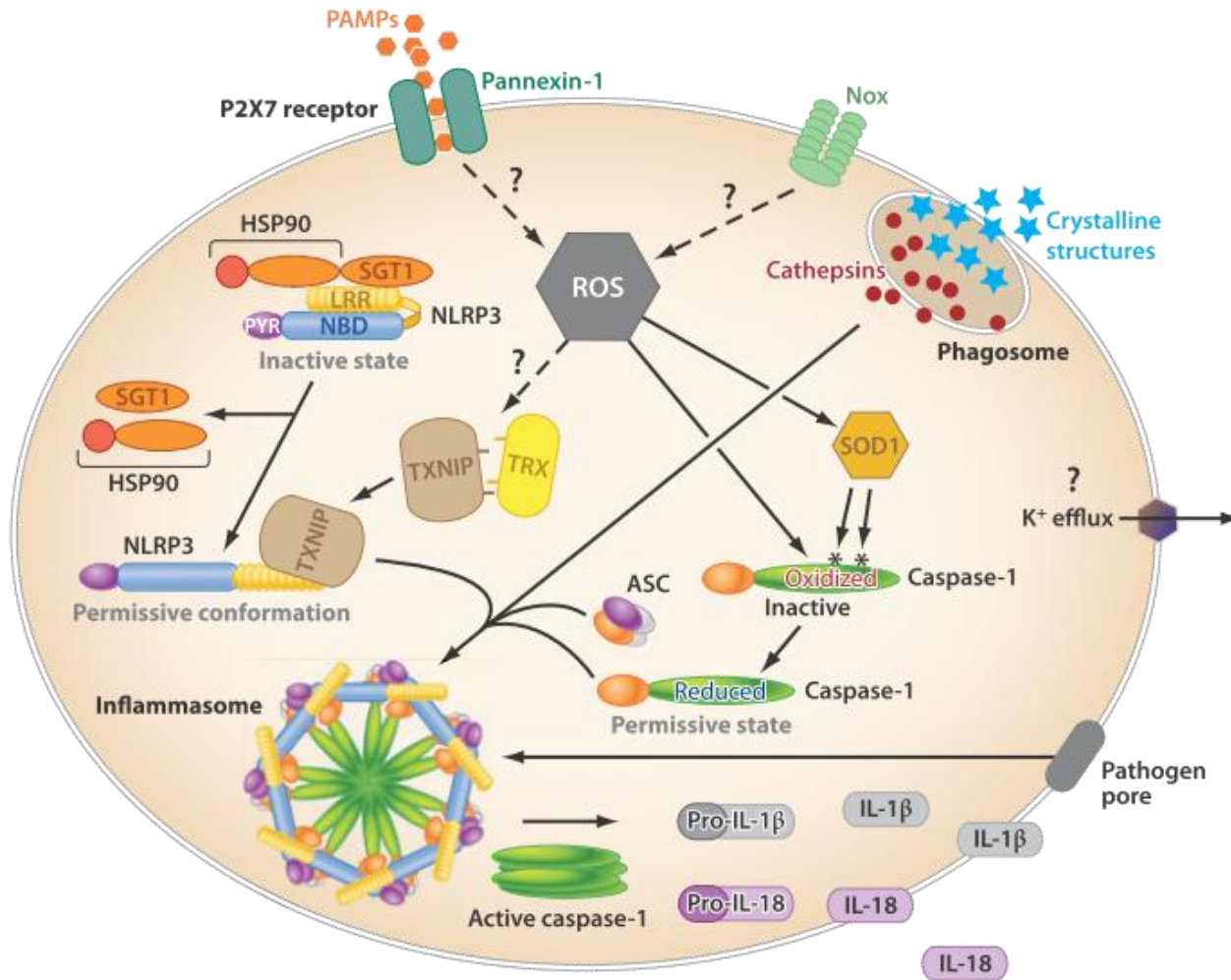
- Familia NLR (NOD) que incluye al menos 23 miembros designados como NOD o NALPS (NACHT, LRR y proteínas que contienen dominios de pyrinas)
- Familia de receptores con dominio de helicasa de ARN unidas a dos dominios de reclutamiento de caspasas (CARDS): RIG1 (gen inducible por ácido retinoico) y gen 5 asociado a melanoma de diferenciación (MDA5)

Receptores citoplasmáticos

Patrones moleculares asociados a daño (DAMPs)



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 (SOJIA) | 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 |

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

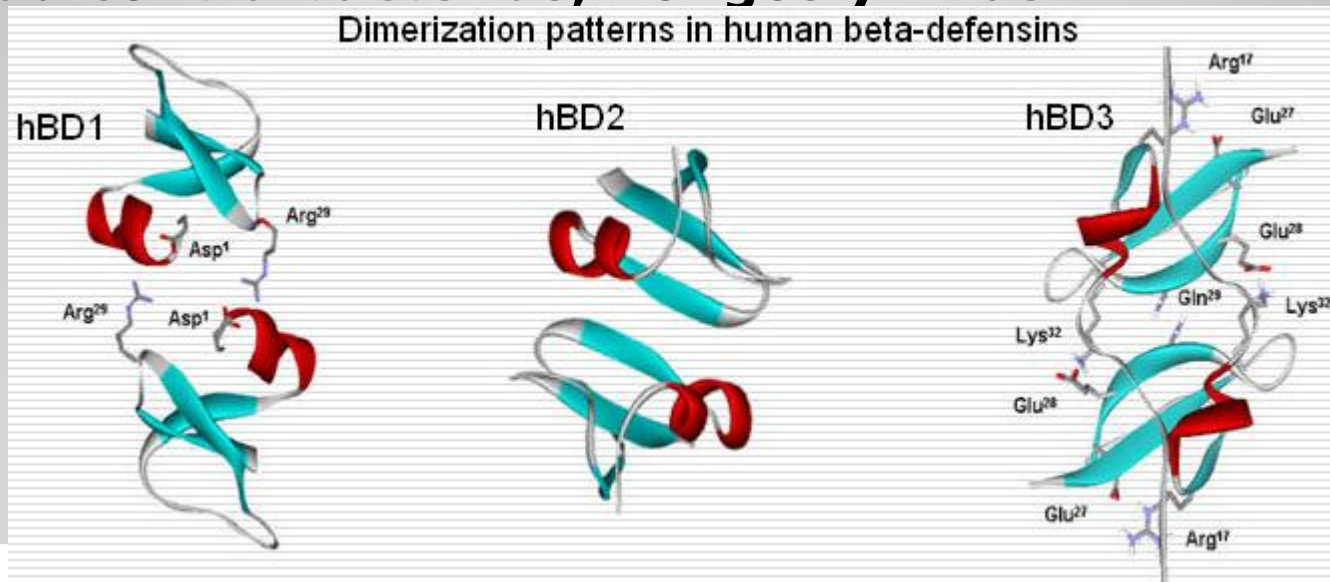
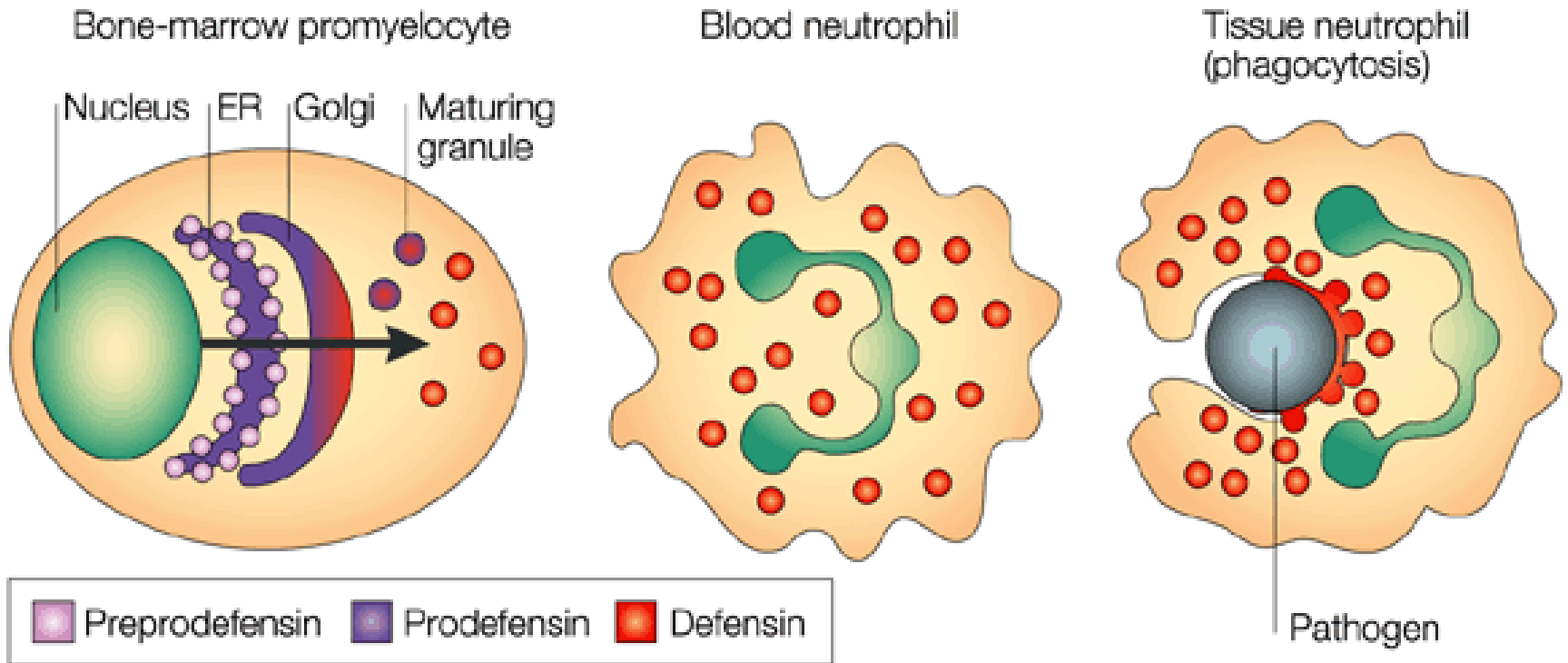


