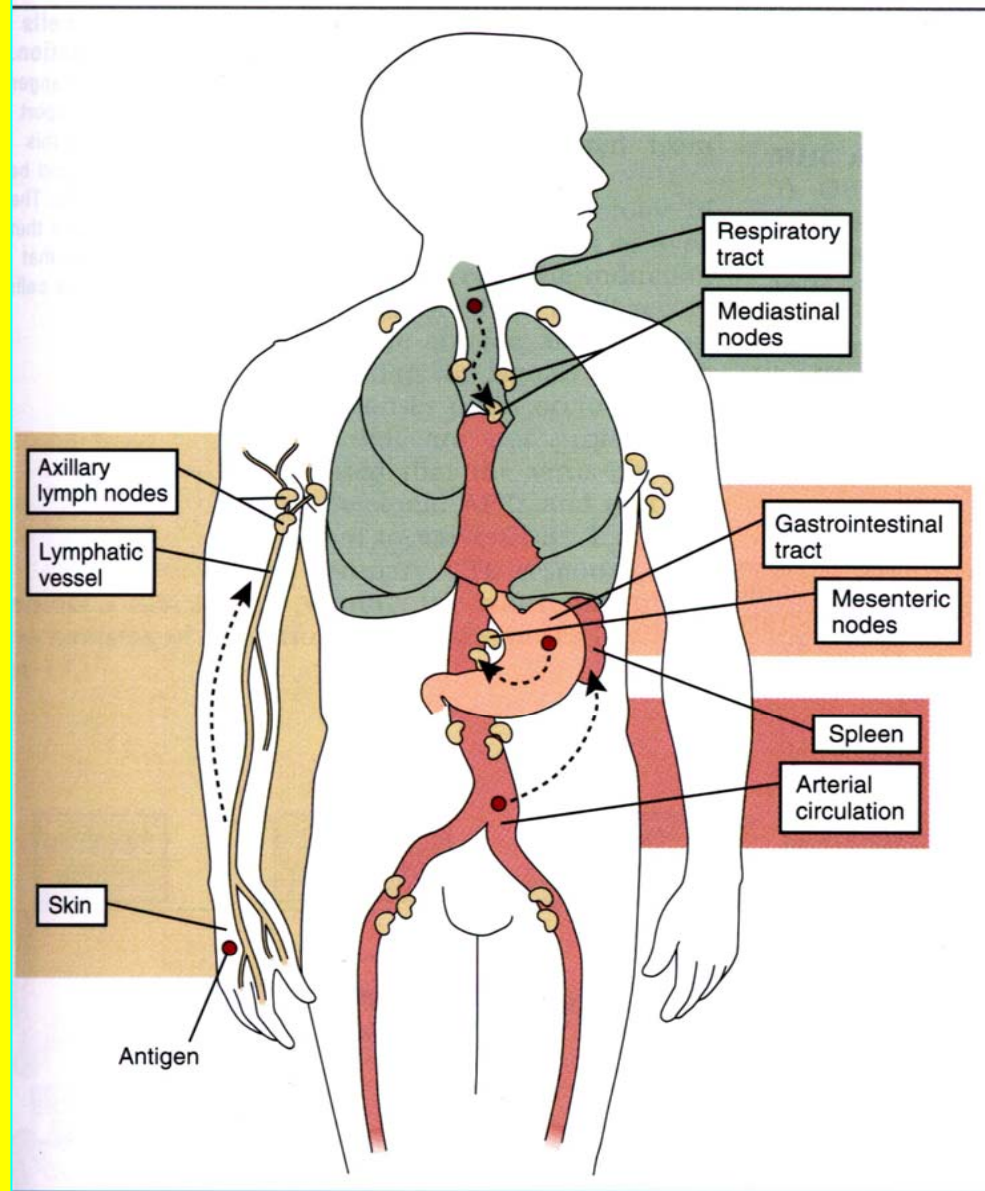


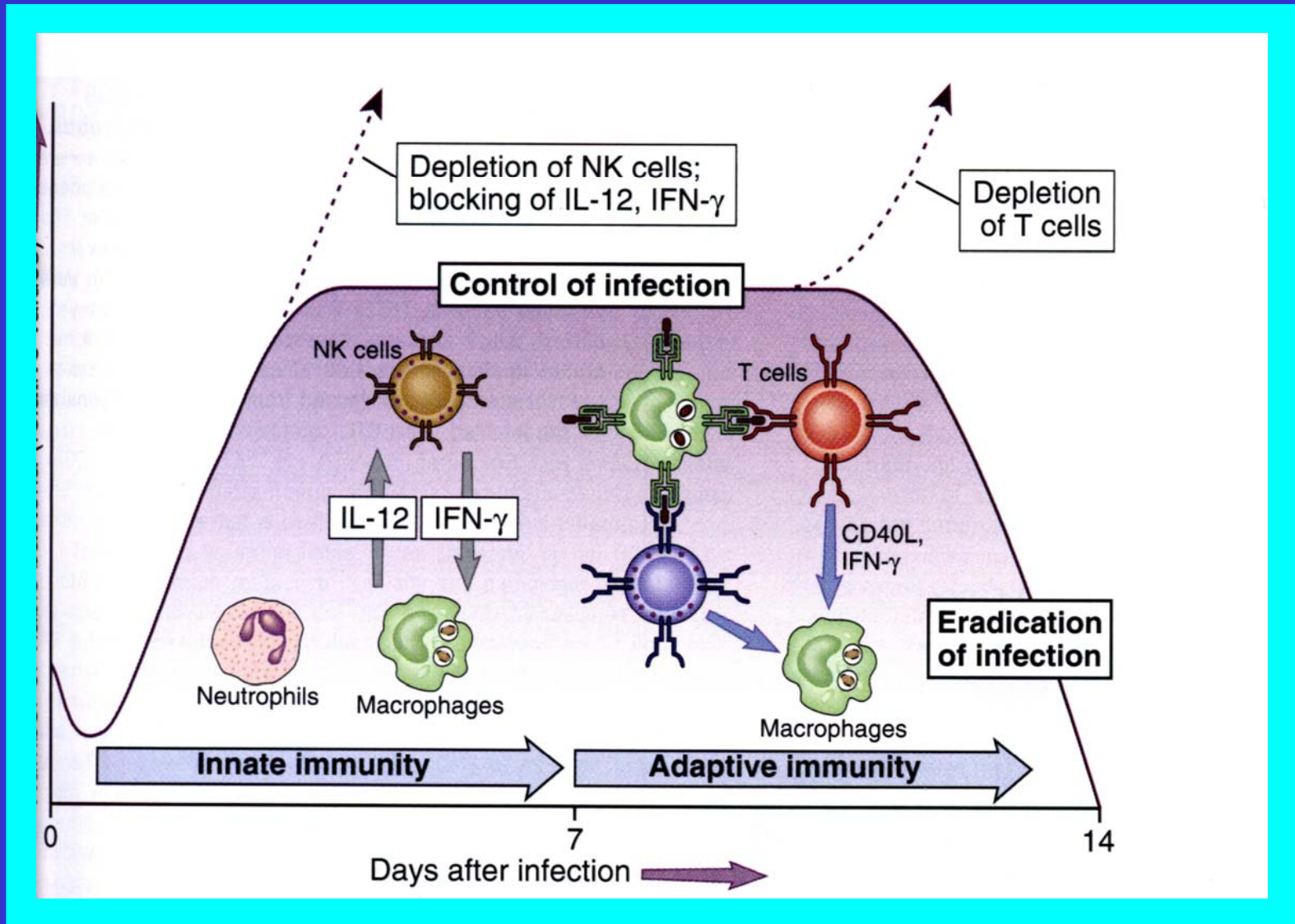
Fisiología de la RI: Inmunidad Innata

Lisbeth Berrueta, IDIC-ULA 2008

Respuesta inmune



Tipos de respuesta inmune



Sistema inmune innato

- 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)

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, citocinas 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	
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

Reconocimiento inmune innato

- Basado en el reconocimiento de productos constitutivos conservados
- Pertencientes 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

Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos

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)

