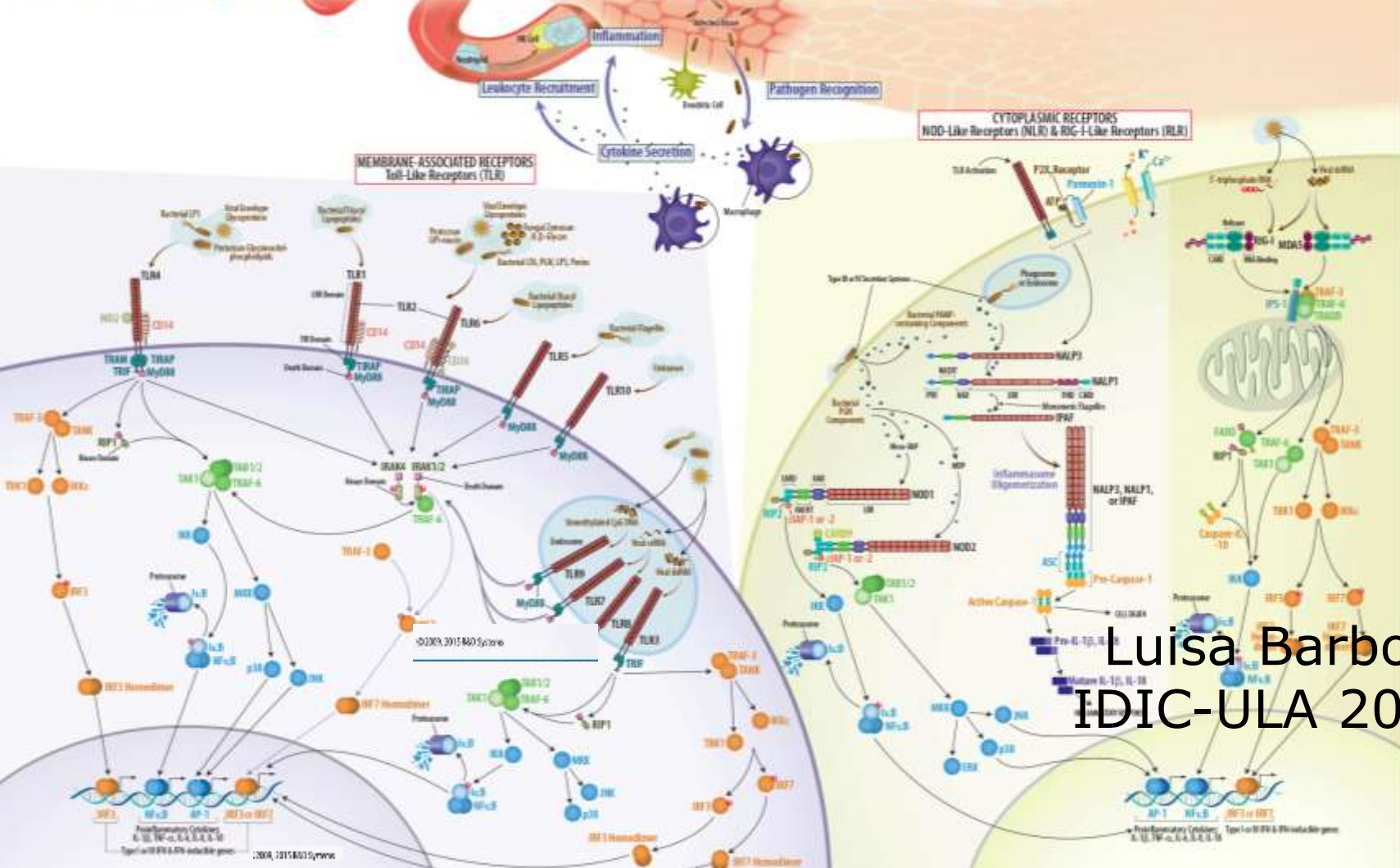


# Fisiología de la RI: Inmunidad Innata

Pattern Recognition Receptors and the Innate Immune Response



Luisa Barboza  
IDIC-ULA 2016

# Premio Nobel en Fisiología y Medicina 2011



**Bruce Beutler**



**Jules Hoffmann**

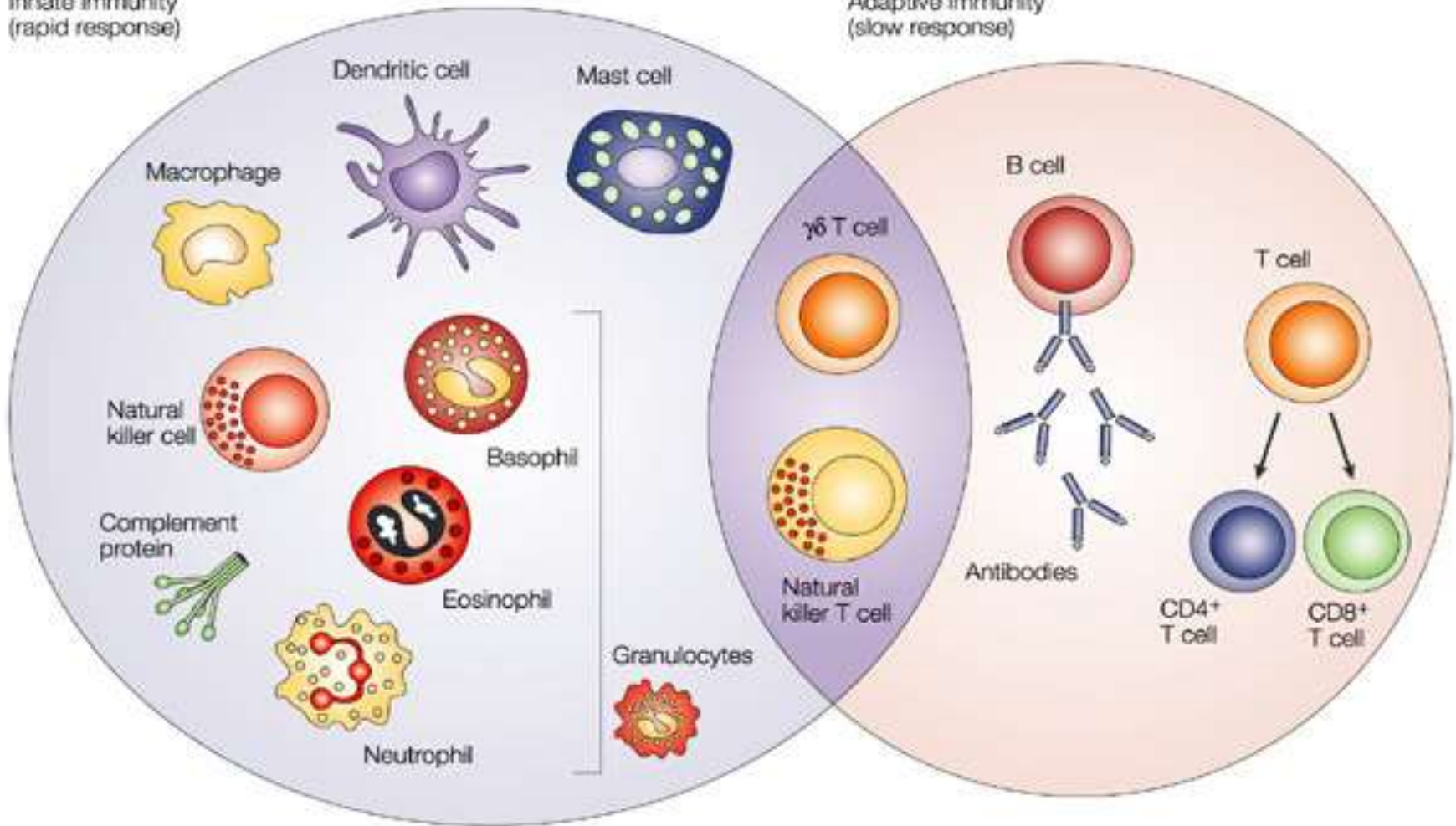


**Ralph Steinman**

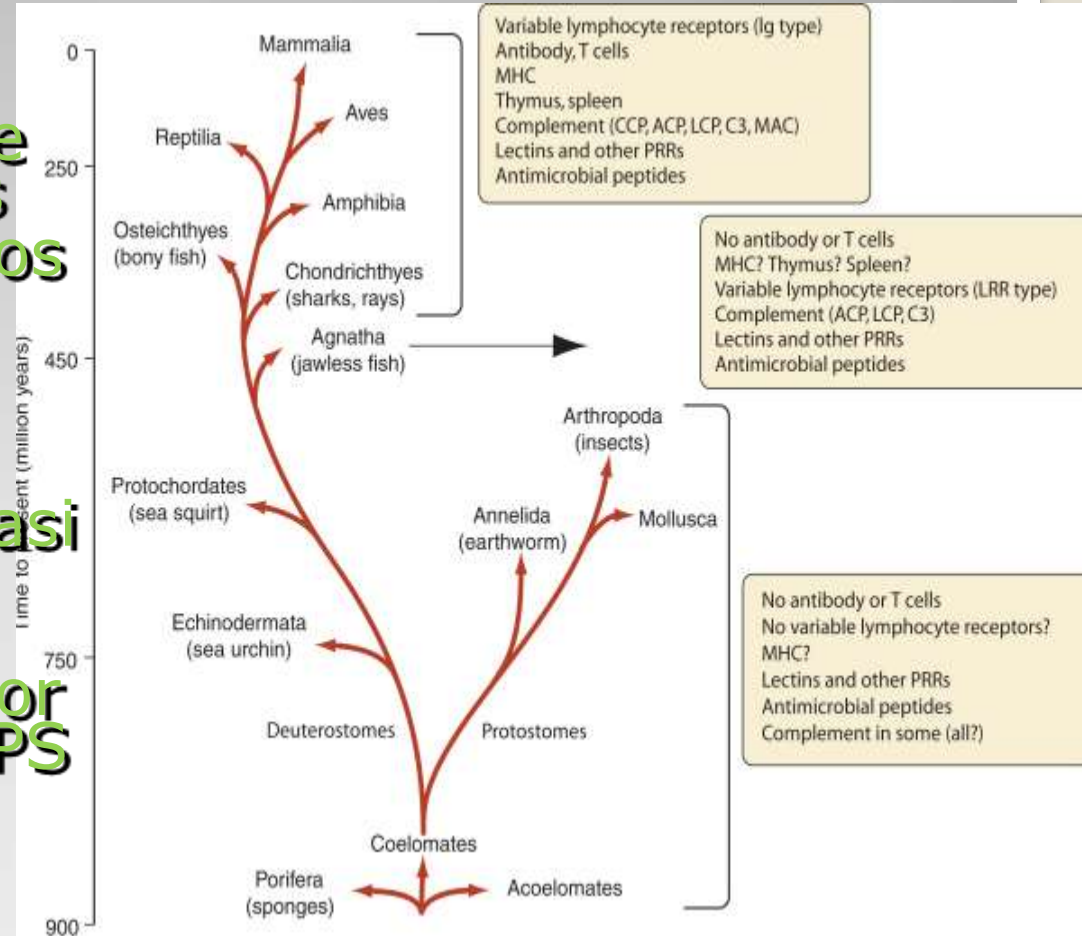
# Tipos de respuesta inmune

Innate immunity  
(rapid response)

Adaptive immunity  
(slow response)

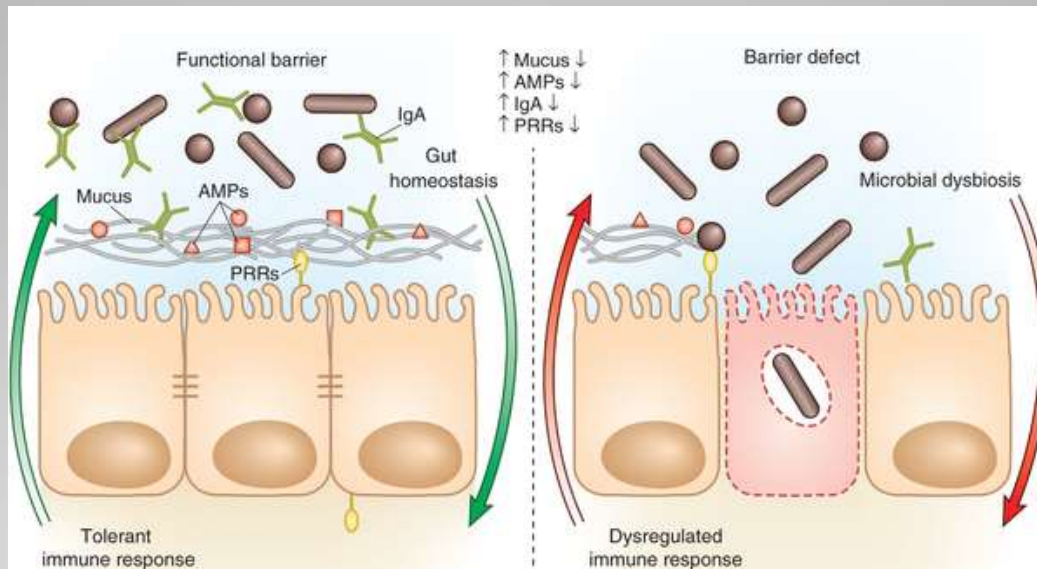


- Sistema muy conservado y evolucionado presente en plantas y animales
- Principales mecanismos de acción:
  - Inflamación
  - Respuesta antivírica
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales
- Reconocimiento de patógenos mediado por receptores: PAMPs (LPS y CpG de ADN bacteriano)



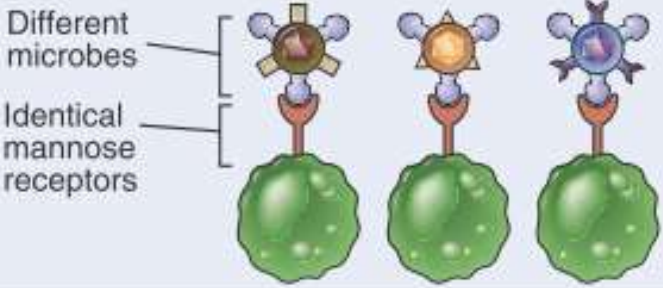
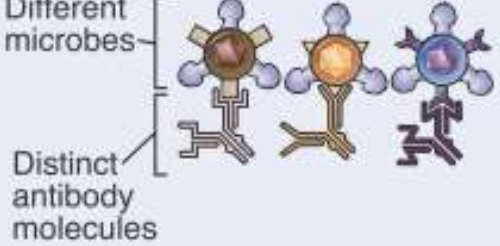
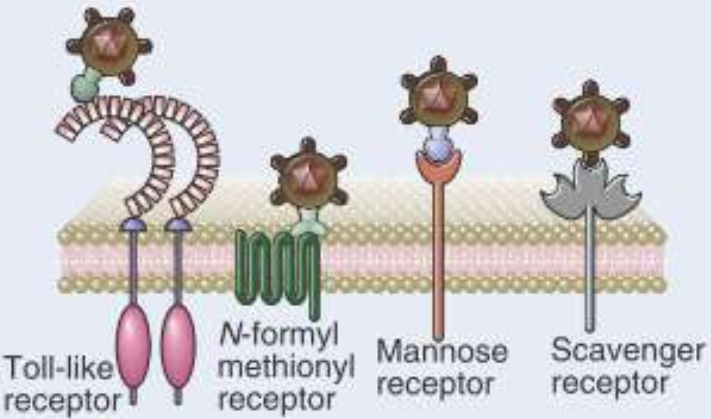
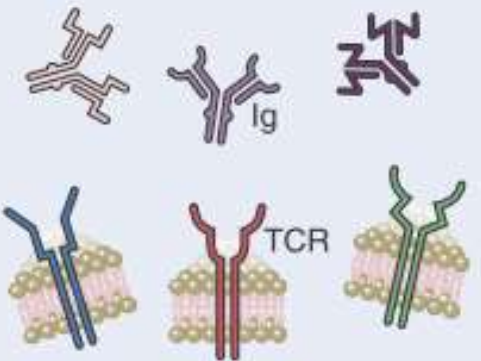
# Sistema inmune innato