Table 1 | **Distribution and source of defensins**

| 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 |

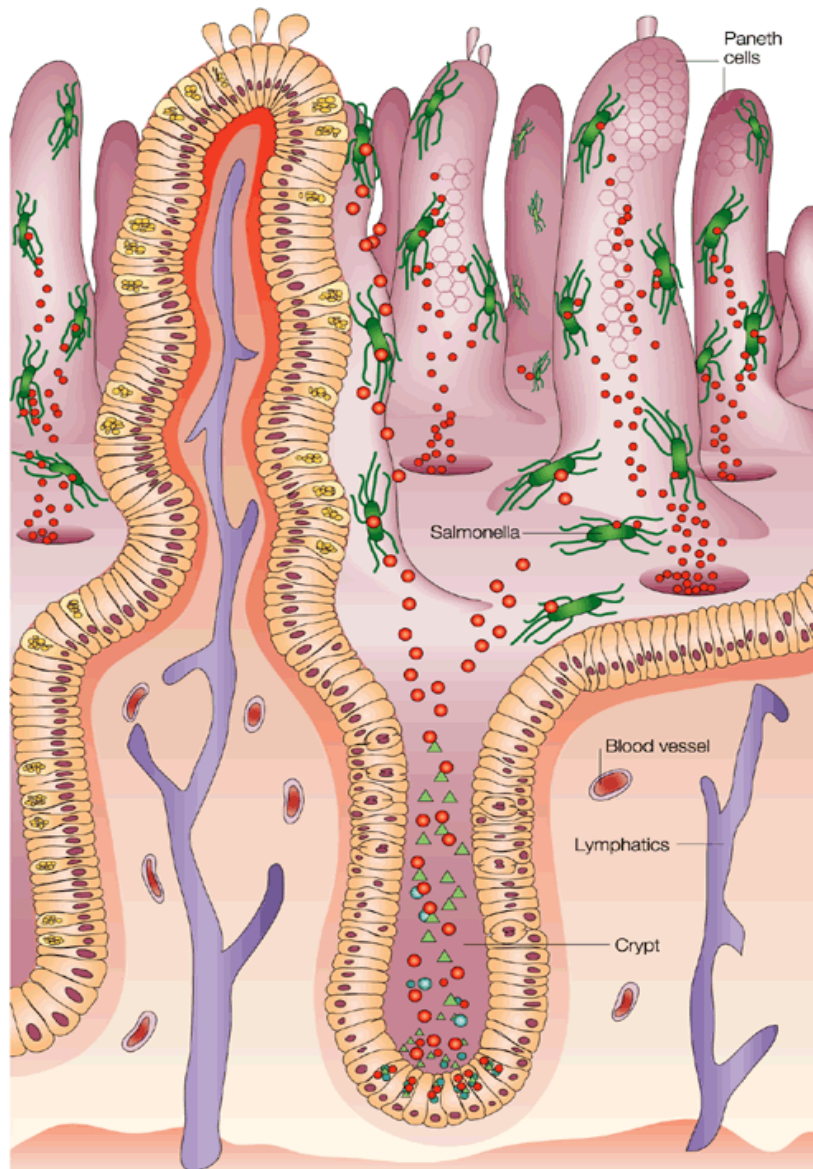
*Main cellular source. HBD, human β -defensin; HD, human α -defensin; HNP, human neutrophil peptide; IL-1 β , interleukin-1 β ; PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate; TNF, tumour-necrosis factor.

Síntesis y liberación de defensinas



HNP: defensina α , péptido de los neutrófilos humanos

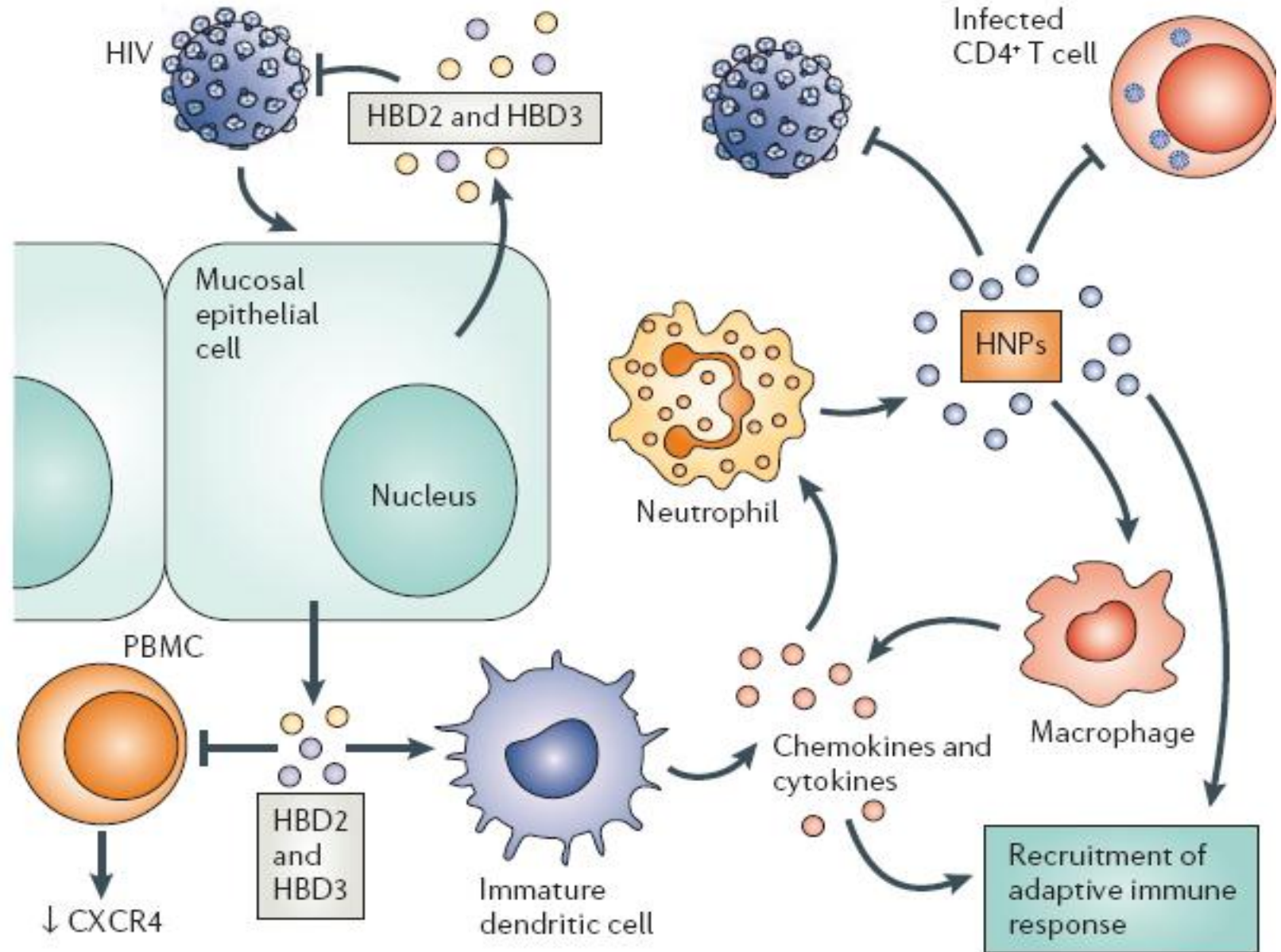
Nature Reviews | Immunology



Nature Reviews | Immunology

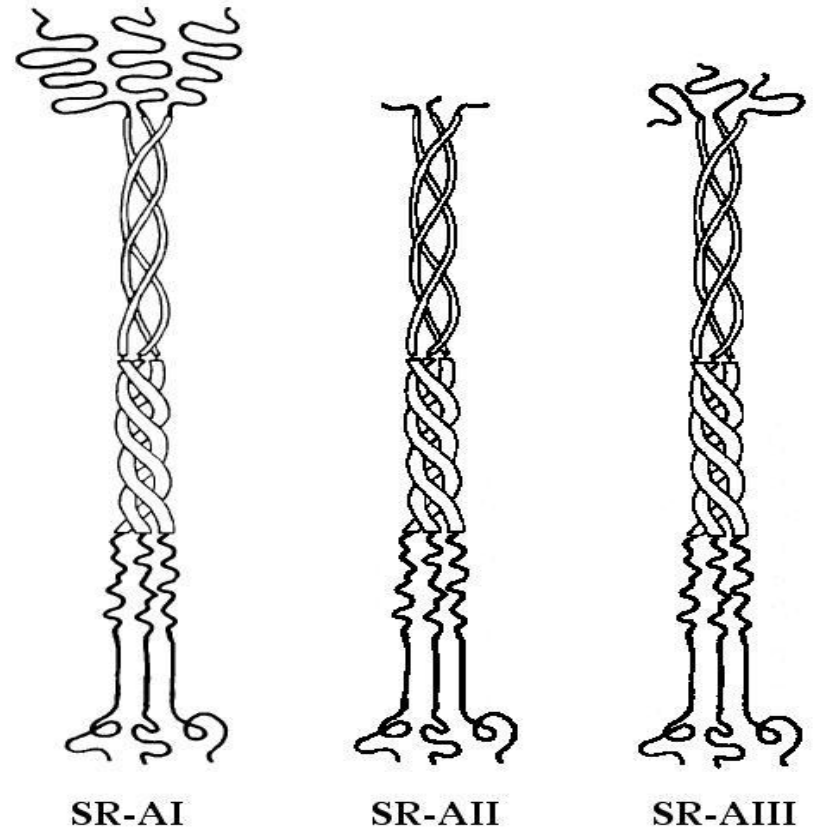
Acción bactericida de las defensinas:
papel de la prodefensina 5, defensina 5 y tripsina a nivel de las criptas