PRR citoplasma,
 PRR membrana
 PRR solubles

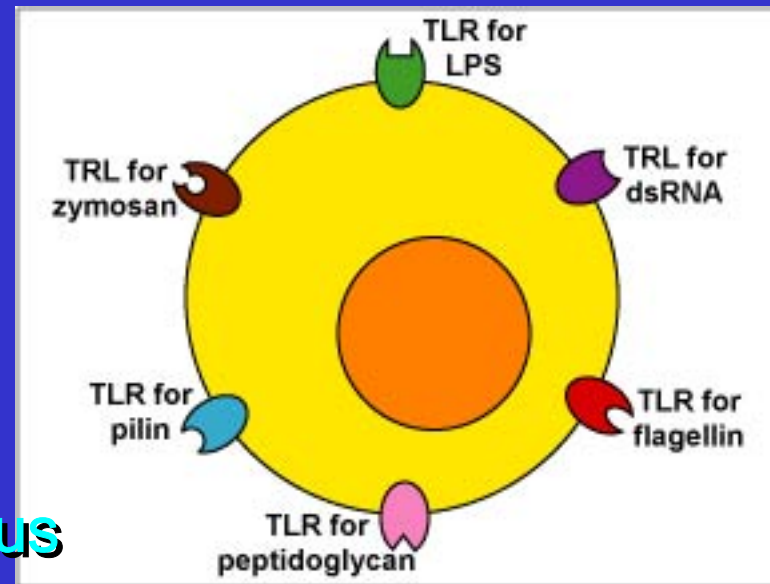
Receptores de la inmunidad Innata

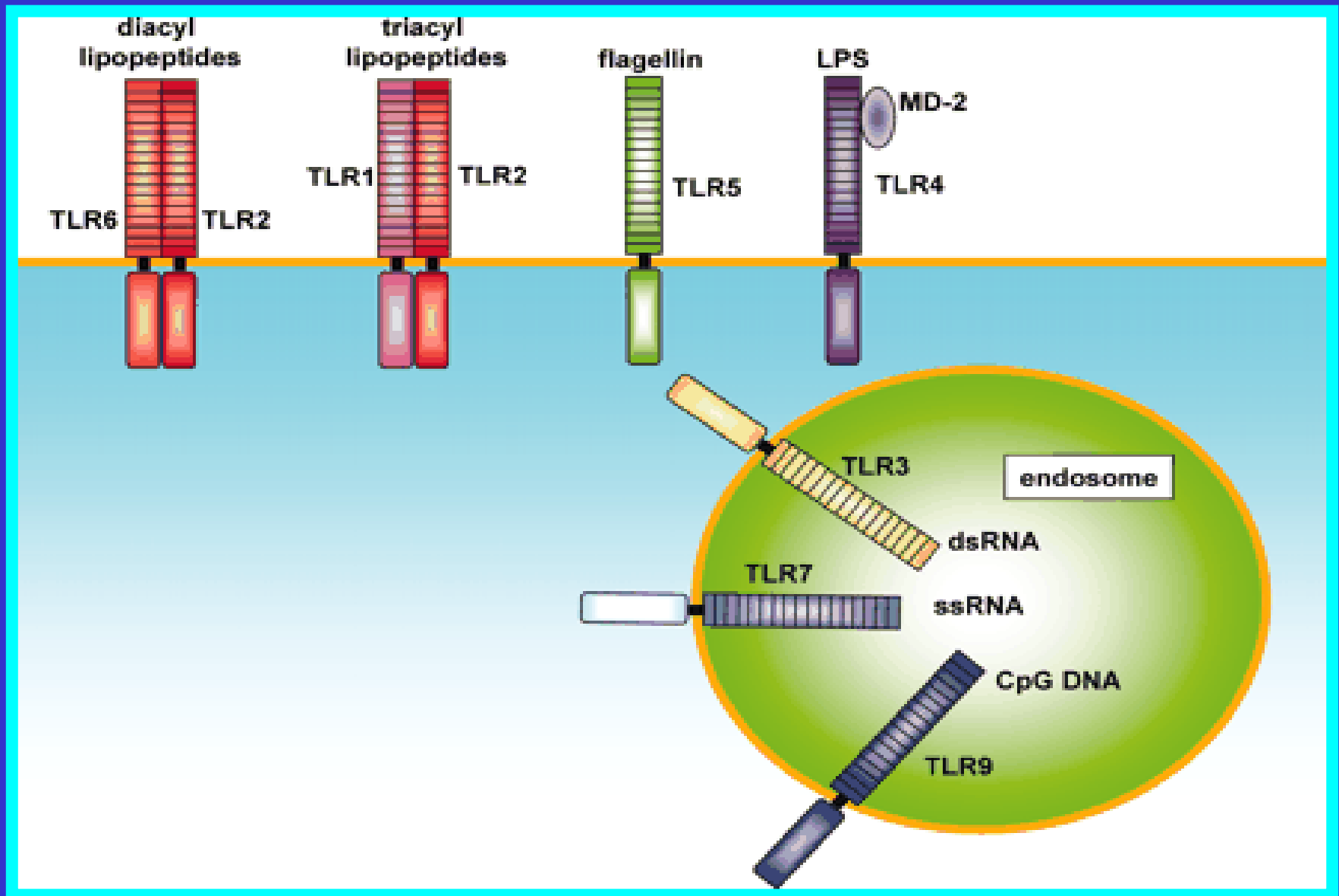
- Distintas clases de PRR dentro de ellos están los receptores Toll
- Funciones de activación de la cascada del complemento y fagocitosis. Iniciación de cascada de señalización que conduce a activación de la inmunidad innata
- Activación de inmunidad adaptativa
- Control mediante la participación de moléculas coestimuladoras, citocinas y quimiocinas (células dendríticas)