# 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

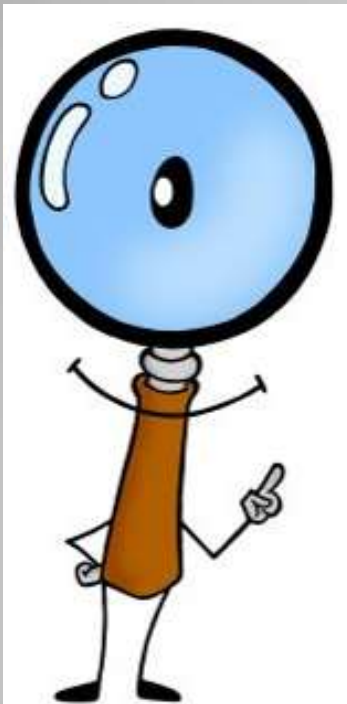
**TABLE 4-1 Specificity of Innate and Adaptive Immunity**

	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
<b>Barreras</b>	
Capas del epitelio	Prevenir la entrada de microorganismos
Defensinas, linfocitos intraepiteliales	Muerte de microorganismos
<b>Células efectoras circulantes</b>	
Neutrófilos	Fagocitosis temprana, muerte de microorganismos
Macrófagos	Fagocitosis, muerte de microorganismos, activación de respuesta inflamatoria
Células NK	Muerte de células infectadas, activación de macrófagos
<b>Proteínas efectoras circulantes</b>	
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
<b>Citocinas</b>	
TNF, IL-1, quimiocinas	Inflamación
IFN- $\alpha$ y $\beta$	Resistencia a infecciones virales
IFN- $\gamma$	Activación de macrófagos
IL-12, IL-18, IL-23	Producción de IFN- $\gamma$ por NK y células T
IL-15	Proliferación de células NK
IL-10, TGF- $\beta$	Control de la inflamación

# Componentes de la inmunidad innata

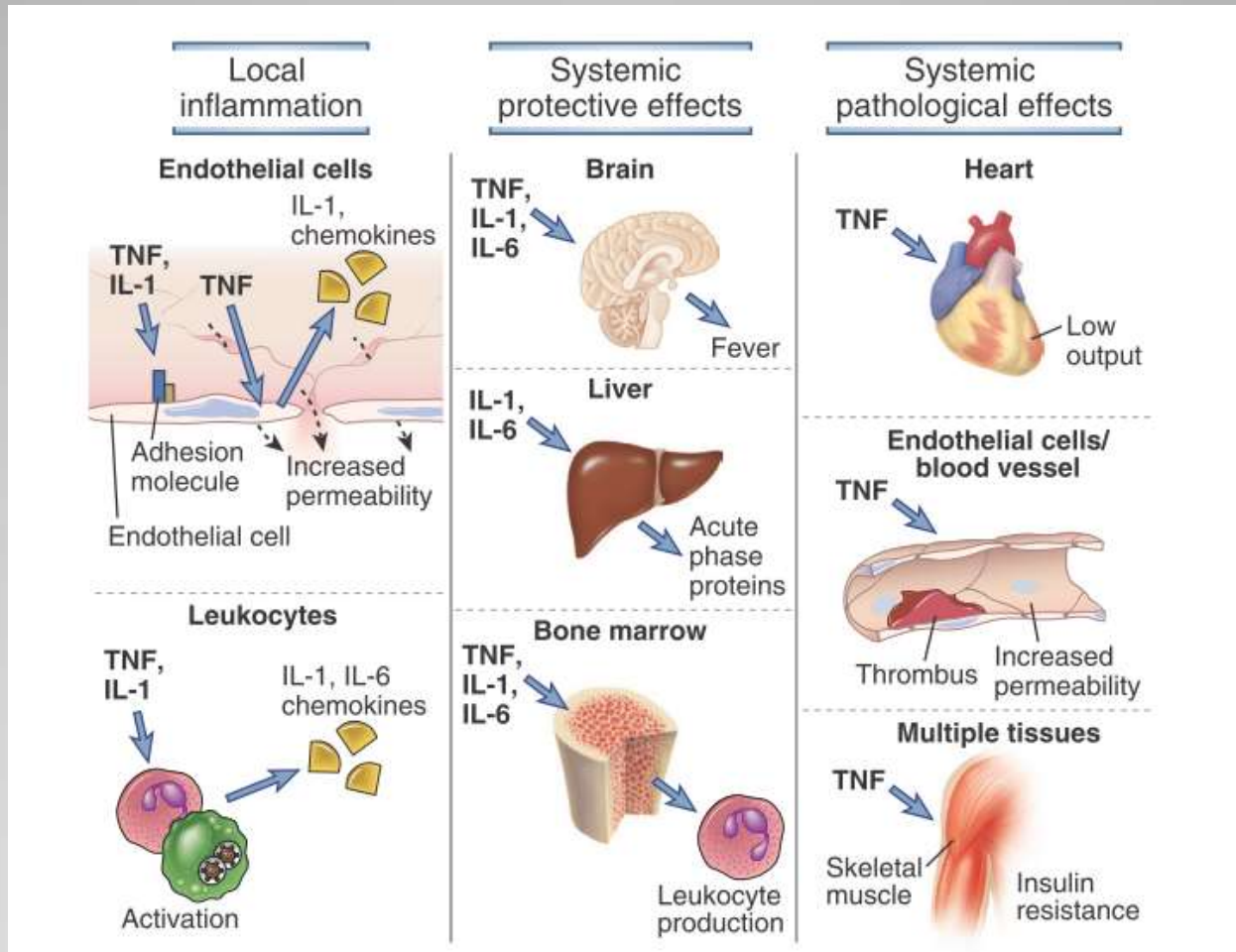
# Sistema inmunitario innato



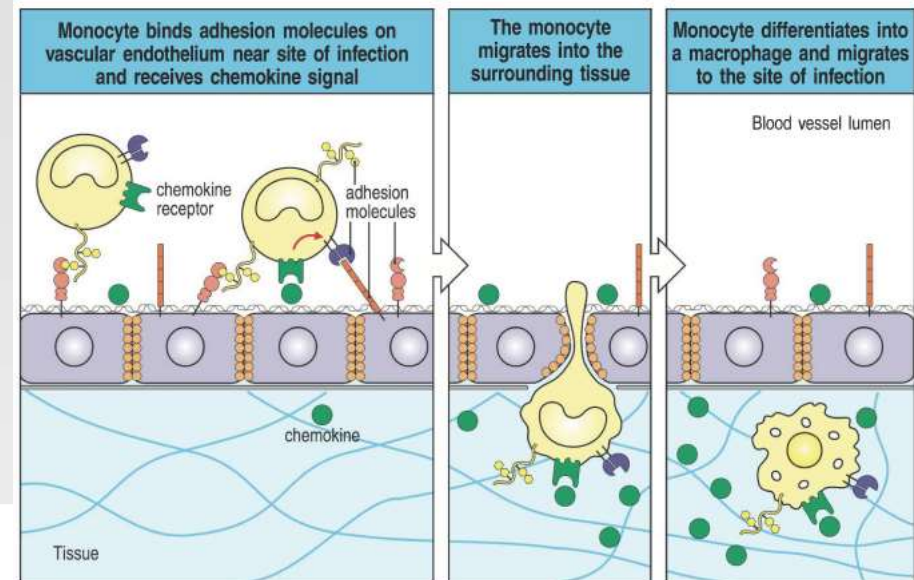
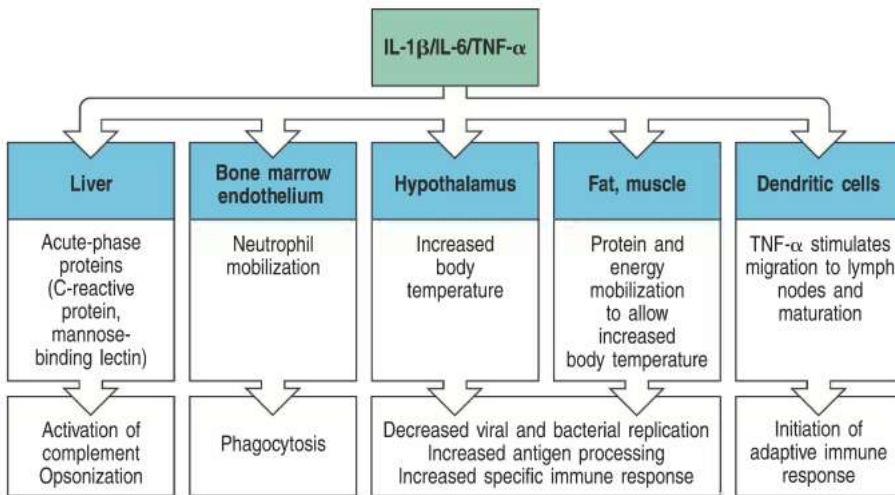
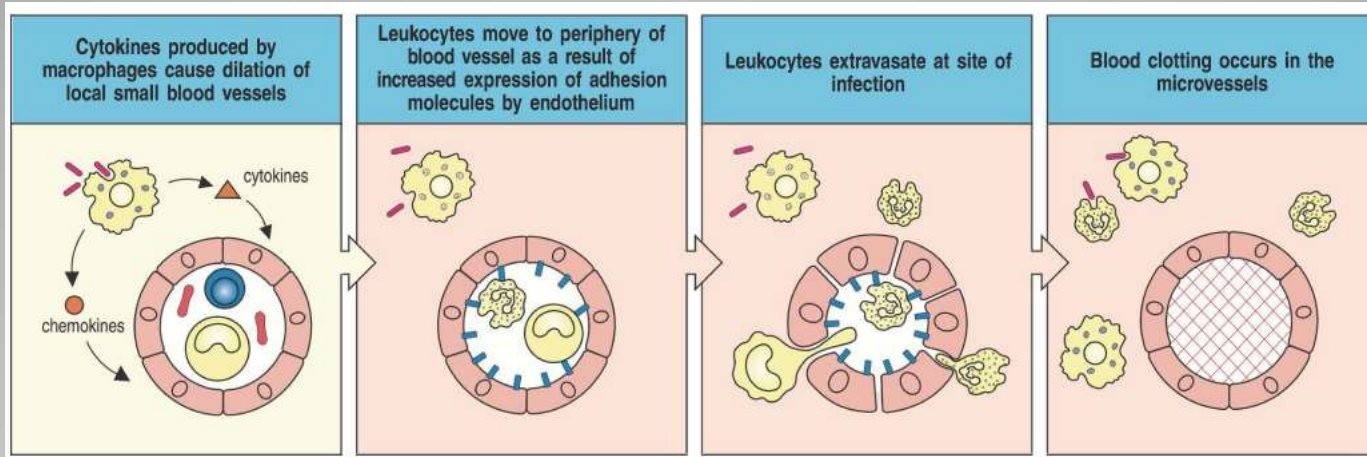
- Principales mecanismos de respuestas del sistema innato contra los patógenos:
  - Inflamación
  - Defensa antiviral