Papel de las defensinas en la infección contra el HIV



Receptores "Scavenger" en Inmunidad Innata

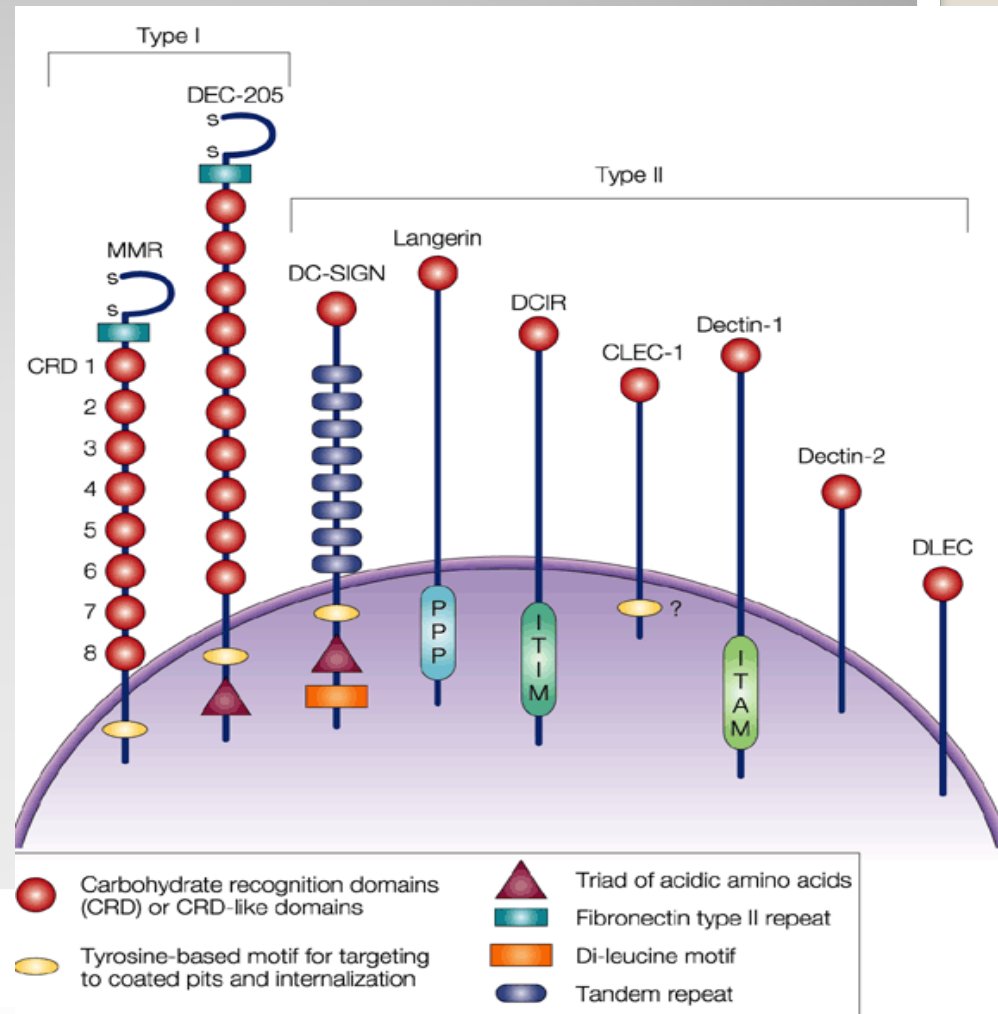
- ▶ Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales
- ▶ Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)
- ▶ Interacciones con bacterias
 - SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).



The class A macrophage scavenger receptor

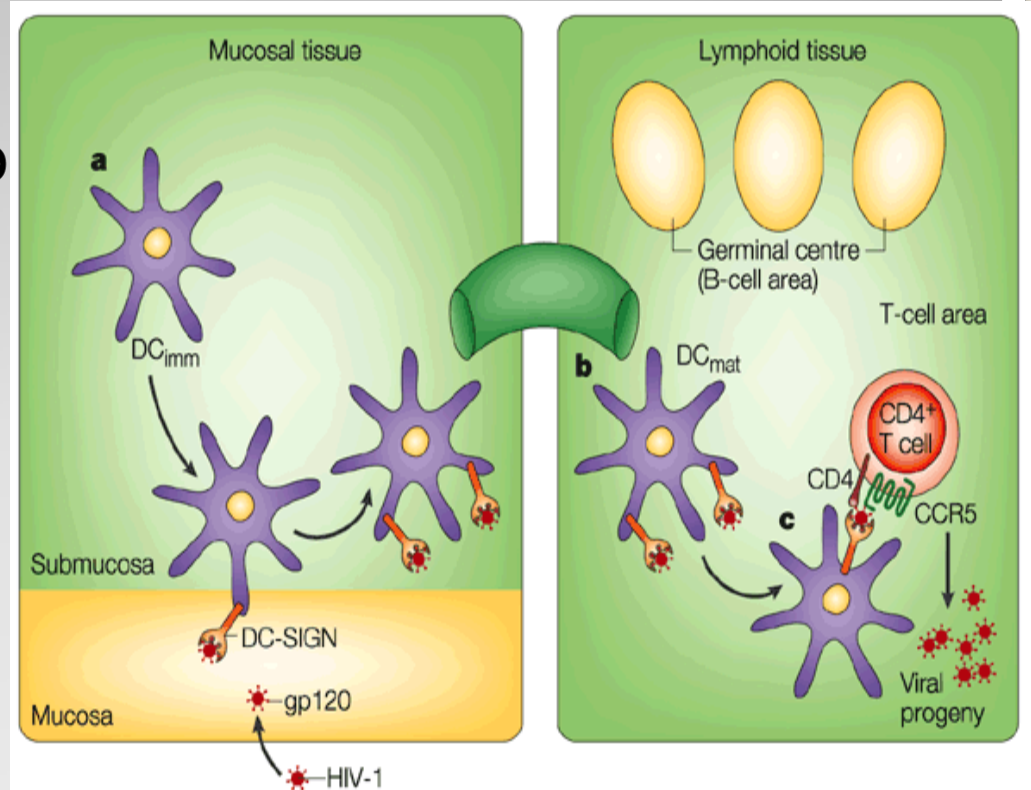
Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- ▶ 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

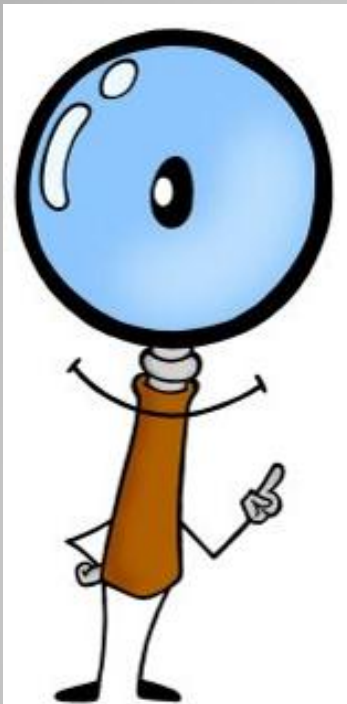


Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- ▶ 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.