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

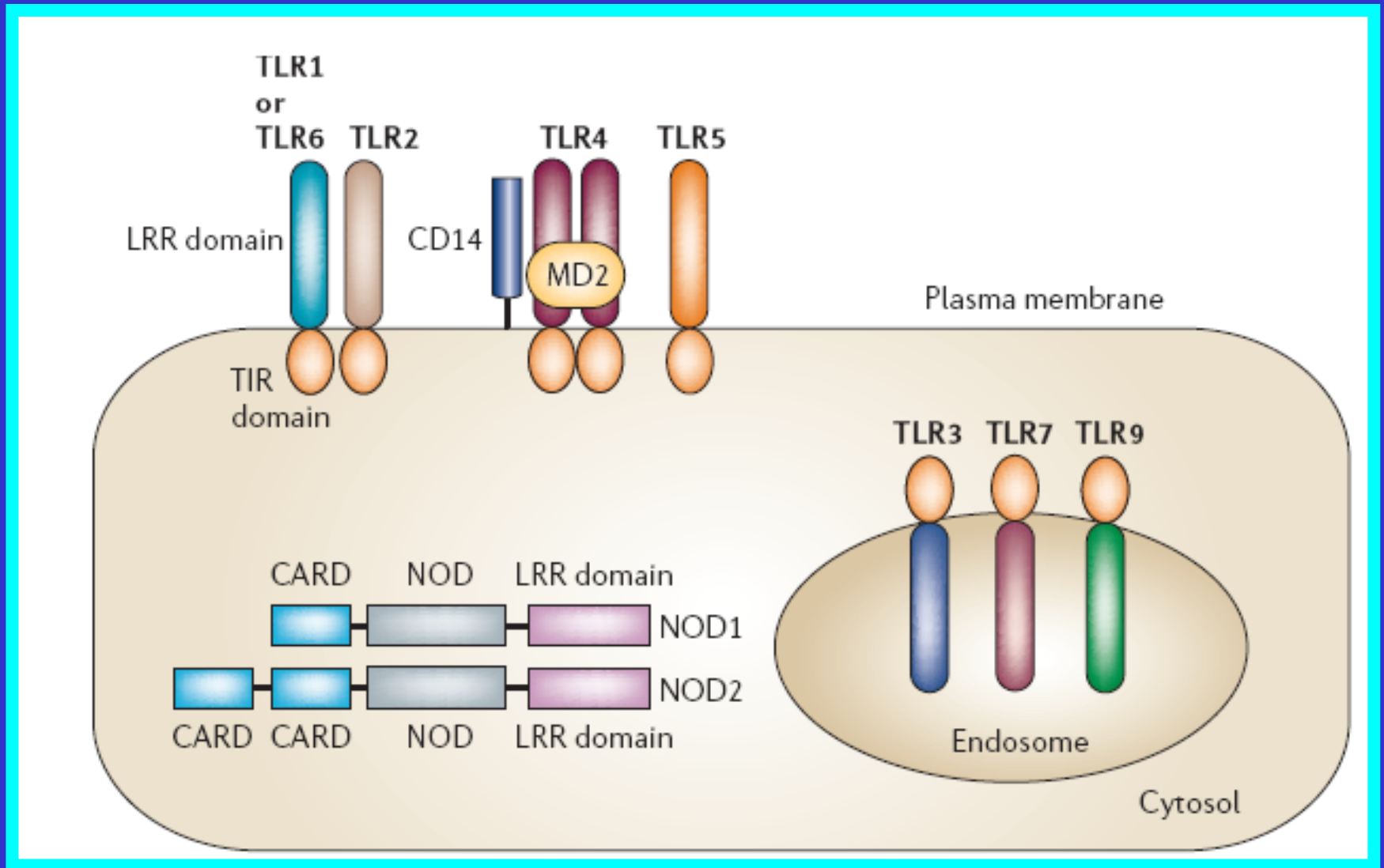
Receptores Toll (TLR)