# Inflamación

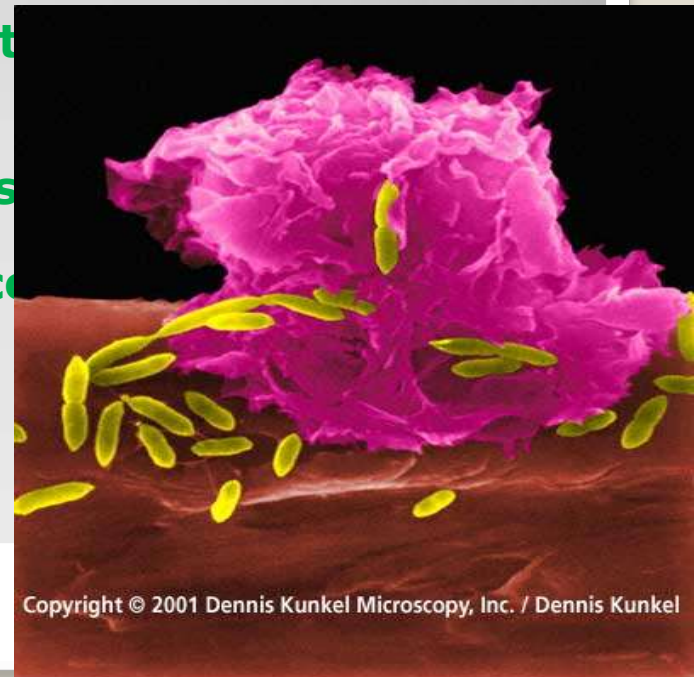


# Inflamación

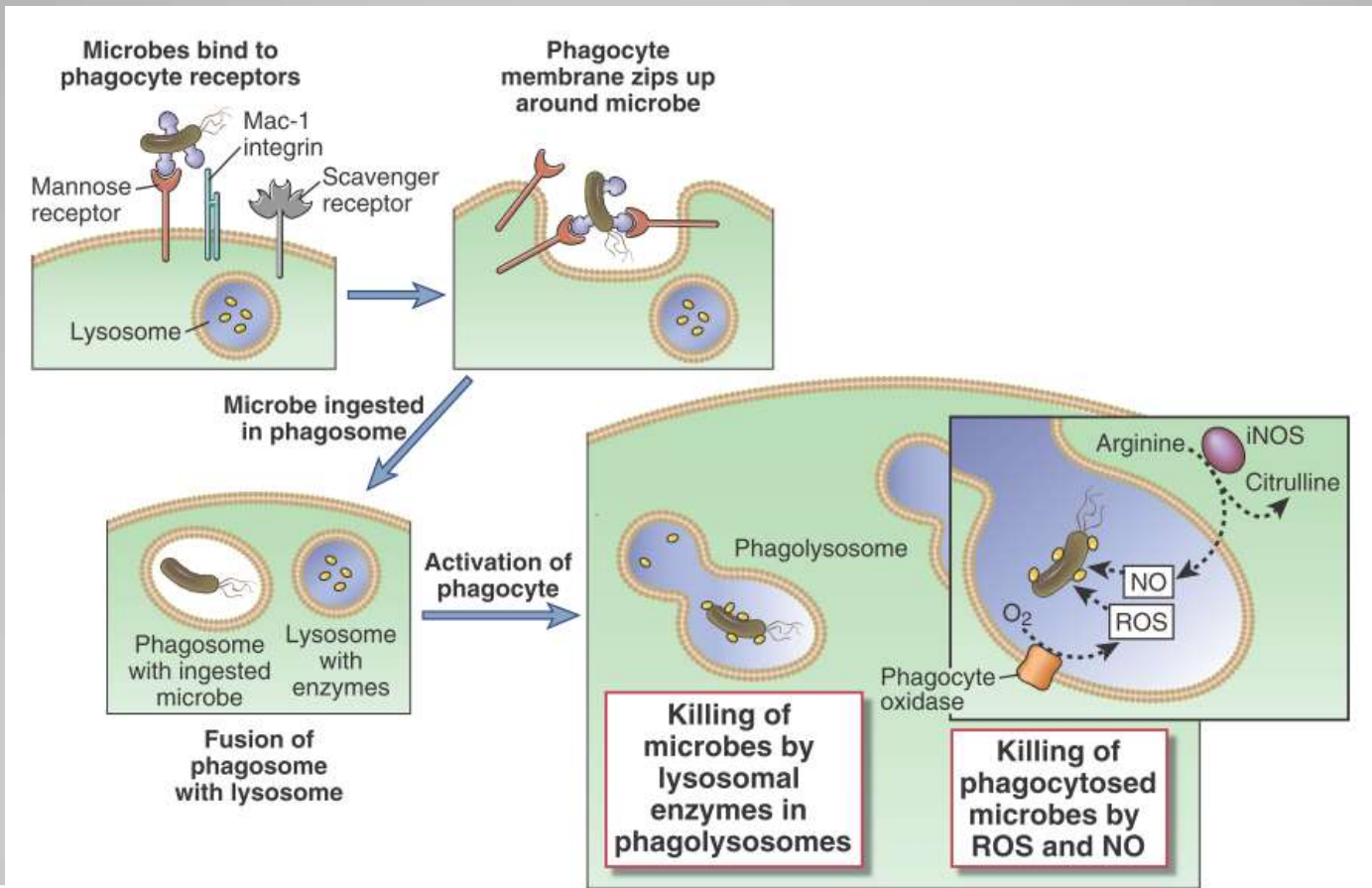


# Inmunidad innata: Fagocitosis

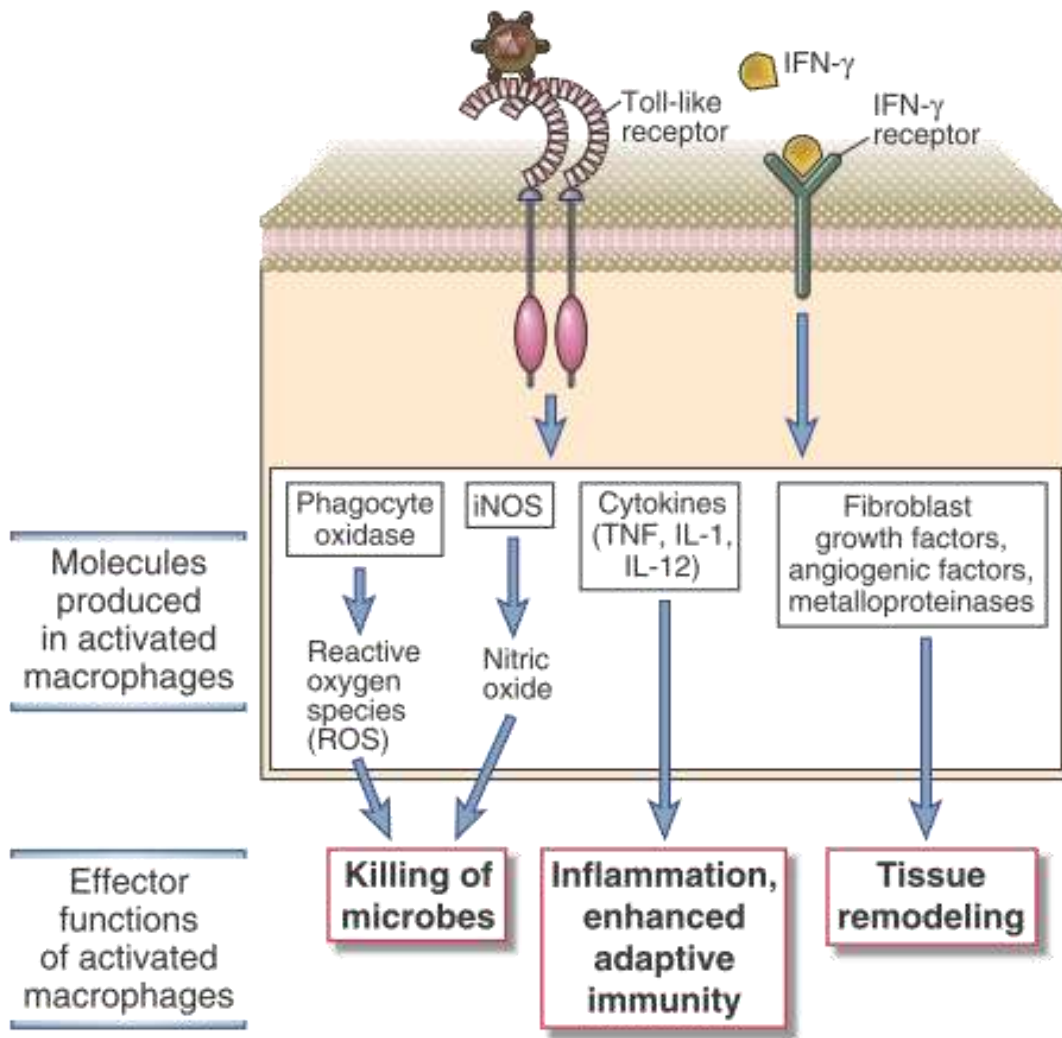
- ▶ Principalmente por PMN y monocitos/macrófagos
  - Migración y llegada al sitio de la injuria
  - Comienzan a ingerir detritus celulares, bacterias y partículas extrañas
    - Reconocimiento en parte por PRR o receptores de patrón de reconocimiento
    - <100 nm endocitosis, mediada por clatrina
    - >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

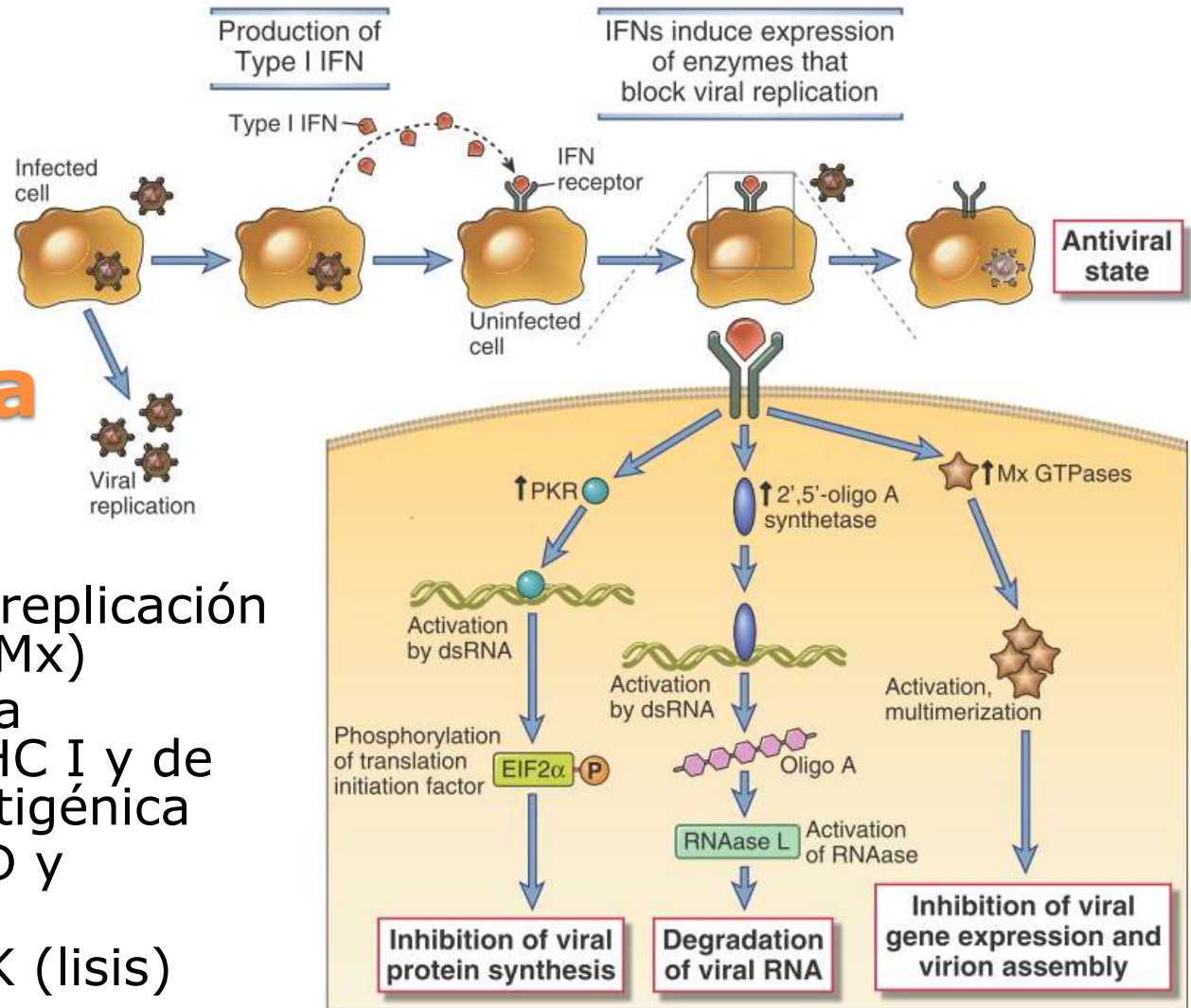


# Papel de los macrófagos en la Inmunidad Innata



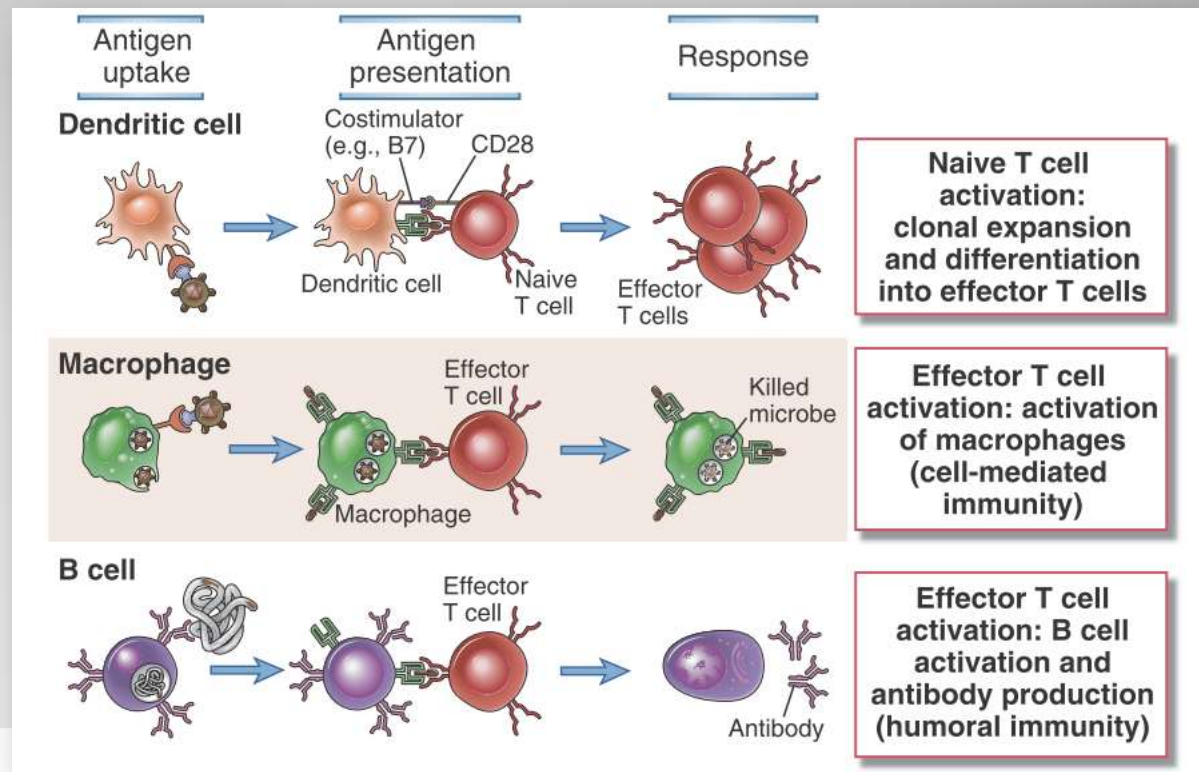
# Respuesta antiviral

- 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



# Células Presentadoras de Antígeno Profesionales (APC)

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



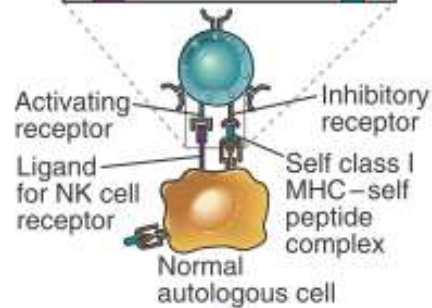
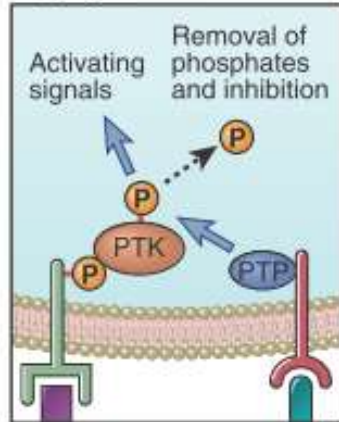
# Origen y funciones de las células NK

- Representan entre 5-20% de los linfocitos circulantes, 5% de los linfocitos esplénicos
- Expresión de CD56 y CD16, ausencia de CD3
- Producen citocinas: IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Linfotóxina, 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.



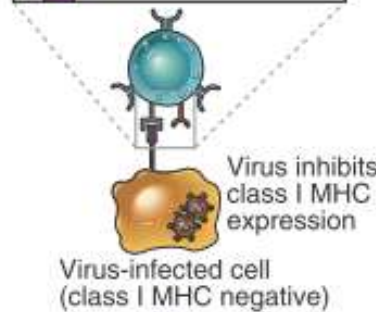
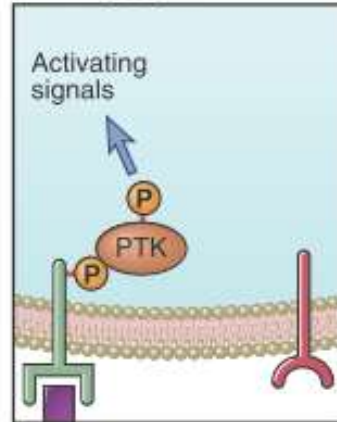
# Activación de NK

**A** Inhibitory receptor engaged



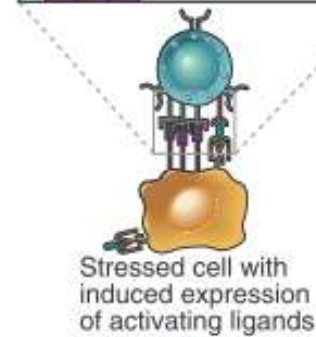
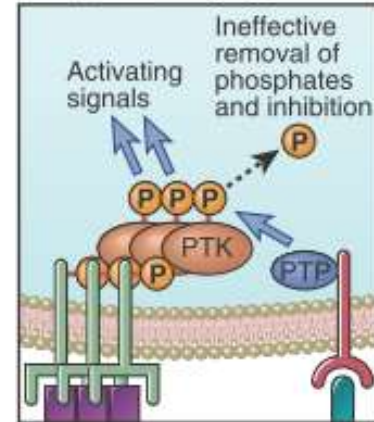
**NK cell  
not activated;  
no cell killing**

**B** Inhibitory receptor not engaged



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

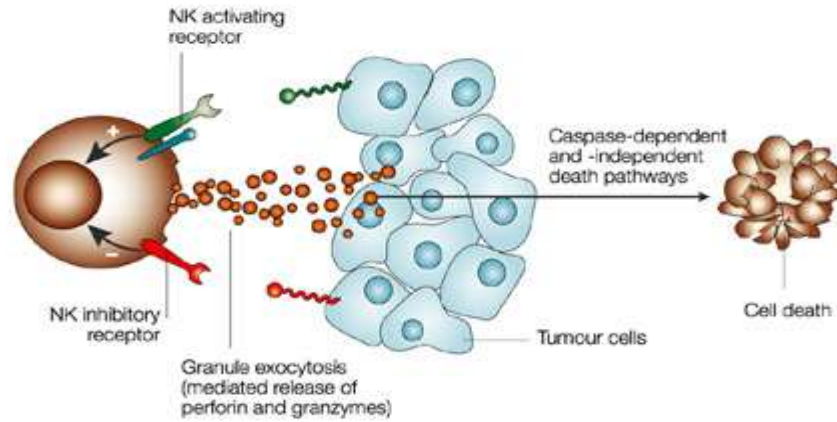
**C** Multiple activating receptors engaged



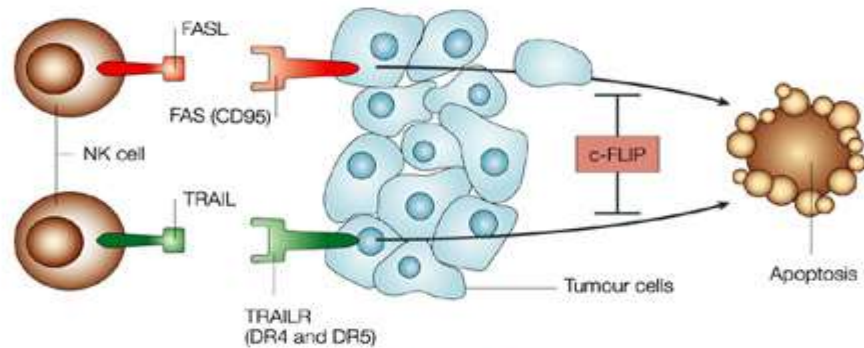
**NK cell activated;  
killing of  
stressed cell**