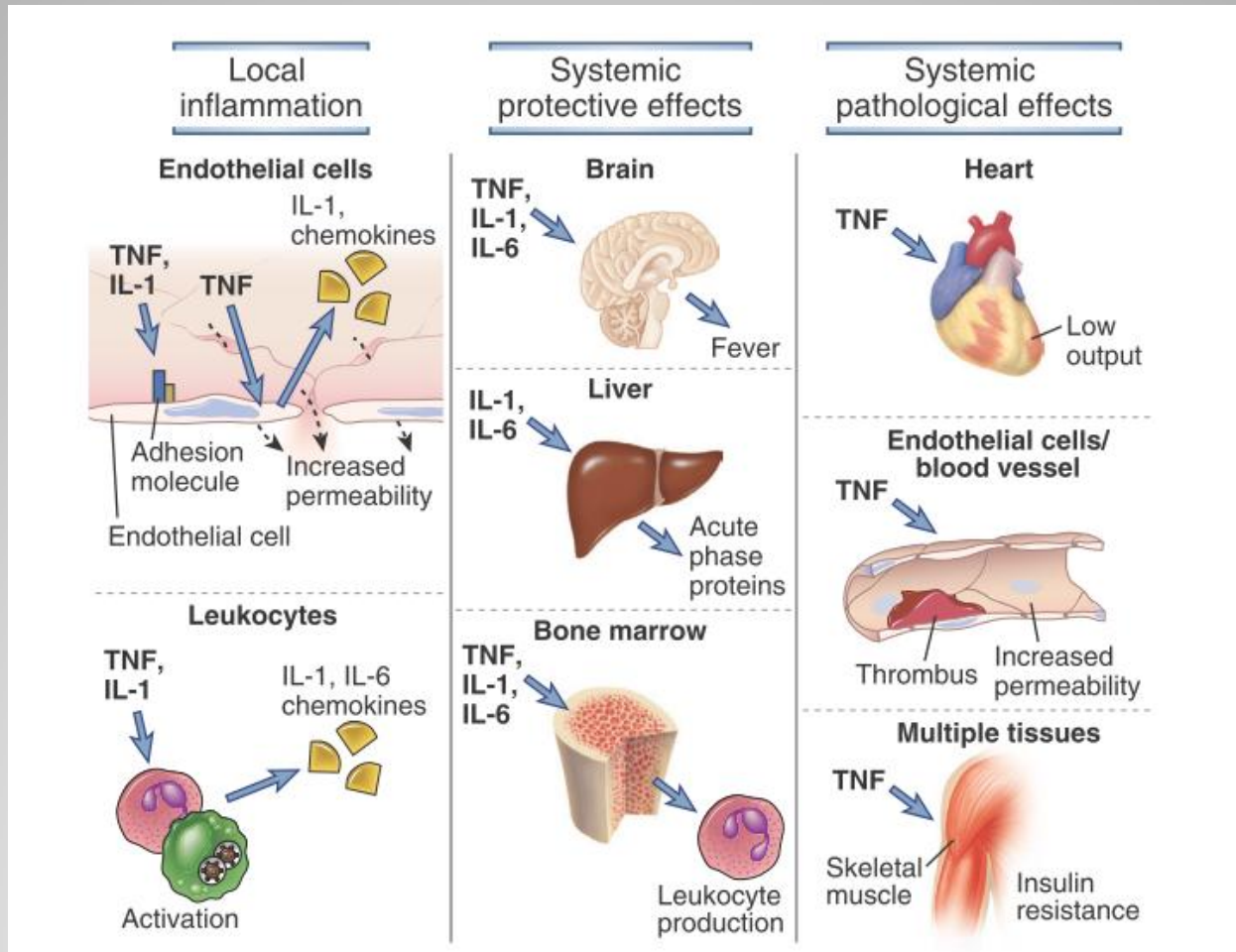


Sistema inmunitario innato

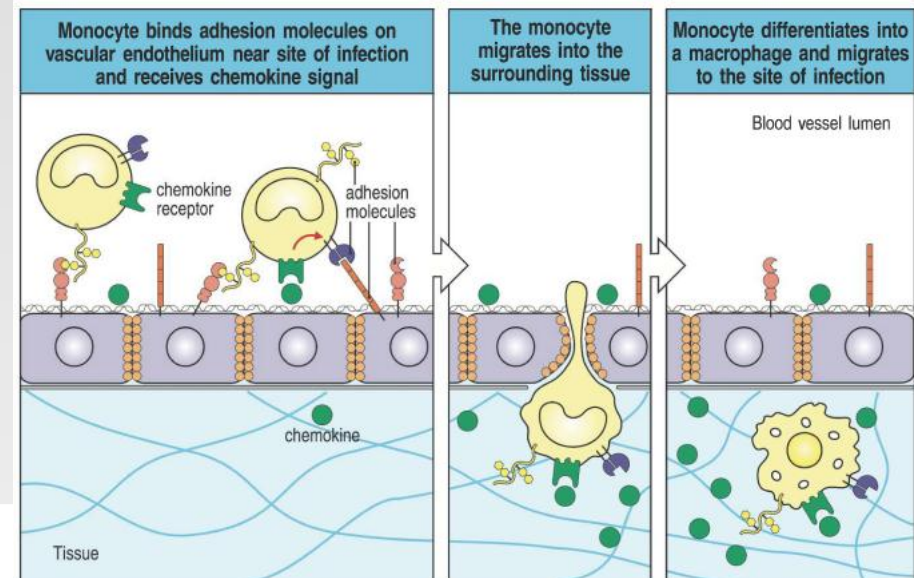
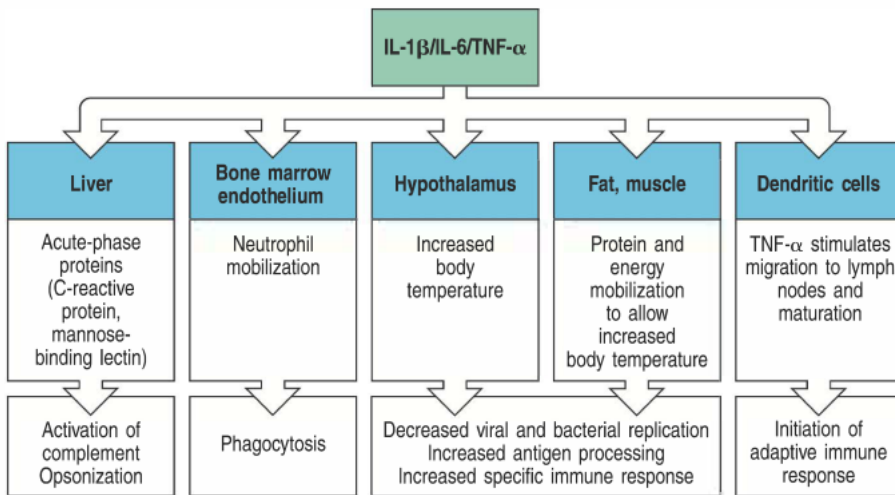
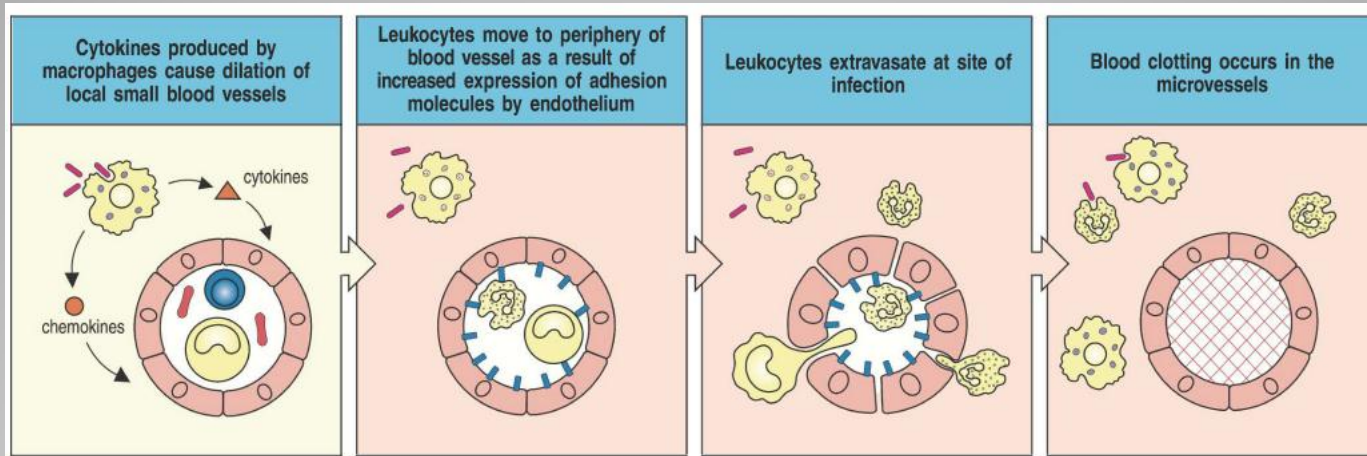


- Principales mecanismos de respuestas del sistema innato contra los patógenos:
 - Inflamación
 - Defensa antiviral