- Reconocen bacterias, hongos y virus
- Reconocimiento de motivos altamente conservados: patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS)
- 11 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)- κ B

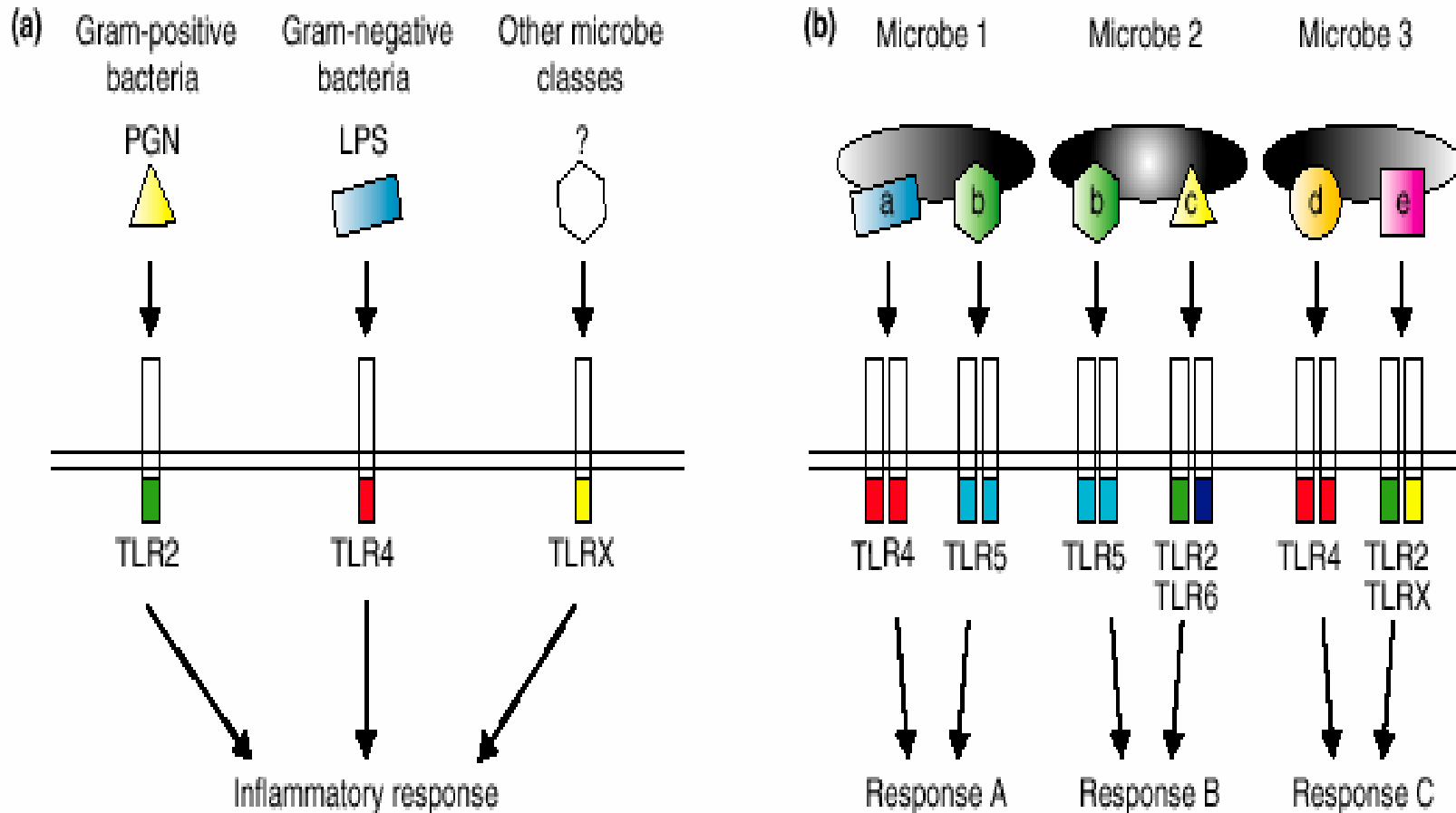




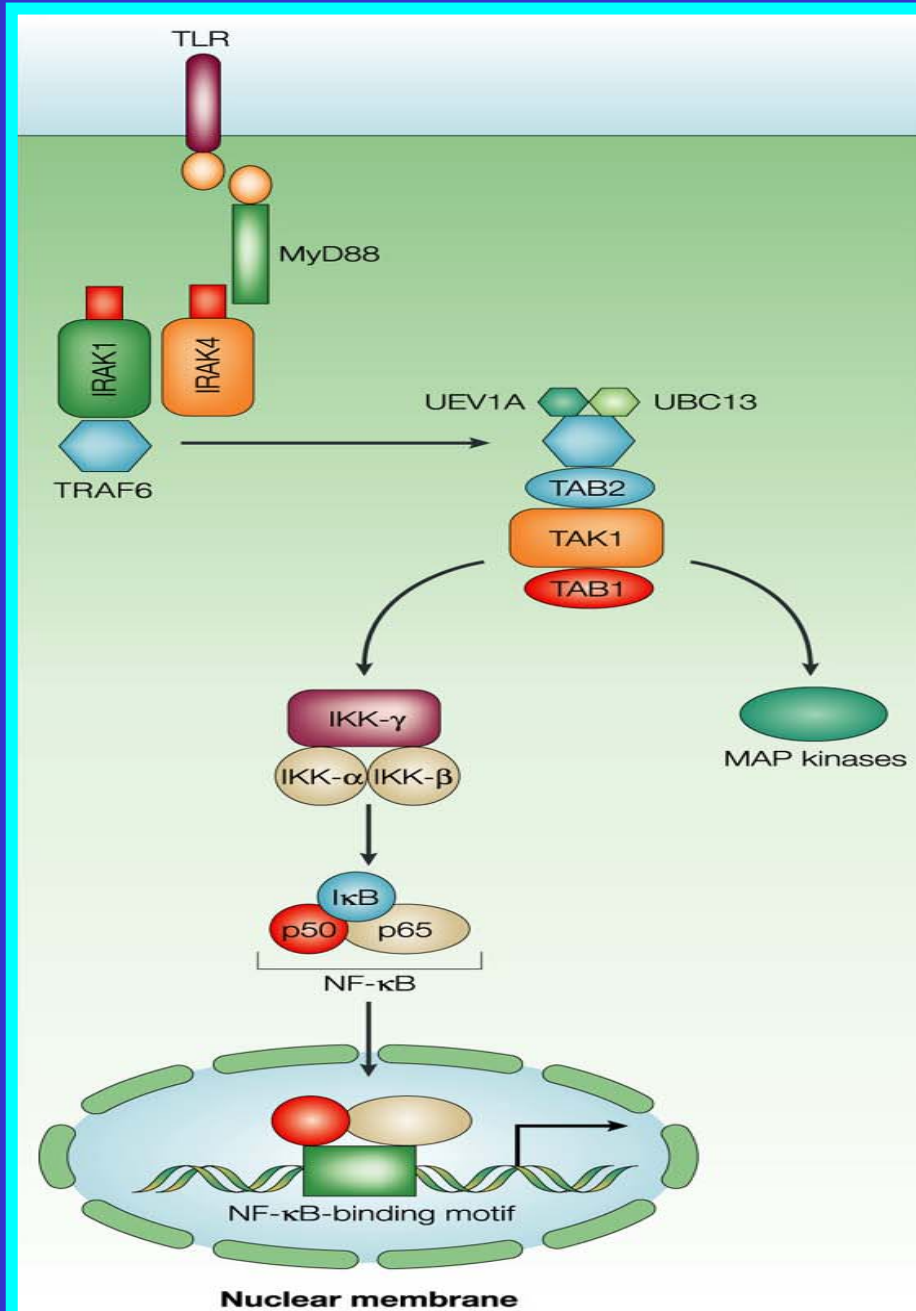