# Lisis mediada por NK

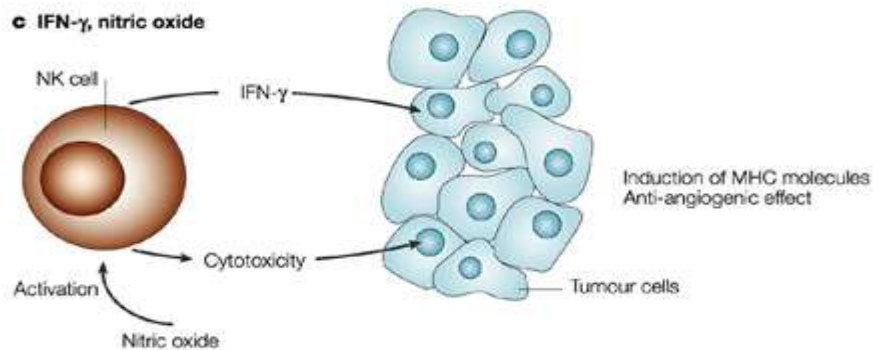
## a Granule exocytosis pathway



## b Death-receptor pathway

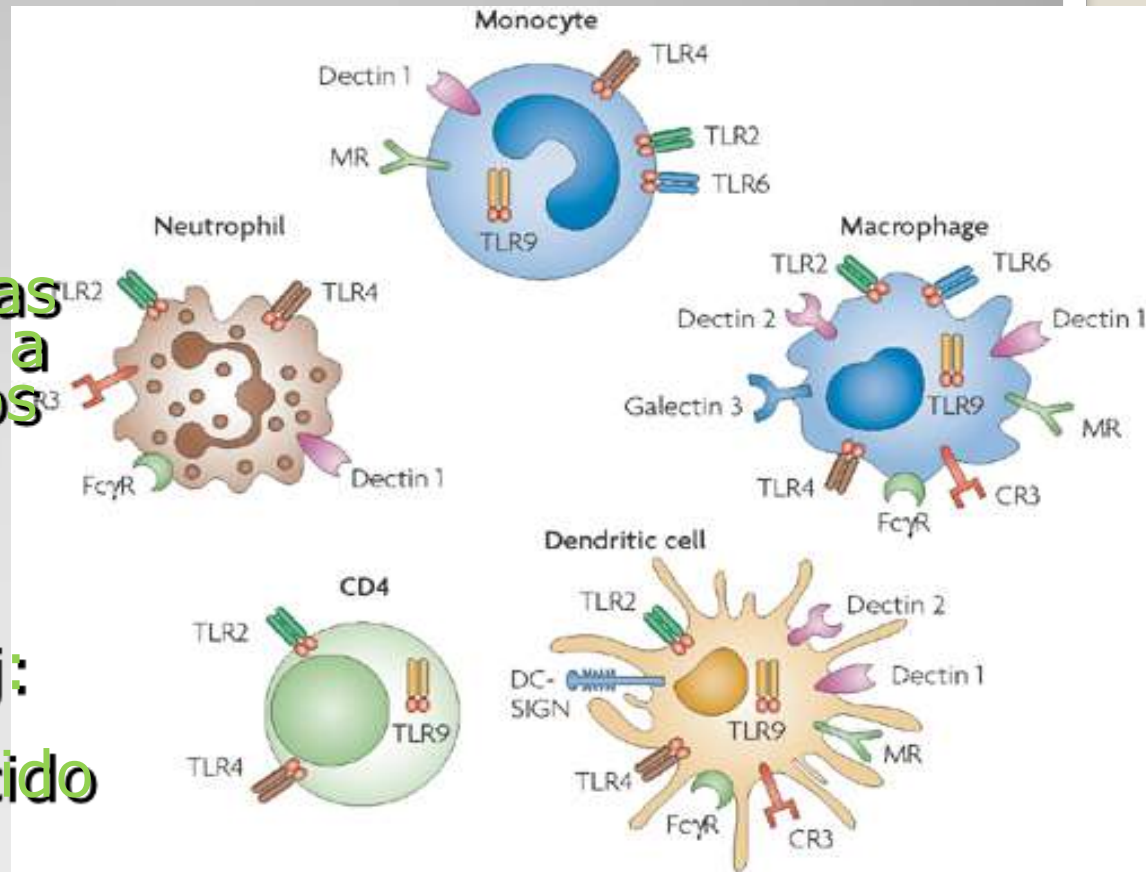


## c IFN- $\gamma$ , nitric oxide



# 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

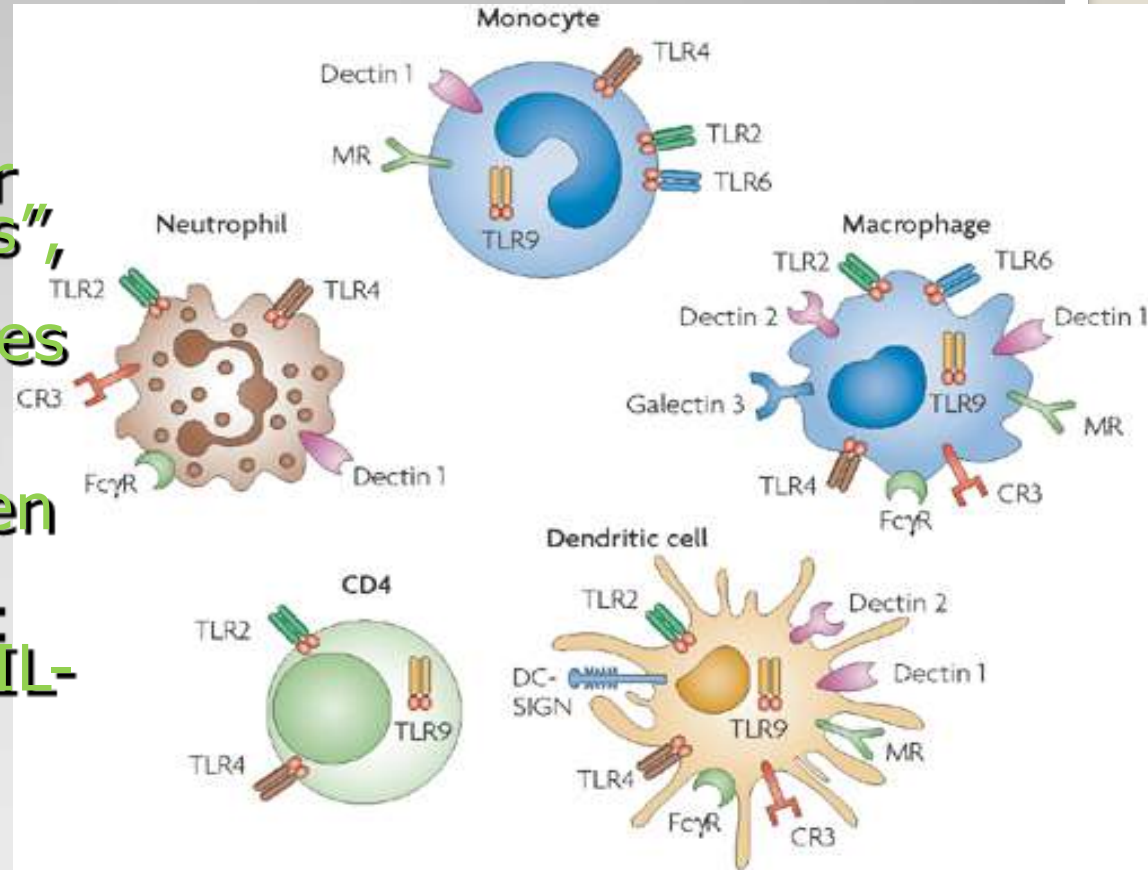


Nature Reviews | Microbiology

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)

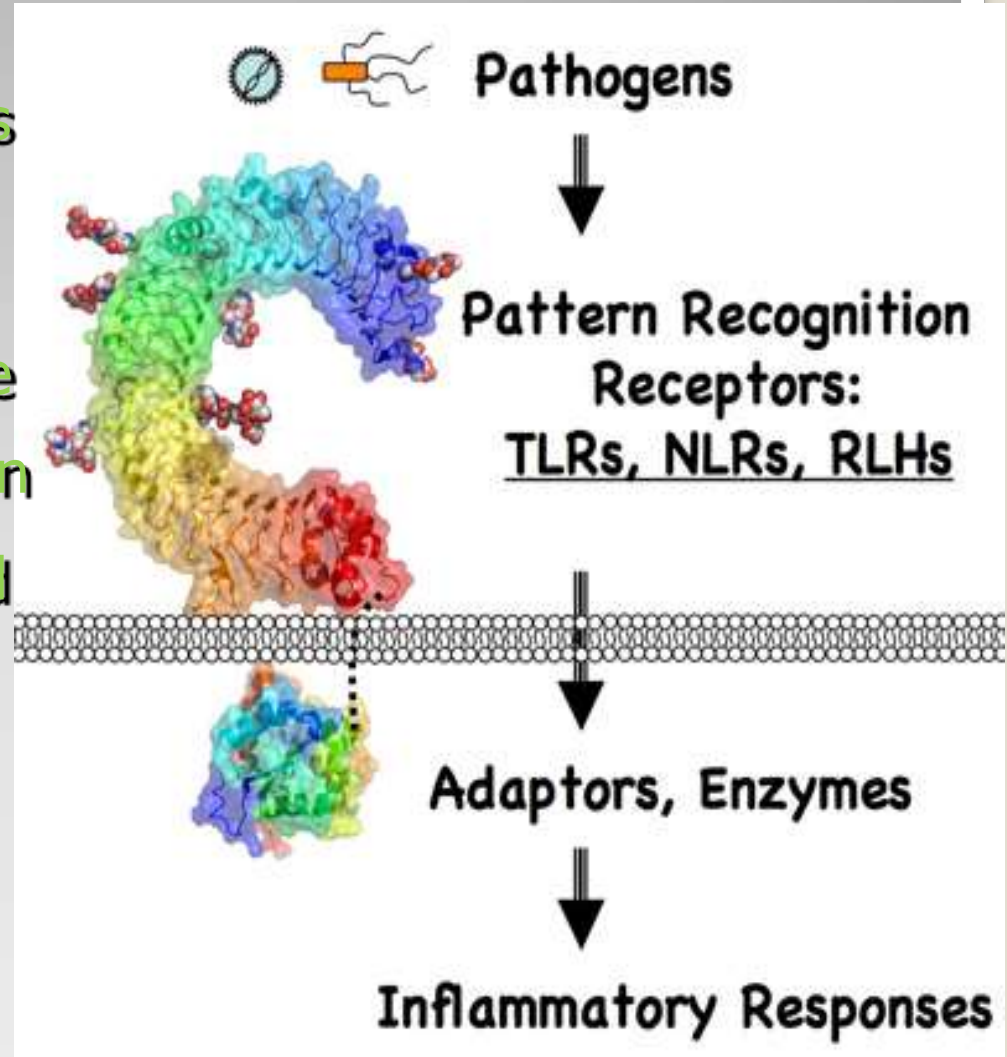
# Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos

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

Family	Member (major ligand)
TLRs	TLR1 (triacyl lipopeptides), TLR2 (LTA <sup>a</sup> , 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 <sup>*</sup> 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)

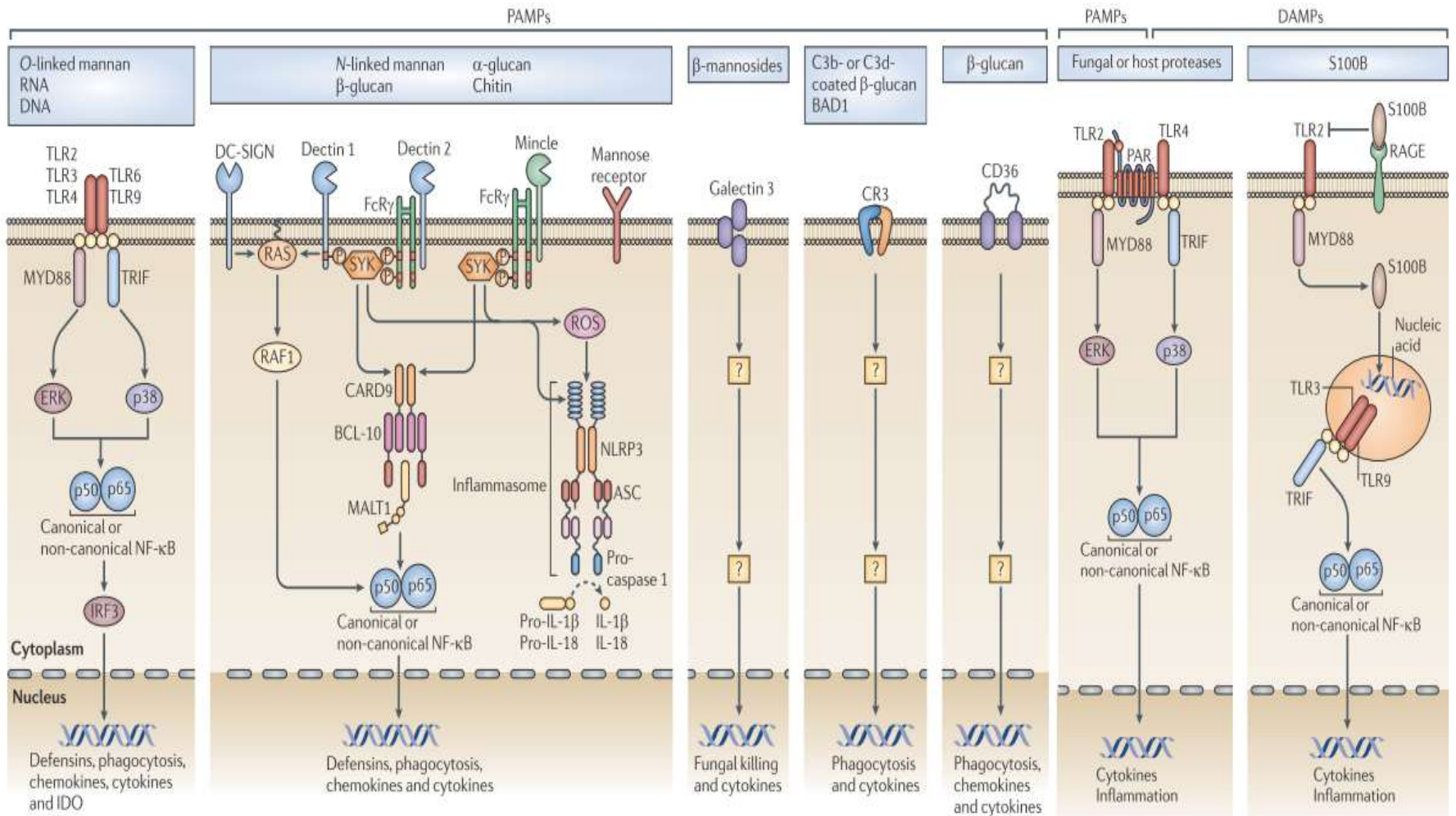
\* AIM2-like receptors: Presencia de dominio pirina y dominio HIN de unión al ADN bacteriano  
\* Inflamosoma  PRR citoplasma,  PRR membrana  
 PRR solubles

- ▶ 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)



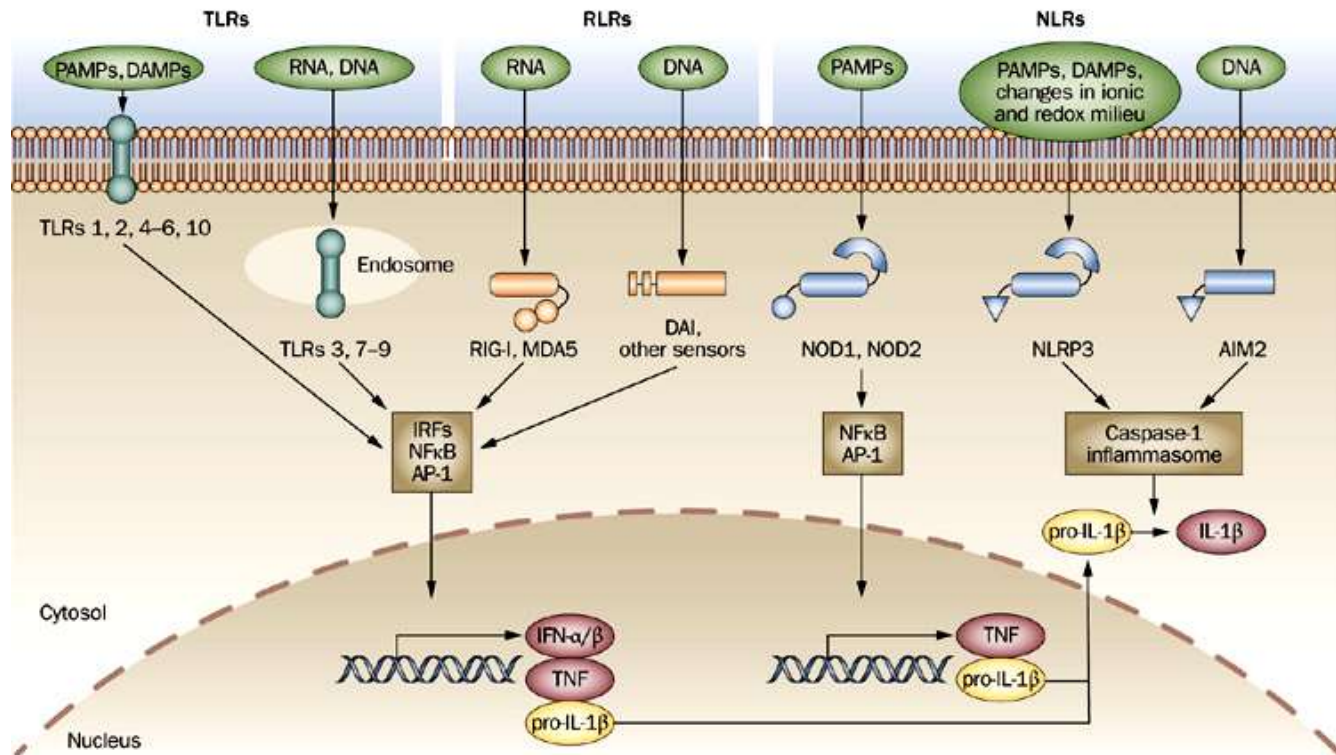
## Receptores de la Inmunidad Innata

# Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos



# Receptores para DAMPs

- ▶ Componentes liberados en el daño celular:
  - ▶ Ácidos nucleicos, ECM, lípidos oxidados, ácido úrico, sílica,  $\beta$  amiloide, colesterol





Akira Shizuo. Curr Opin Immunol, 2003, 15:5-11.