Inflamación



Inflamación

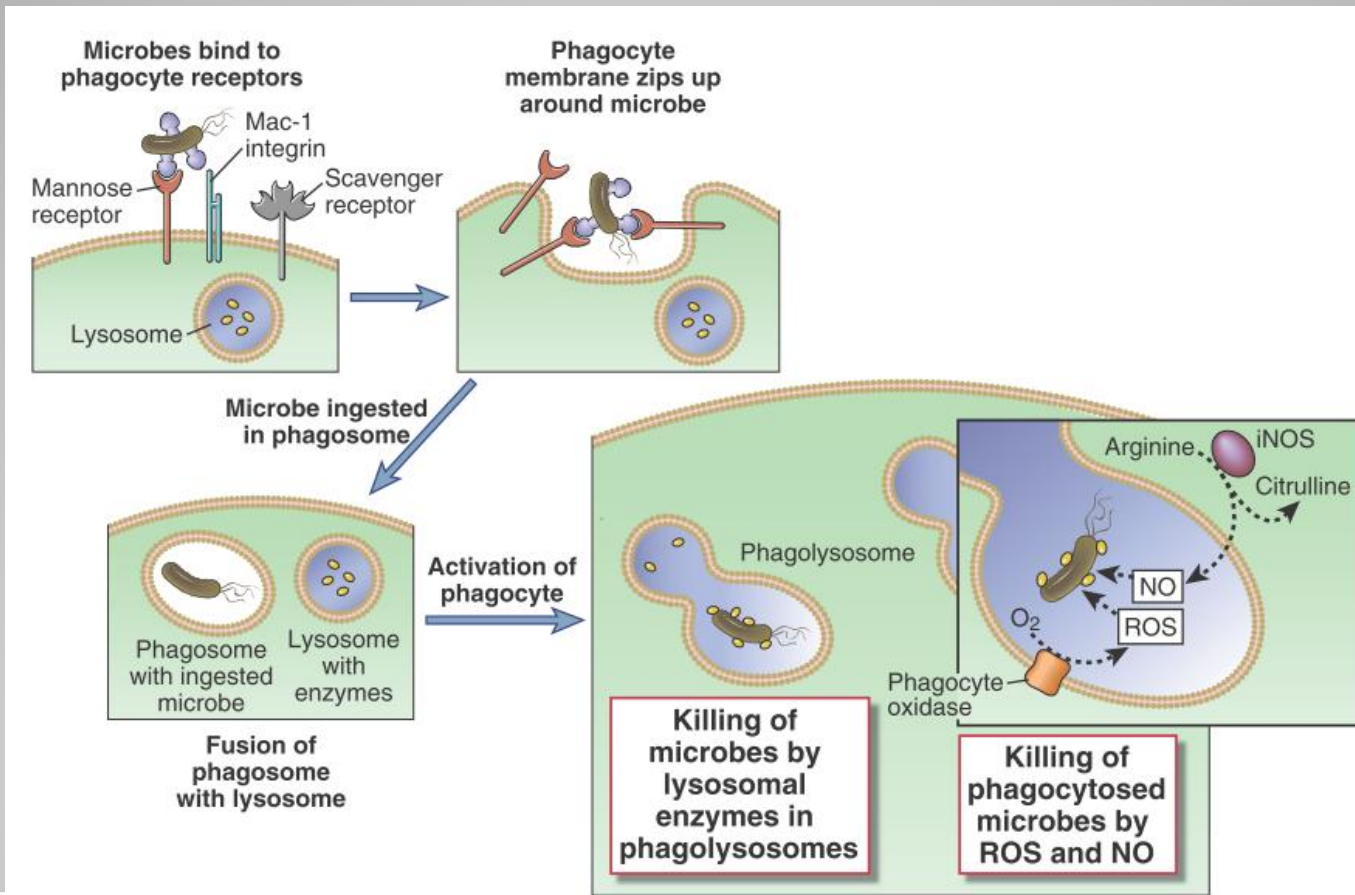


Inmunidad innata: Fagocitosis

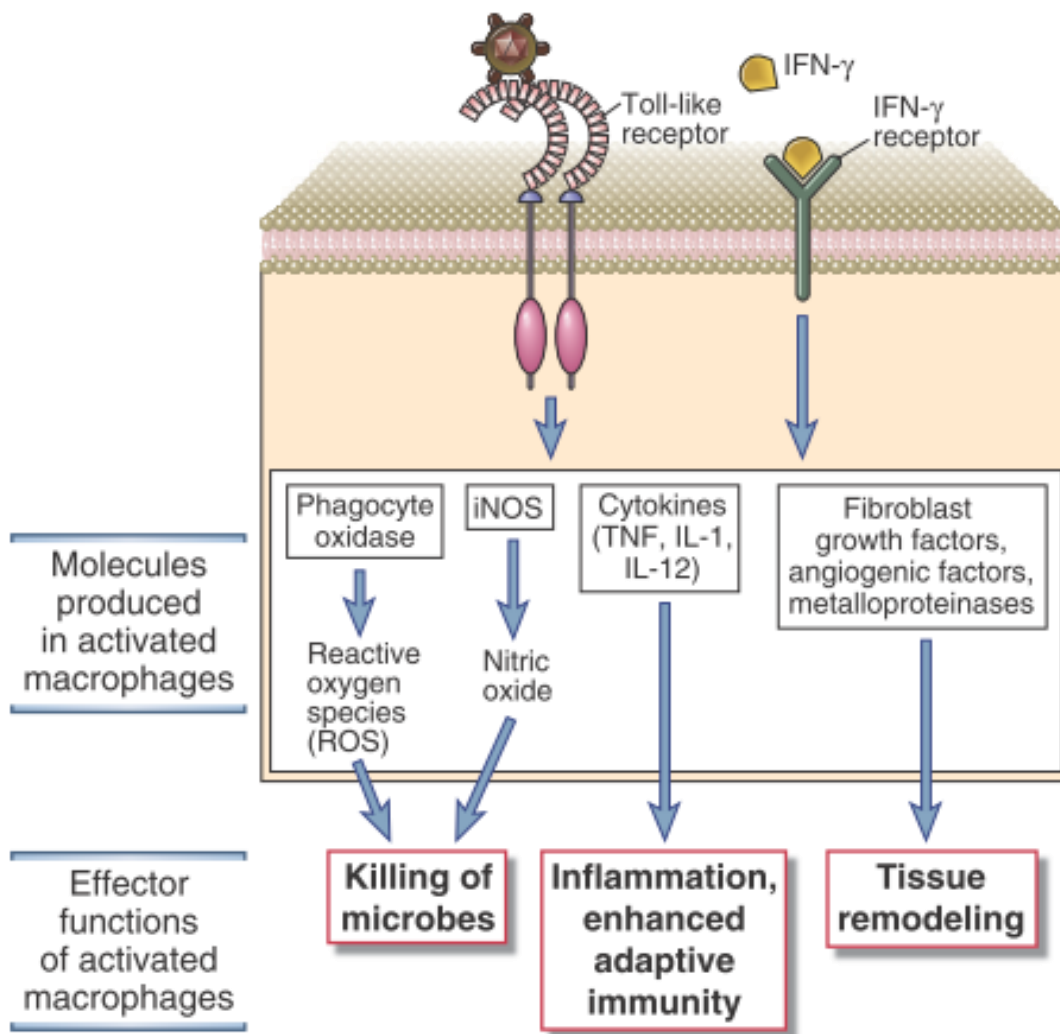
- ▶ Principalmente por PMN y monocitos/macrófagos
 - Migración y llegada al sitio de la injuria
 - Comienzan a ingerir detritus celulares, bacterias y partículas extrañas
 - Reconocimiento en parte por PRR o receptores de patrón de reconocimiento
 - <100 nm endocitosis, mediada por clatrina
 - >100 nm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



Fagocitosis y destrucción intracelular de microorganismos

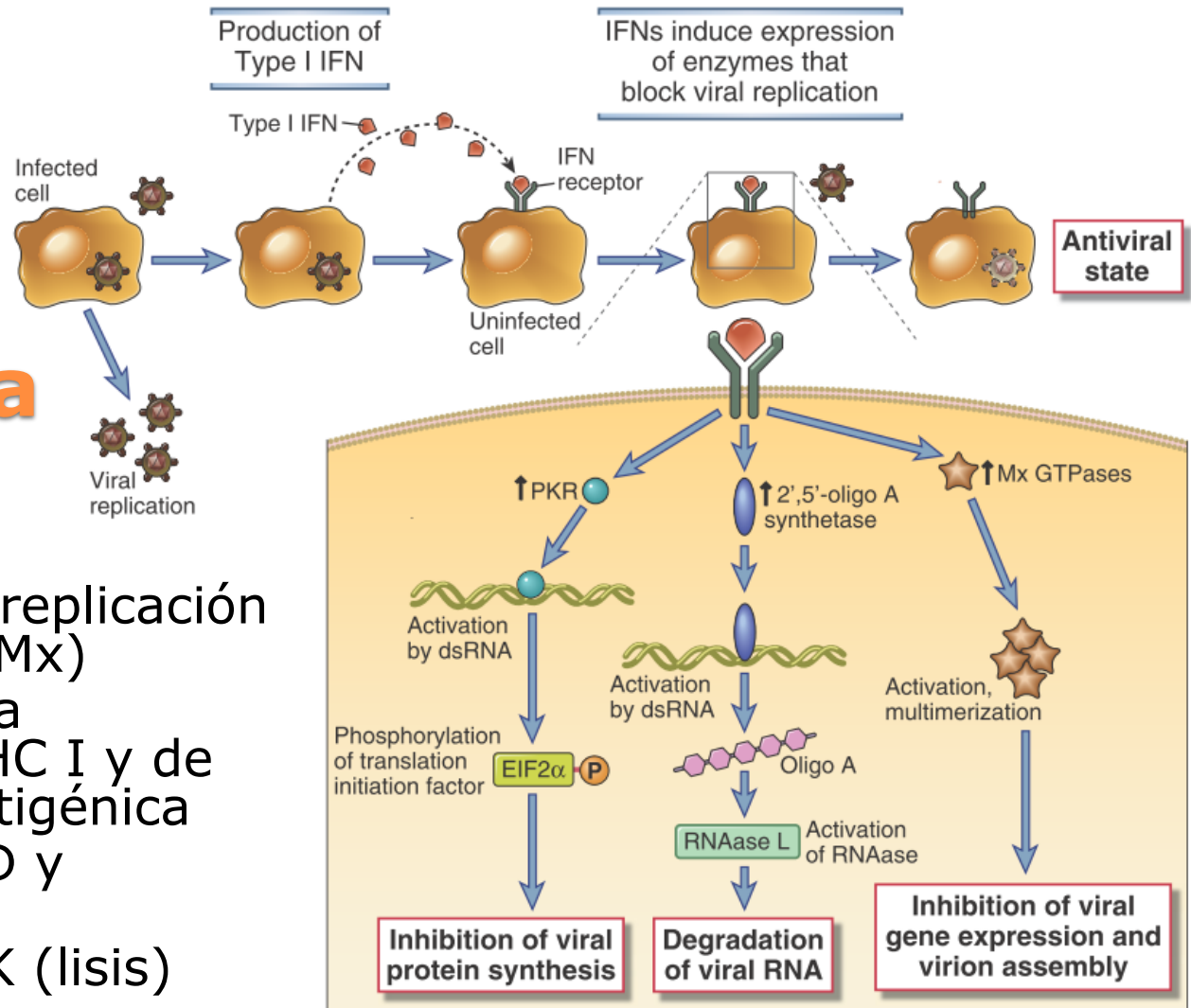


Papel de los macrófagos en la Inmunidad Innata



Respuesta antiviral

- Resistencia a la replicación viral (proteínas Mx)
- Incremento de la expresión de MHC I y de presentación antigénica
- Activación de CD y macrófagos
- Activación de NK (lisis)
- Inducción de quemoquinas
- Reclutamiento de linfocitos

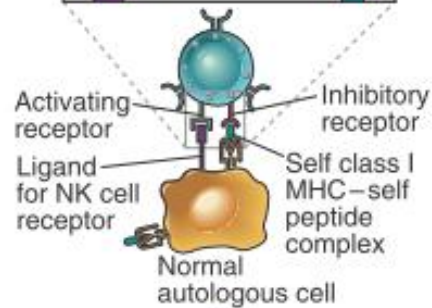
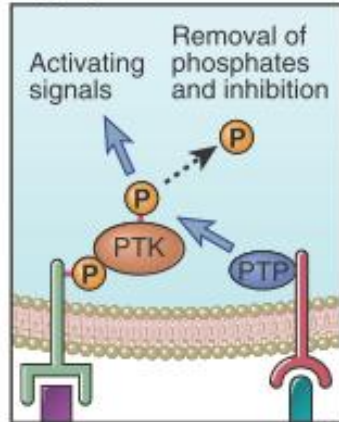


Origen y funciones de las células NK

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

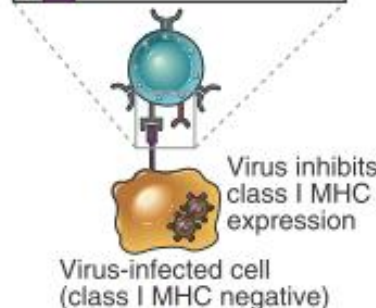
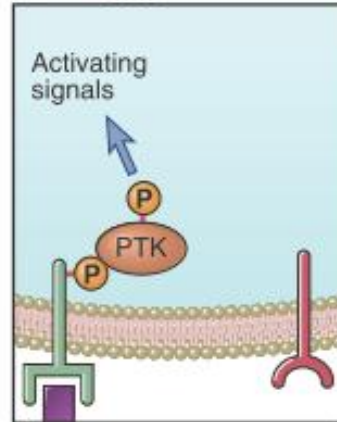
Activación de NK

A Inhibitory receptor engaged



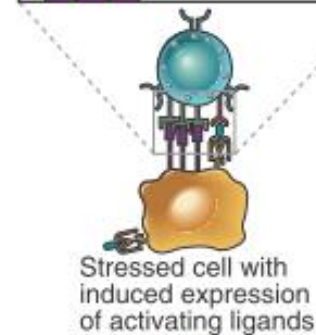
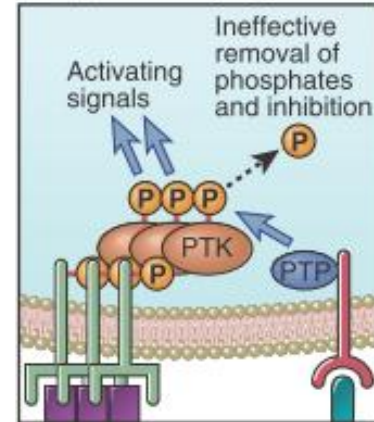
**NK cell
not activated;
no cell killing**

B Inhibitory receptor not engaged



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

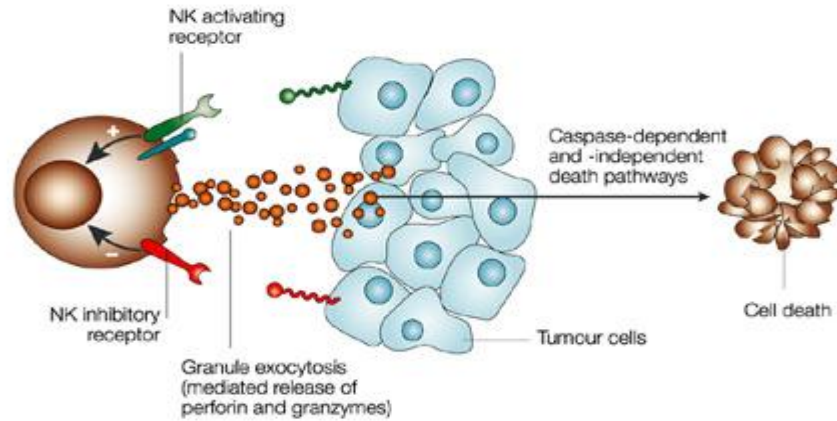
C Multiple activating receptors engaged



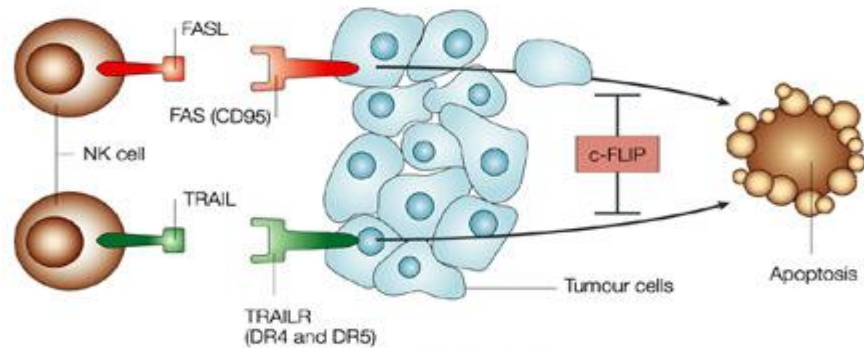
**NK cell activated;
killing of
stressed cell**