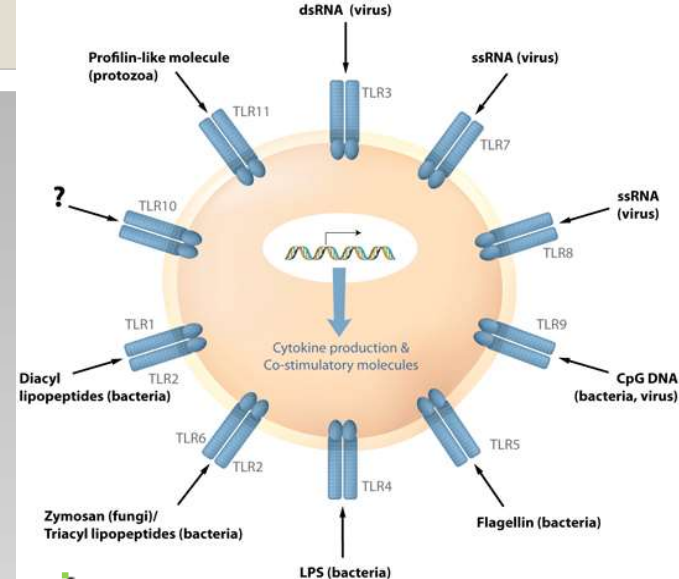
Pasare C. And Medzhitov R. Curr Opin Immunol, 2003, 15:1-6.

Goldstein DR. Curr Opin Immunol. 2004)

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

Beufler B. Blood 2009

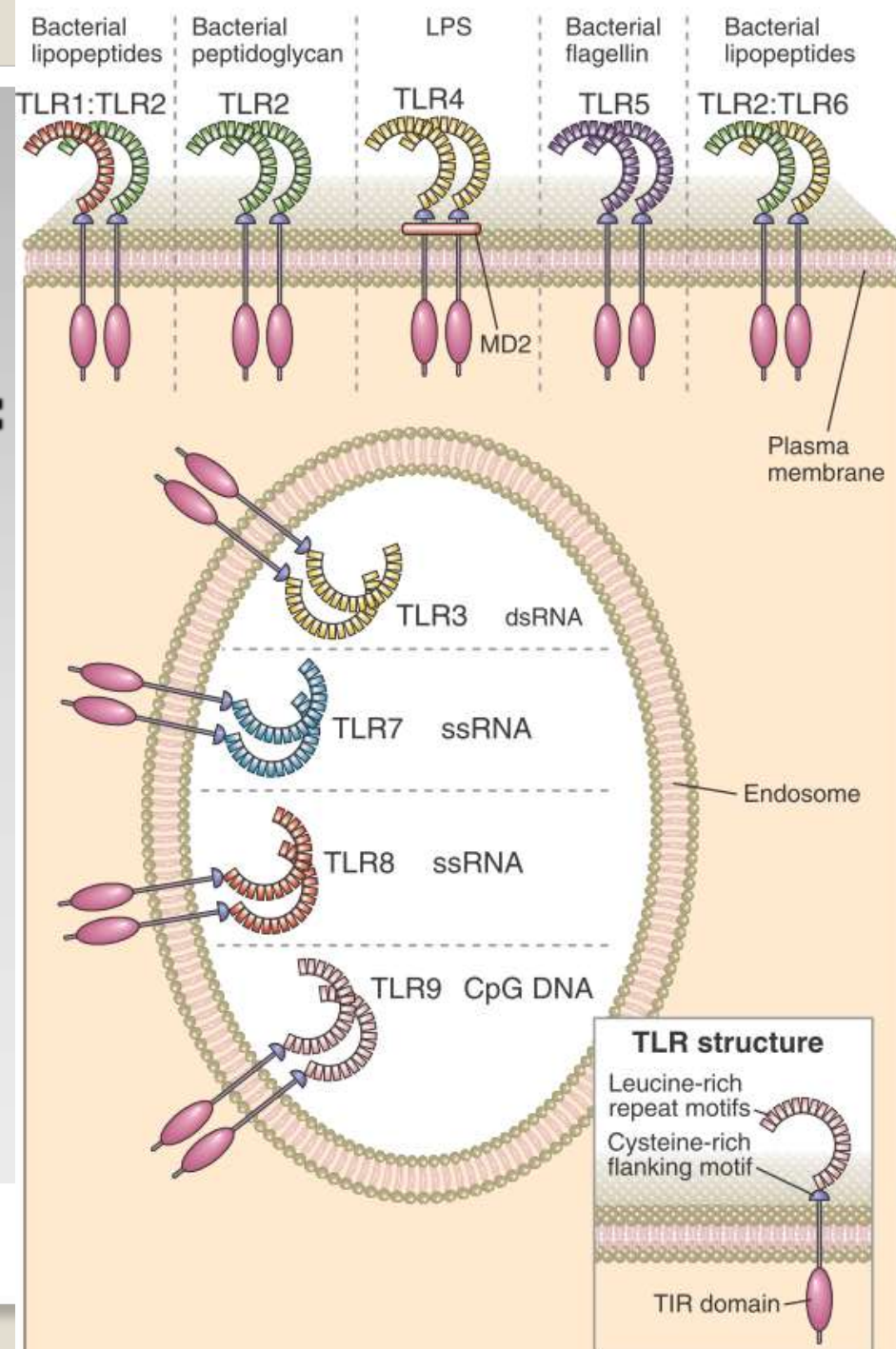
# Receptores Toll (TLR)



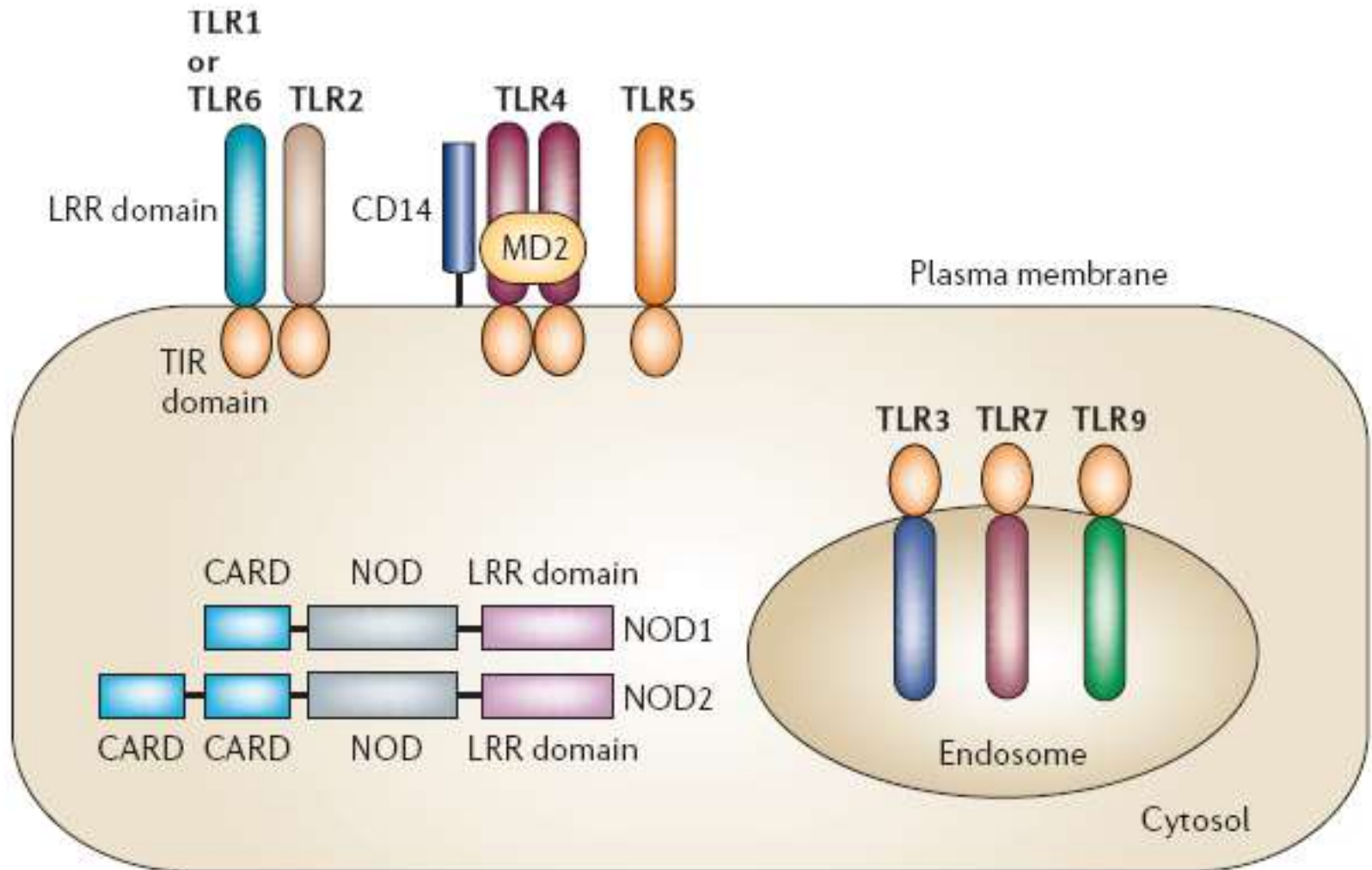
- ▶ Reconocen bacterias, hongos y virus
- ▶ Reconocimiento de motivos altamente conservados: patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS)
- ▶ 13 receptores Toll hasta ahora descritos
- ▶ Dominio extracelular rico en leucina (LRR)
- ▶ Dominio intracitoplasmático similar al receptor de IL-1 (TIR)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

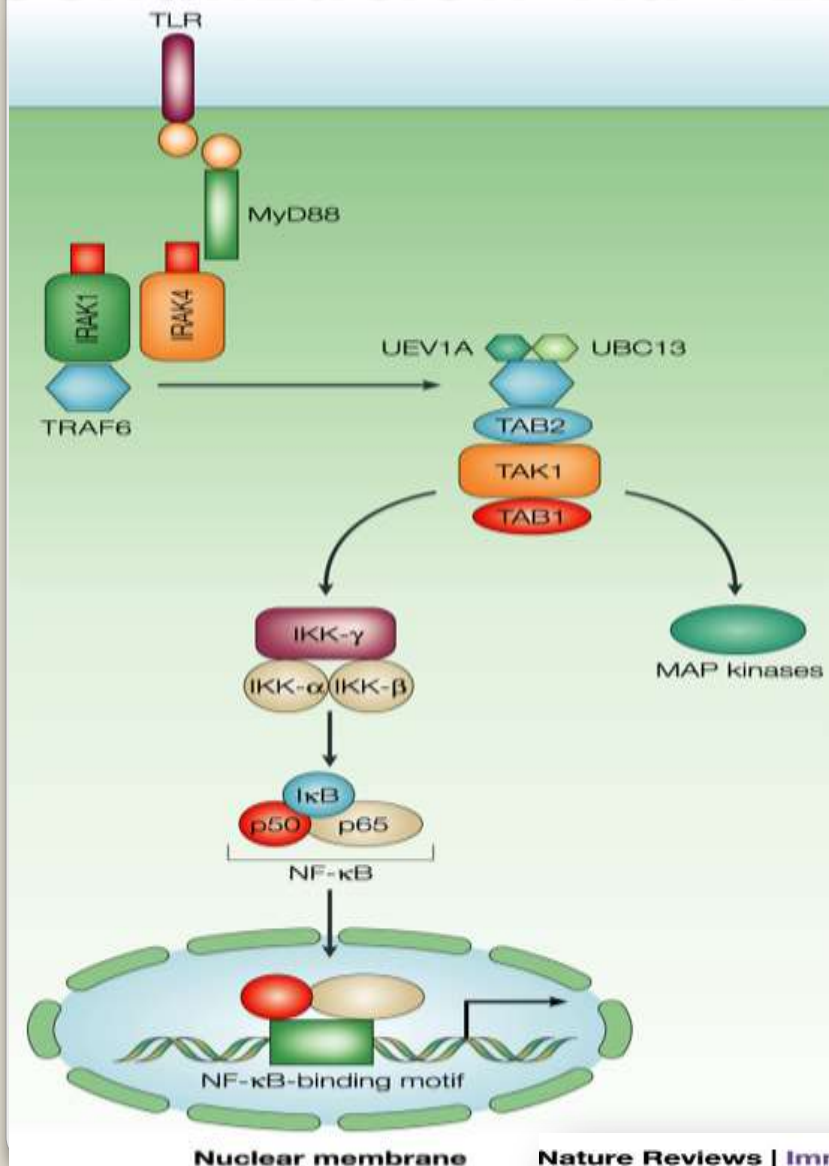


# Estructura y localización celular de TLRs y NOD

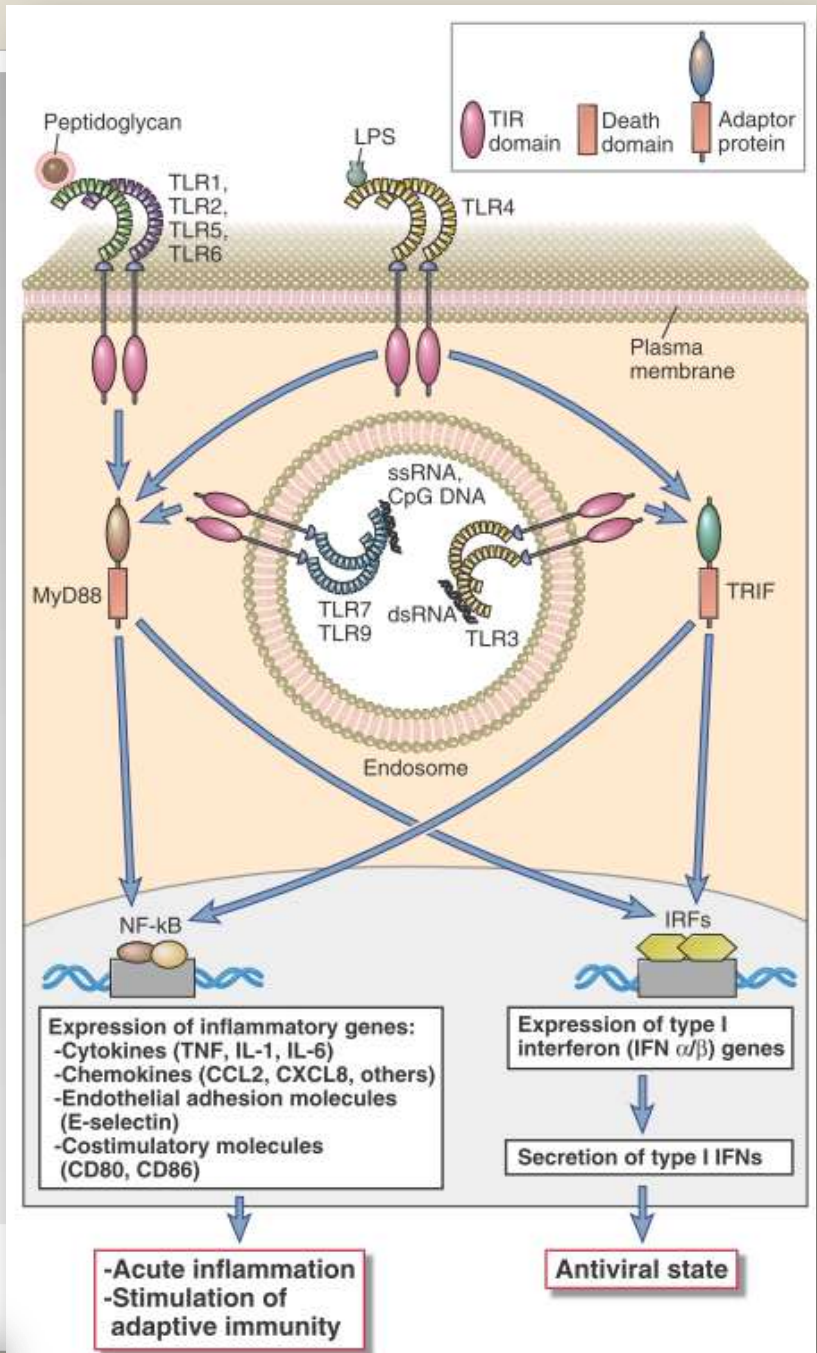


Warren Strober\*, Peter J. Murray‡, Atsushi Kitani\* and Tomohiro Watanabe, volumen 6, Enero 2006

# Estructura y señalización vía TLR



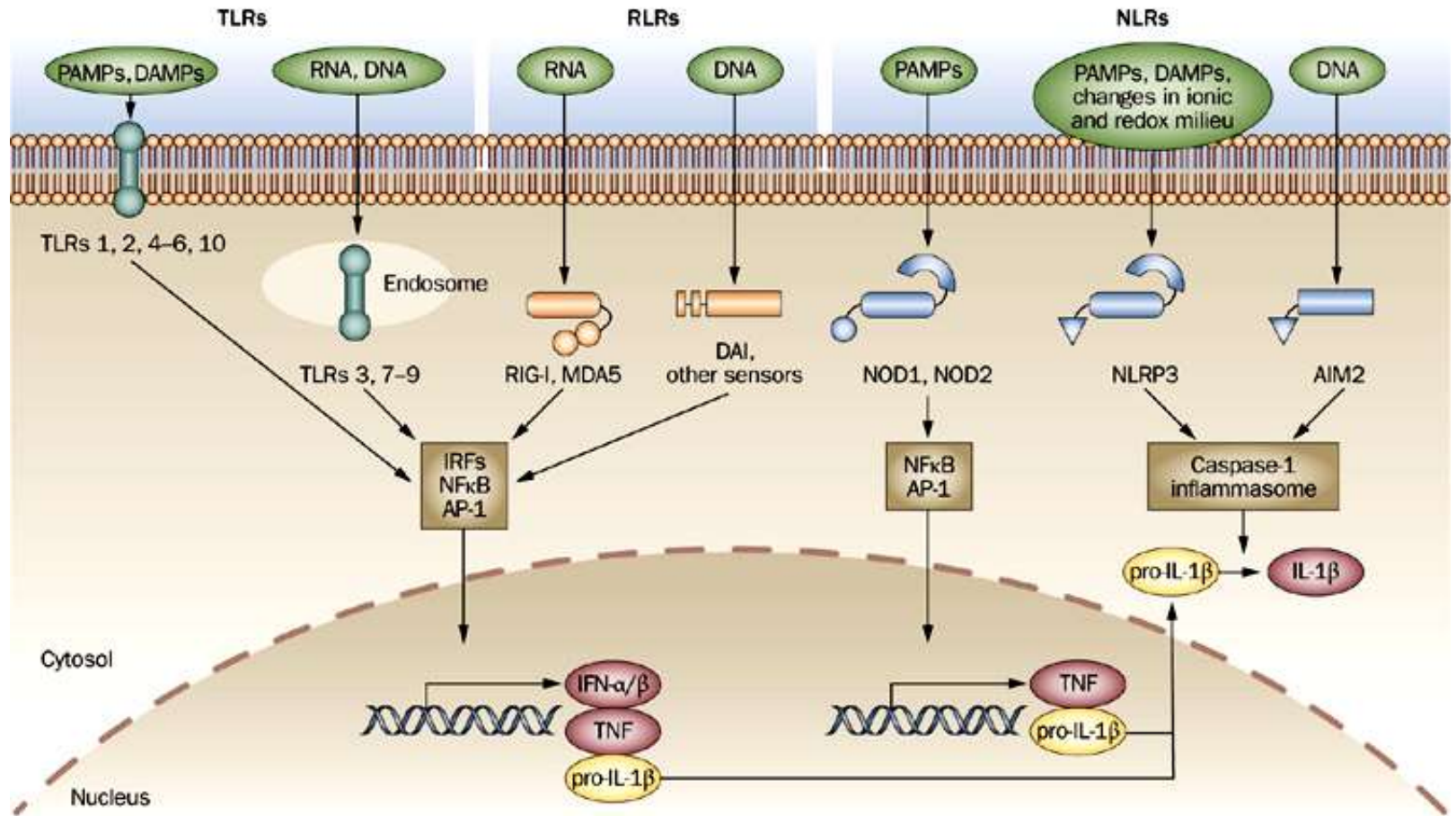
Nature Reviews | Immunology



# 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*

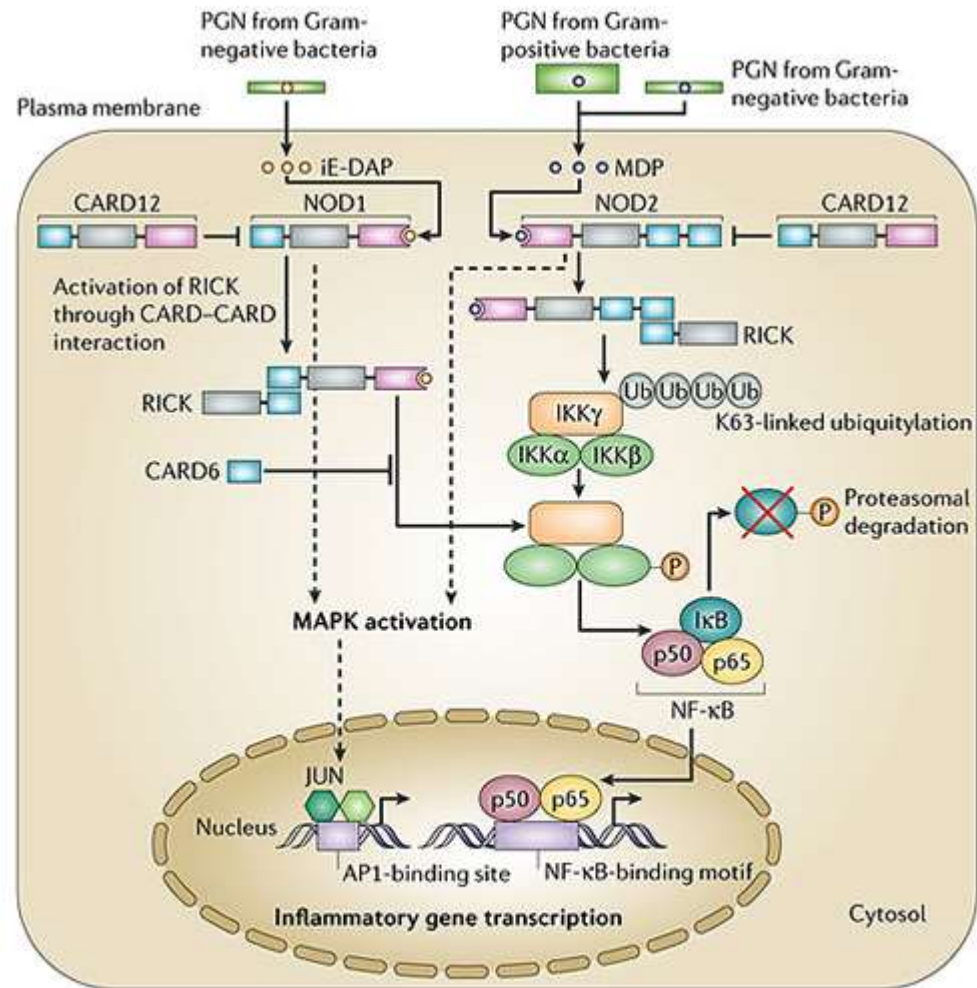
# Receptores citoplasmáticos:



- Familia NLR ( NOD) que incluye al menos 23 miembros designados como NOD o NALPS (NACHT, LRR y proteínas que contienen dominios de pyrina)
- 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)

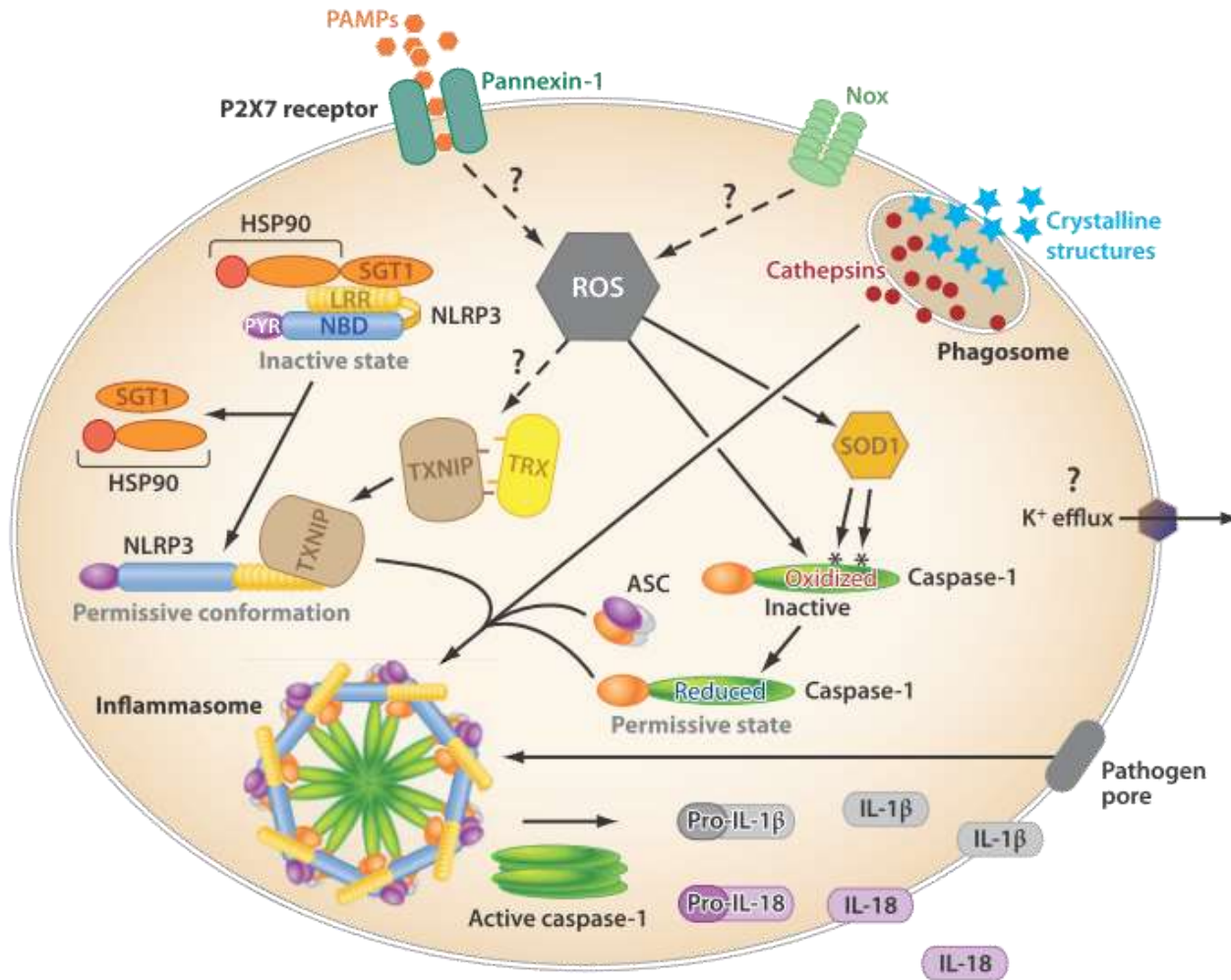
## Receptores citoplasmáticos

# Receptores tipo NOD





# 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, autoimmunity	NALP1		unknown	unknown

# Enfermedades asociadas

Otras enfermedades  
inflamatorias

## NLRP3:

- Esclerosis múltiple
- Alzheimer
- Enfermedad de Parkinson
- Diabetes mellitus tipo 2
- Aterosclerosis
- Obesidad

# Péptidos antimicrobianos: Las defensinas

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

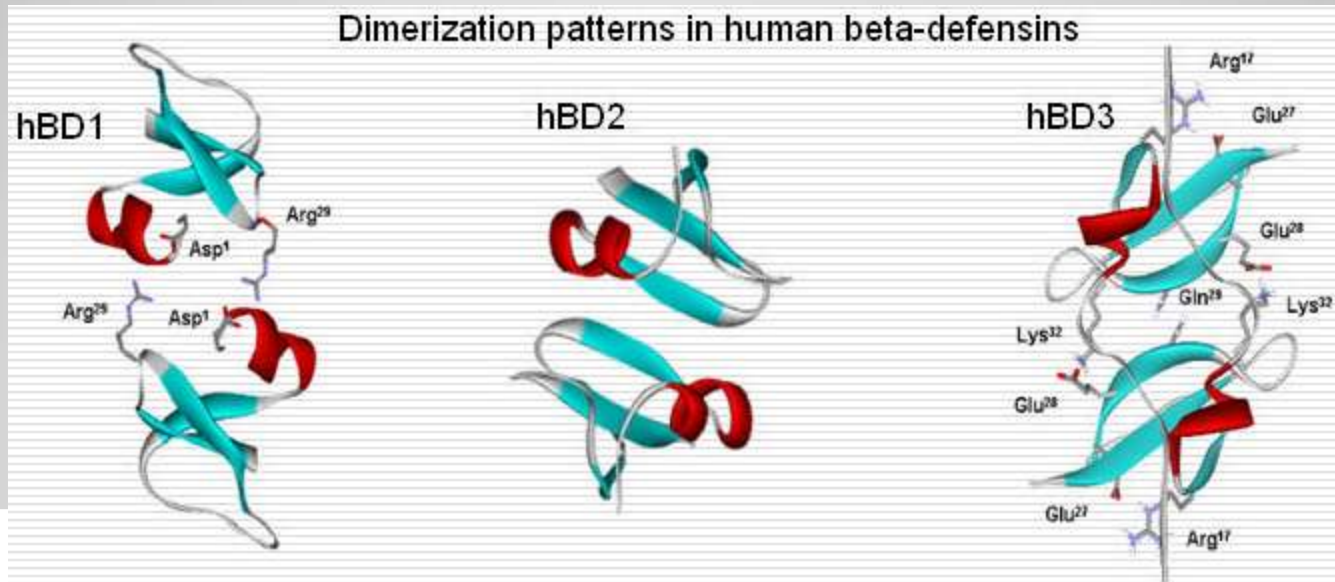
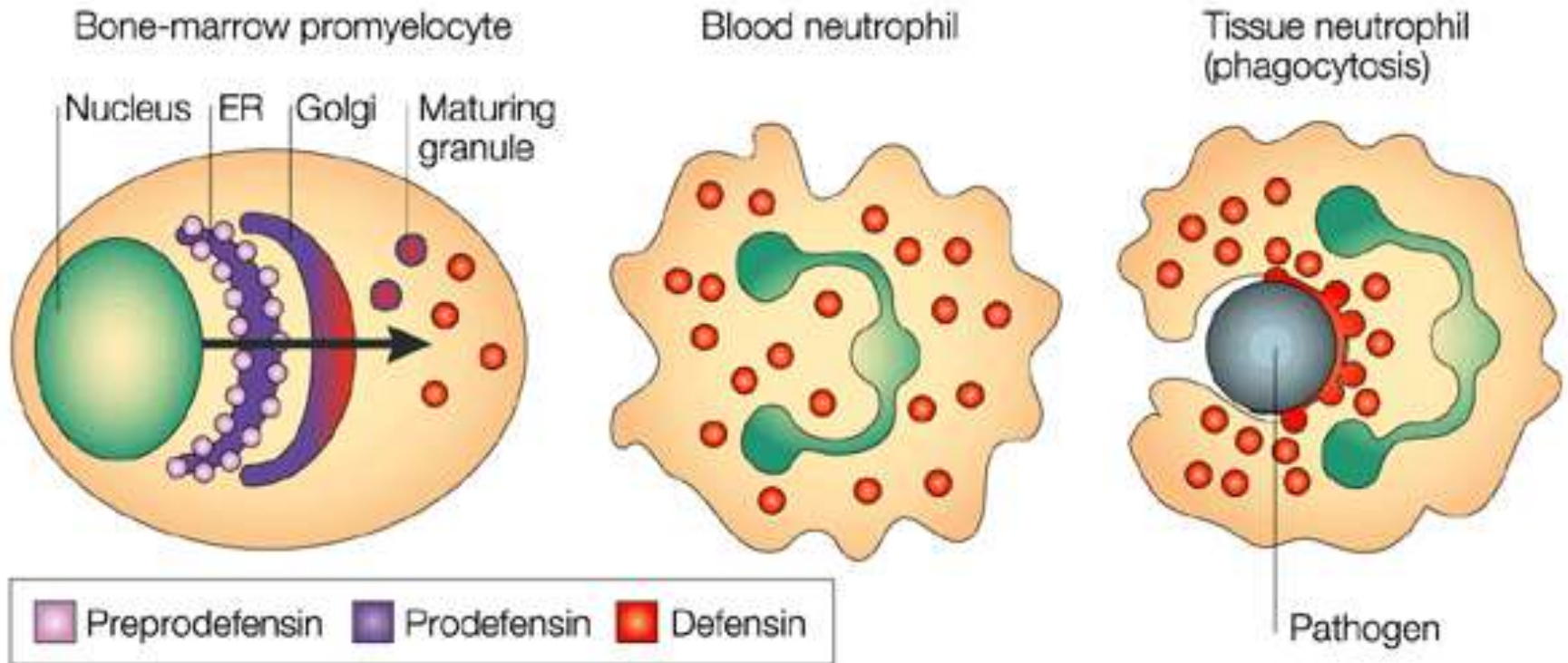