Lisis mediada por NK

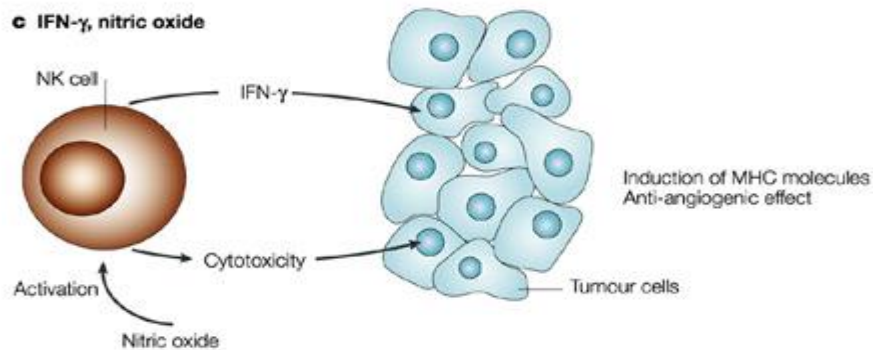
a Granule exocytosis pathway



b Death-receptor pathway

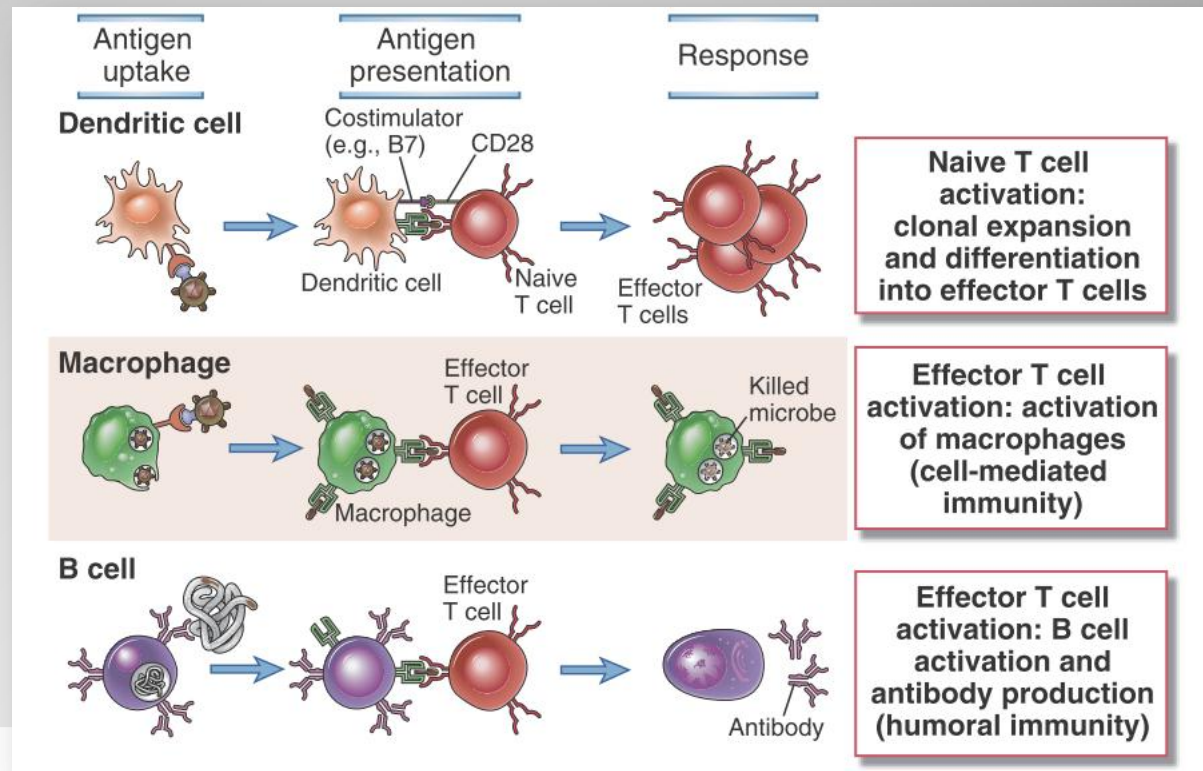


c IFN- γ , nitric oxide

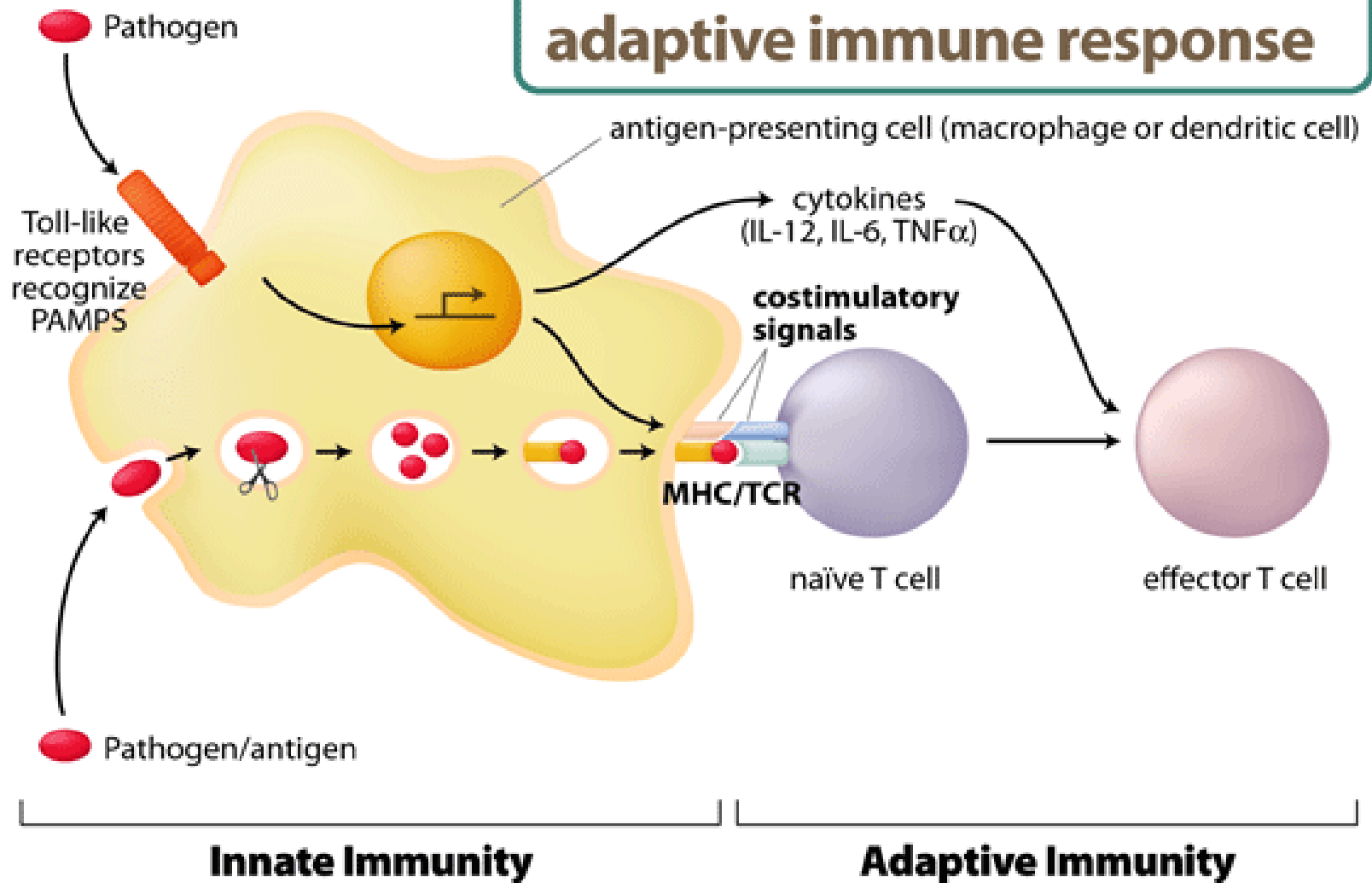


Células Presentadoras de Antígeno Profesionales (APC)

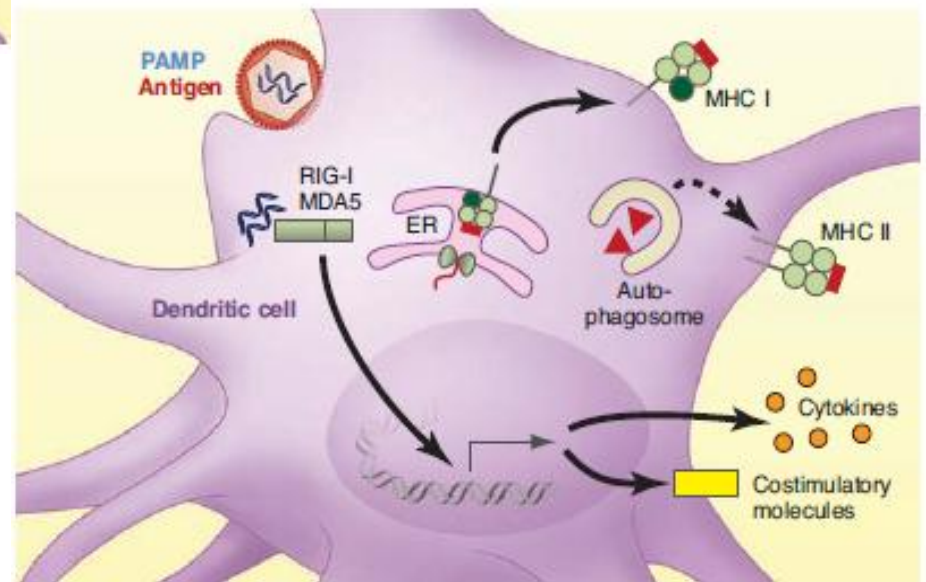
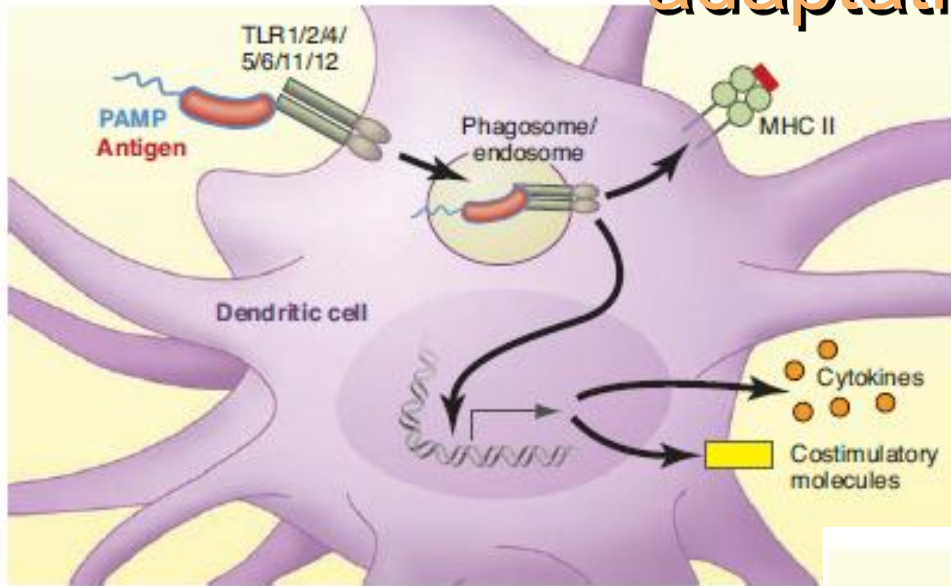
- ▶ Células Dendríticas (DC)
- ▶ Macrófagos
- ▶ Linfocitos B