Table 1 | **Distribution and source of defensins**

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- $\gamma$ , 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 $\beta$ , TNF) and growth factors
HBD4	Gastric antrum and testes	Epithelial cells*	Constitutive or inducible in response to PMA and bacteria

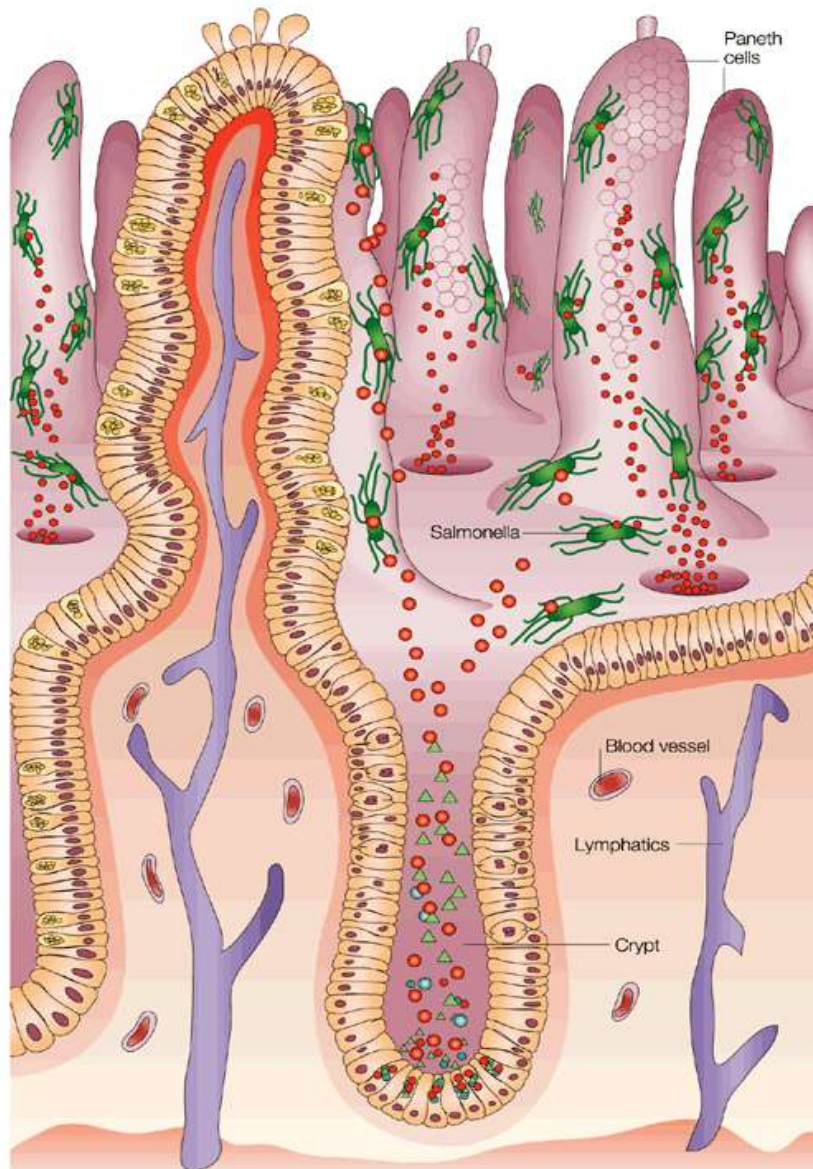
\*Main cellular source. HBD, human  $\beta$ -defensin; HD, human  $\alpha$ -defensin; HNP, human neutrophil peptide; IL-1 $\beta$ , interleukin-1 $\beta$ ; PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate; TNF, tumour-necrosis factor.

# Síntesis y liberación de defensinas



**HNP: defensina  $\alpha$ , péptido de los neutrófilos humanos**

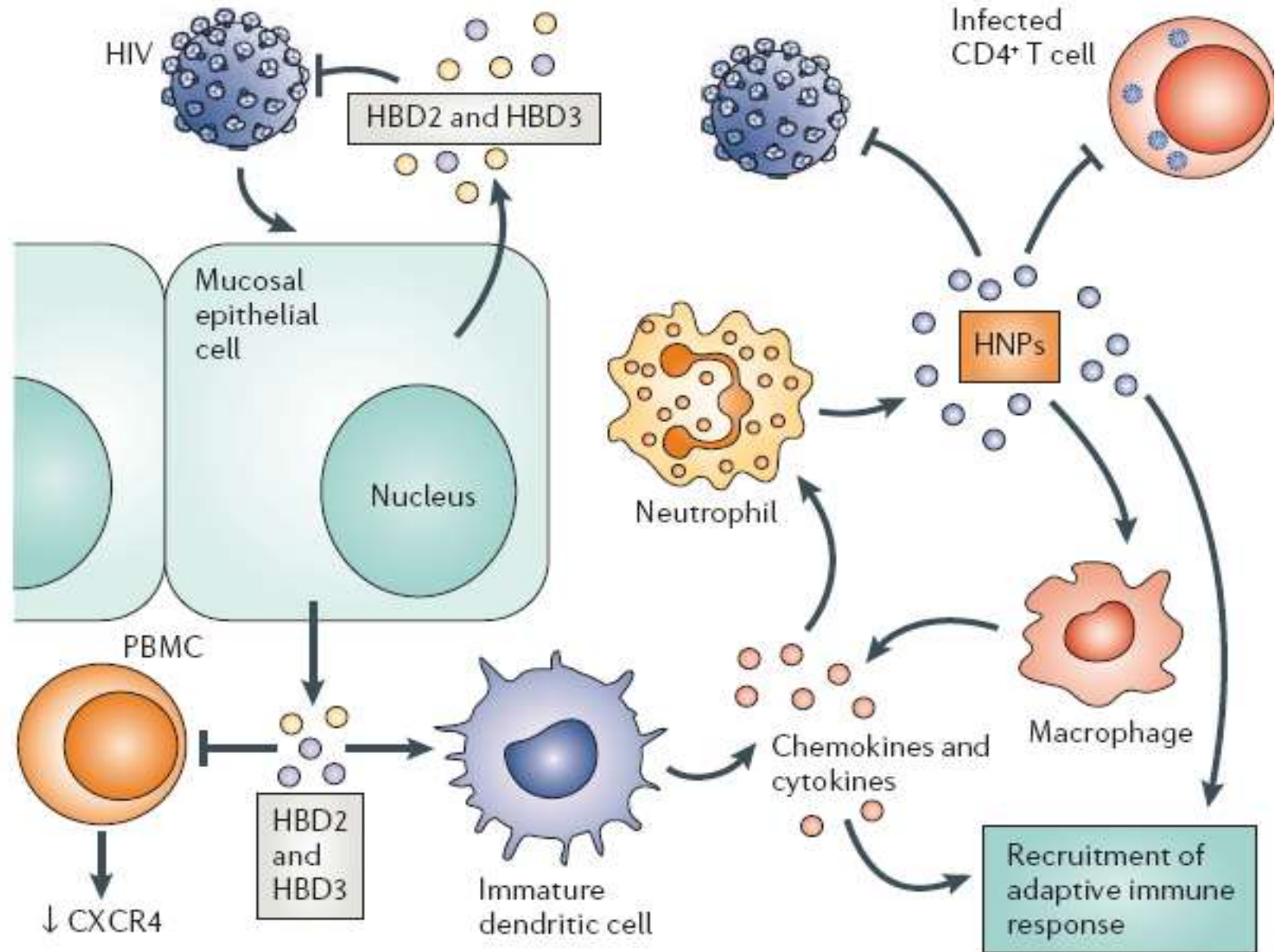
Nature Reviews | Immunology



Nature Reviews | Immunology

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

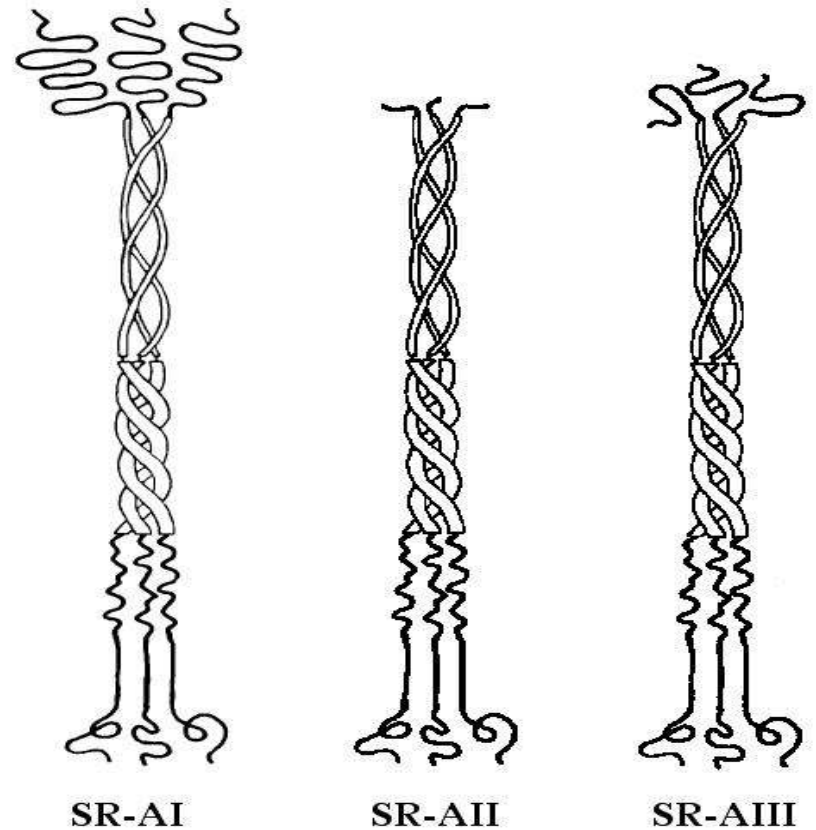
# Papel de las defensinas en la infección contra el HIV





# Receptores "Scavenger" en Inmunidad Innata

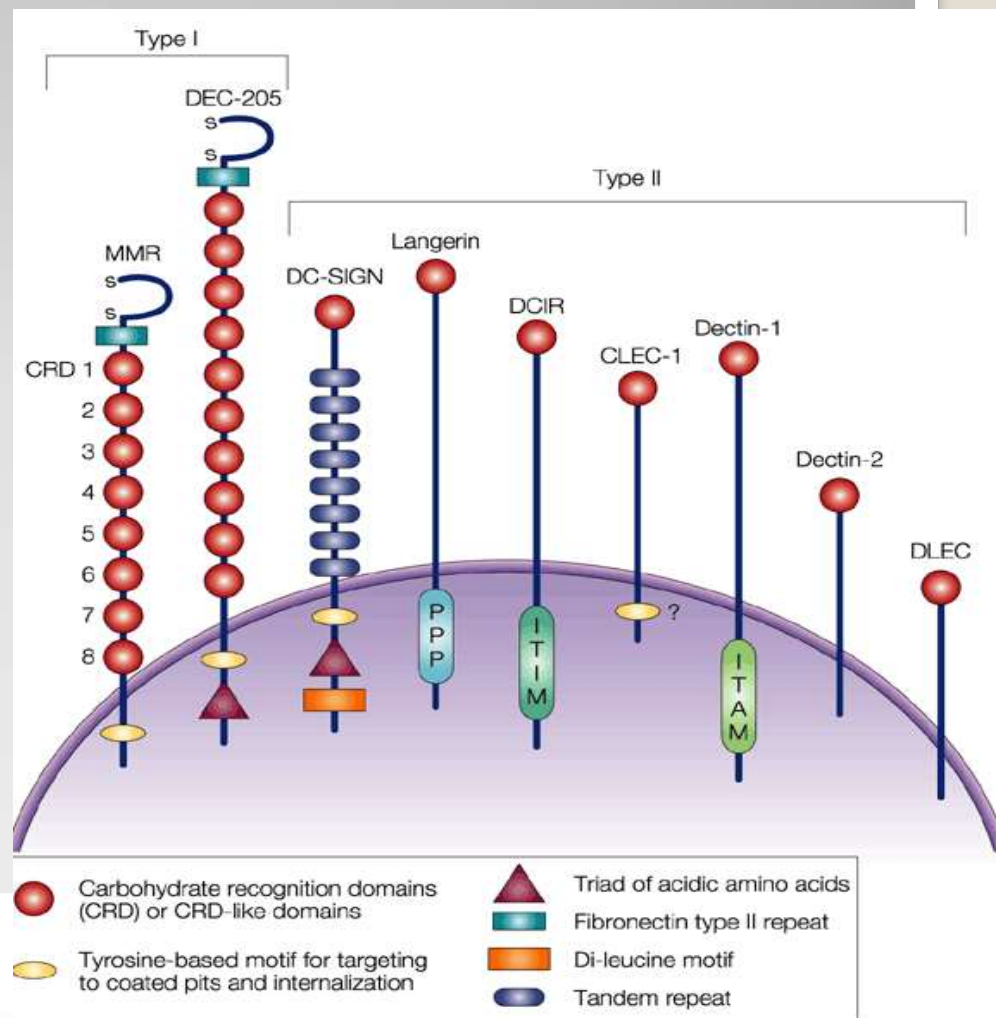
- ▶ Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales
- ▶ Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)
- ▶ Interacciones con bacterias
  - SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).