Innate immunity is critical to adaptive immune response

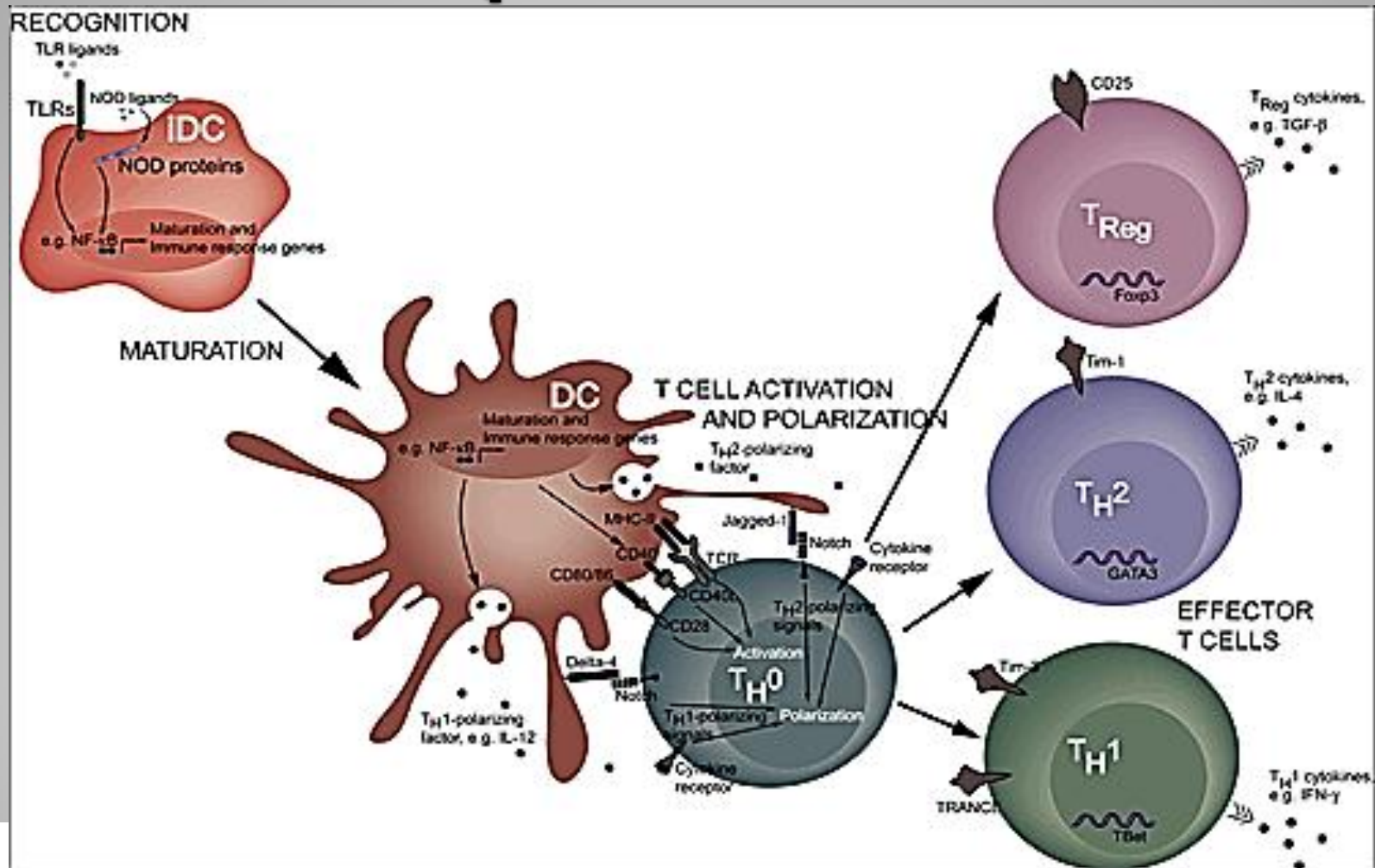


Papel de los PRRs en la respuesta inmune adaptativa

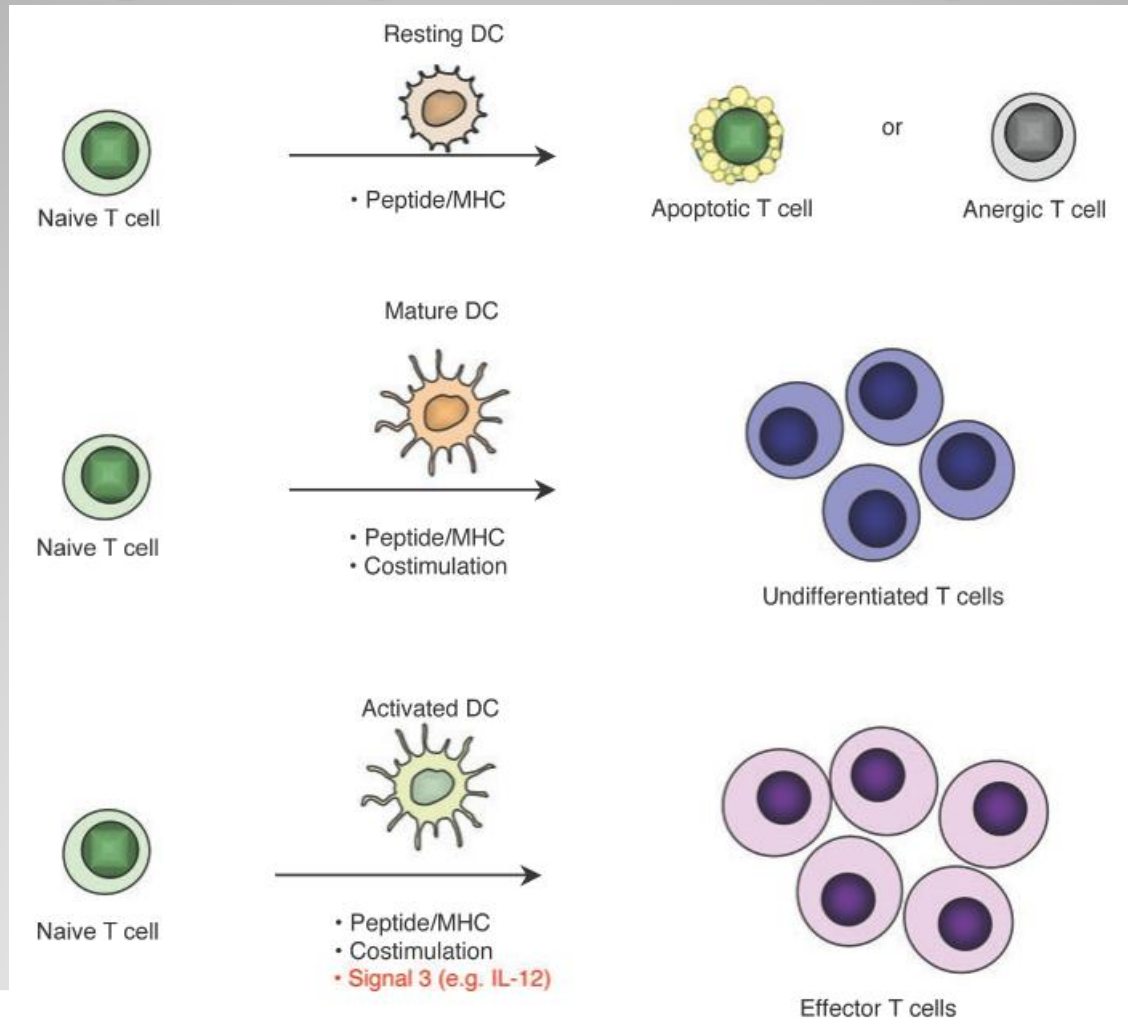


Akiko Iwasaki et al, Science 2010

Papel de las células dendríticas en la respuesta inmune

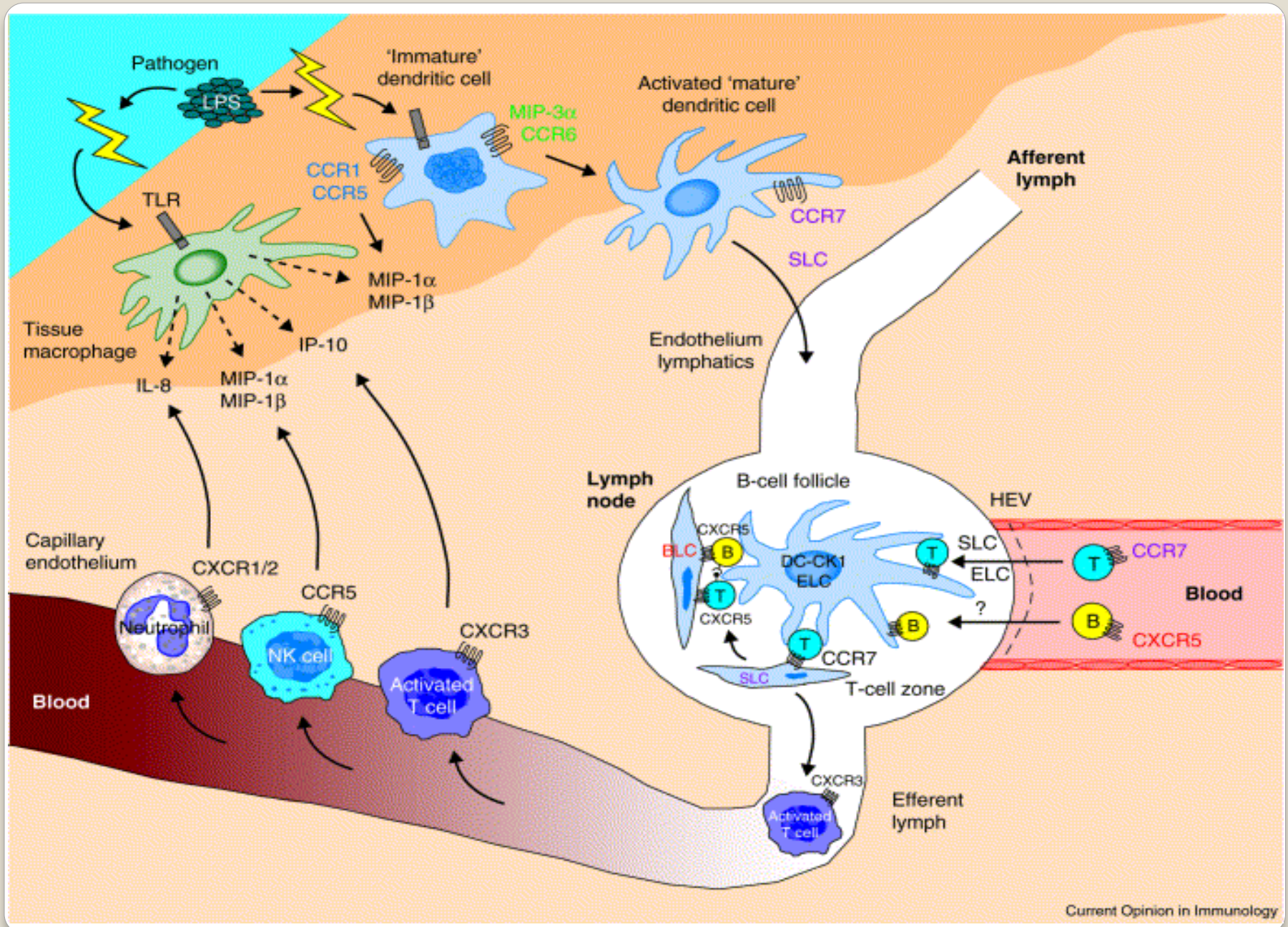


CD y respuesta adaptativa



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

- Eventos mediados por PRRs, reclutamiento de células dendríticas inmaduras hacia los sitios de entrada de los patógenos, traslado de estos a los nódulos linfáticos en donde activarán a células T vírgenes.
- La activación mediada por PRRs induce la liberación de quimiocinas a partir de los macrófagos residentes y células dendríticas, reclutando diferentes grupos de leucocitos



Luster AD., Curr Opin Immunol, 2002