The class A macrophage scavenger receptor

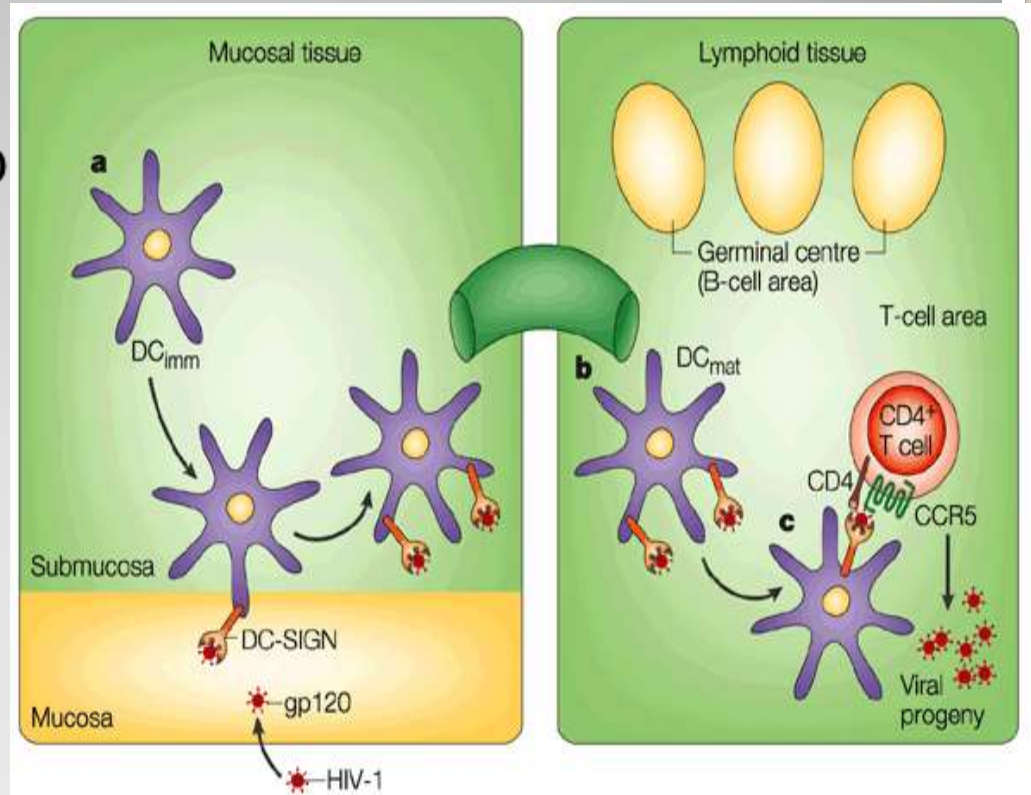
# Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- ▶ 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

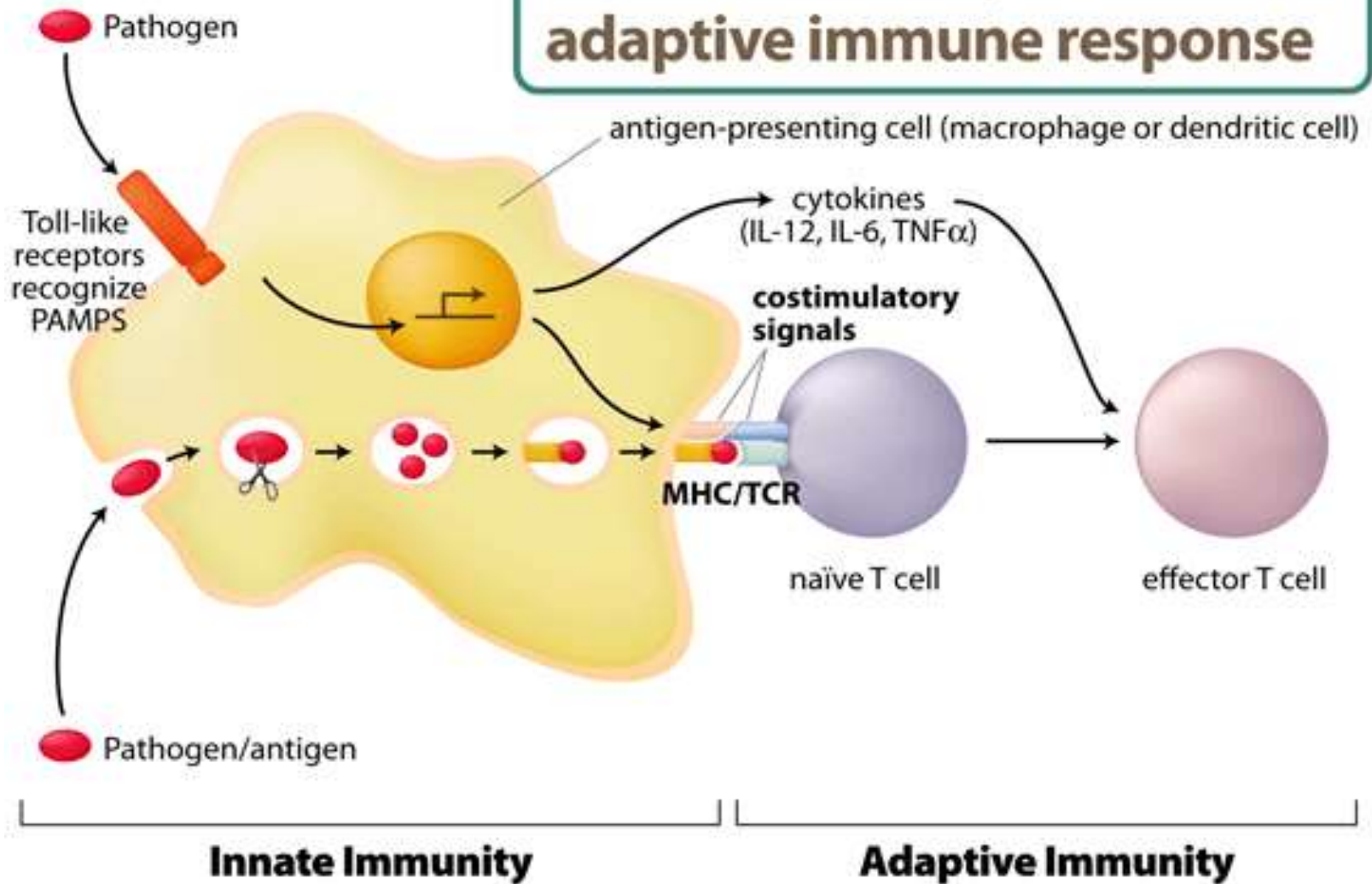


# Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

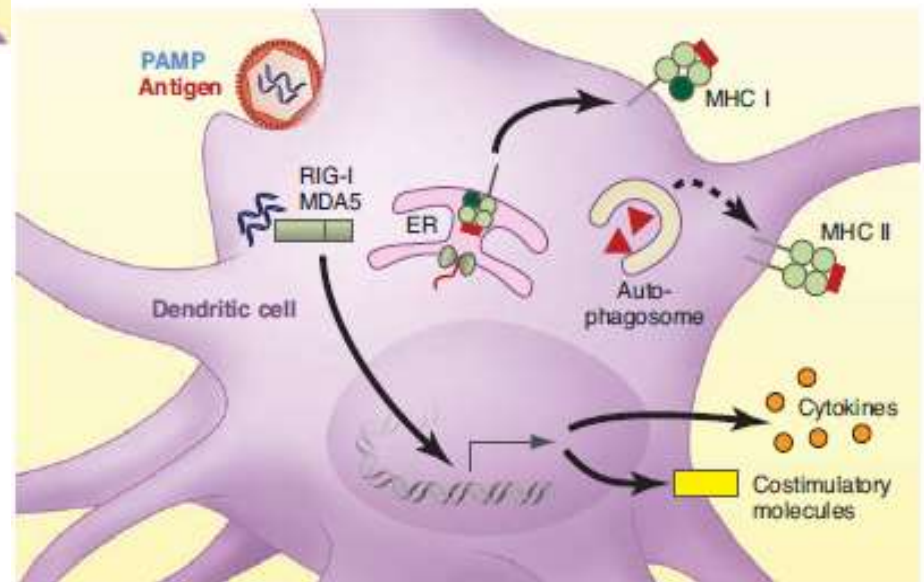
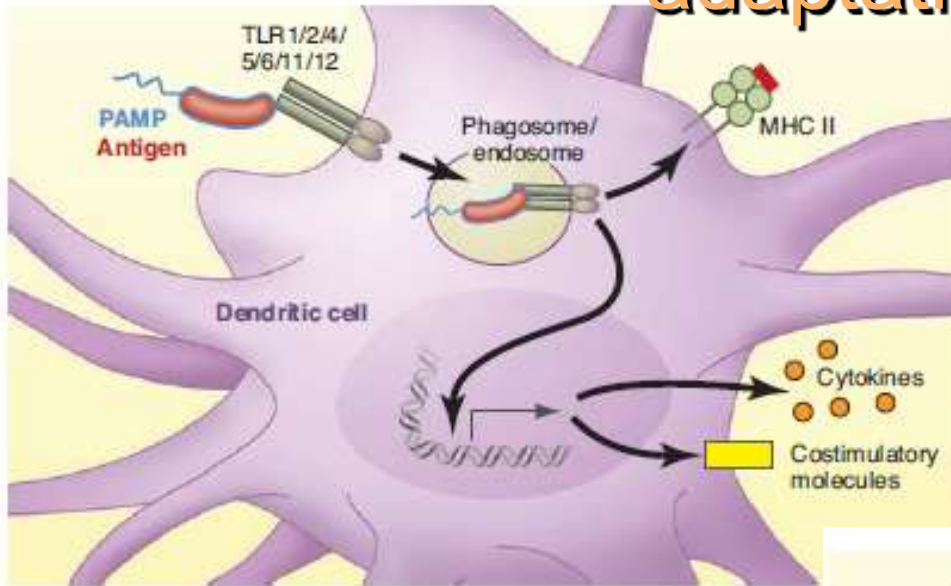
- ▶ Familia de receptores unidos a la membrana del tipo lectina: de tipo I (posee varios CRDs) y de tipo II (un solo dominio CRD)
- ▶ De tipo I: MMR, DEC 205
- ▶ De tipo II: Langerina, DC-Sign, induce proliferación de células T mediada por DC.



# Innate immunity is critical to adaptive immune response

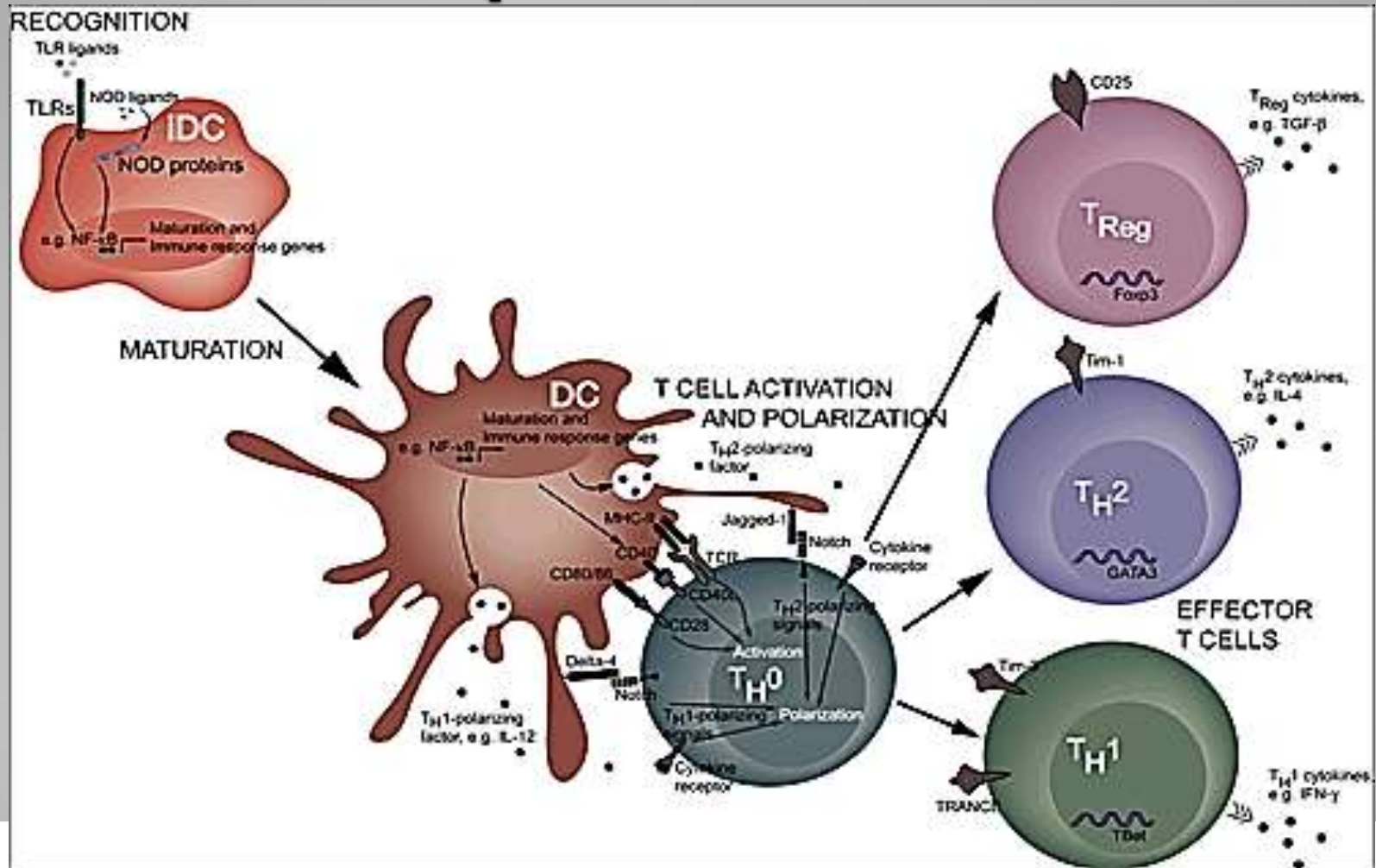


# Papel de los PRRs en la respuesta inmune adaptativa

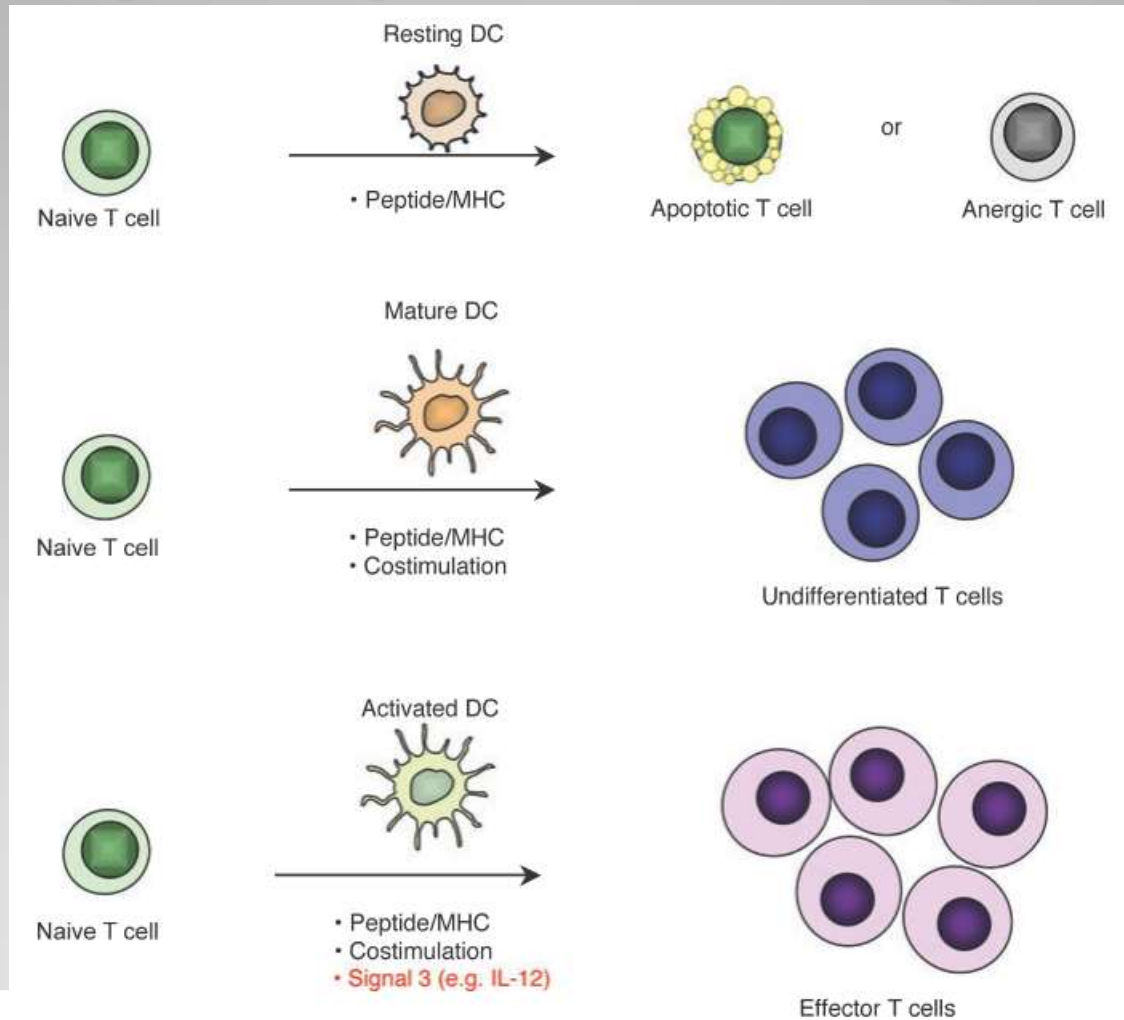


Akiko Iwasaki et al, Science 2010

# 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