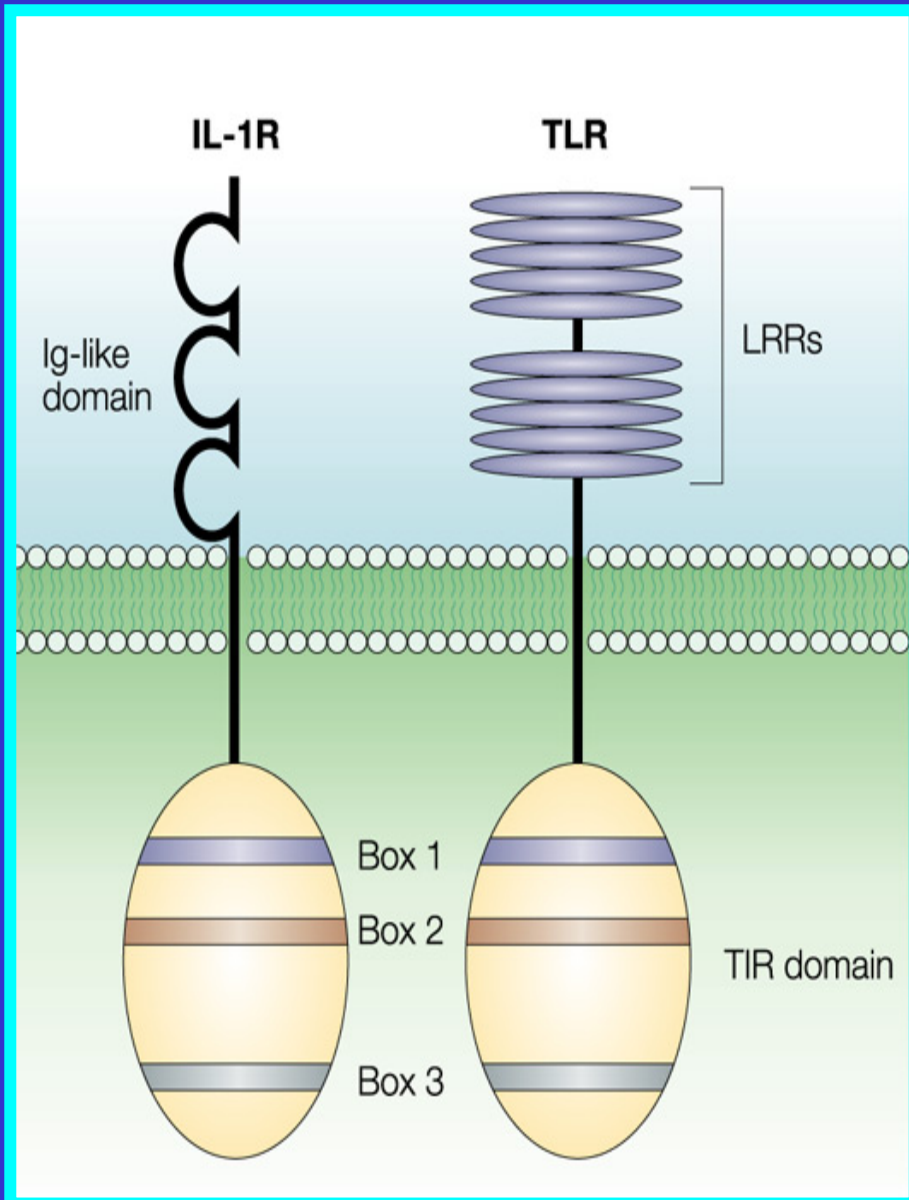
Estructura y localización celular de TLRs y NOD



Receptores de reconocimiento para patrones moleculares



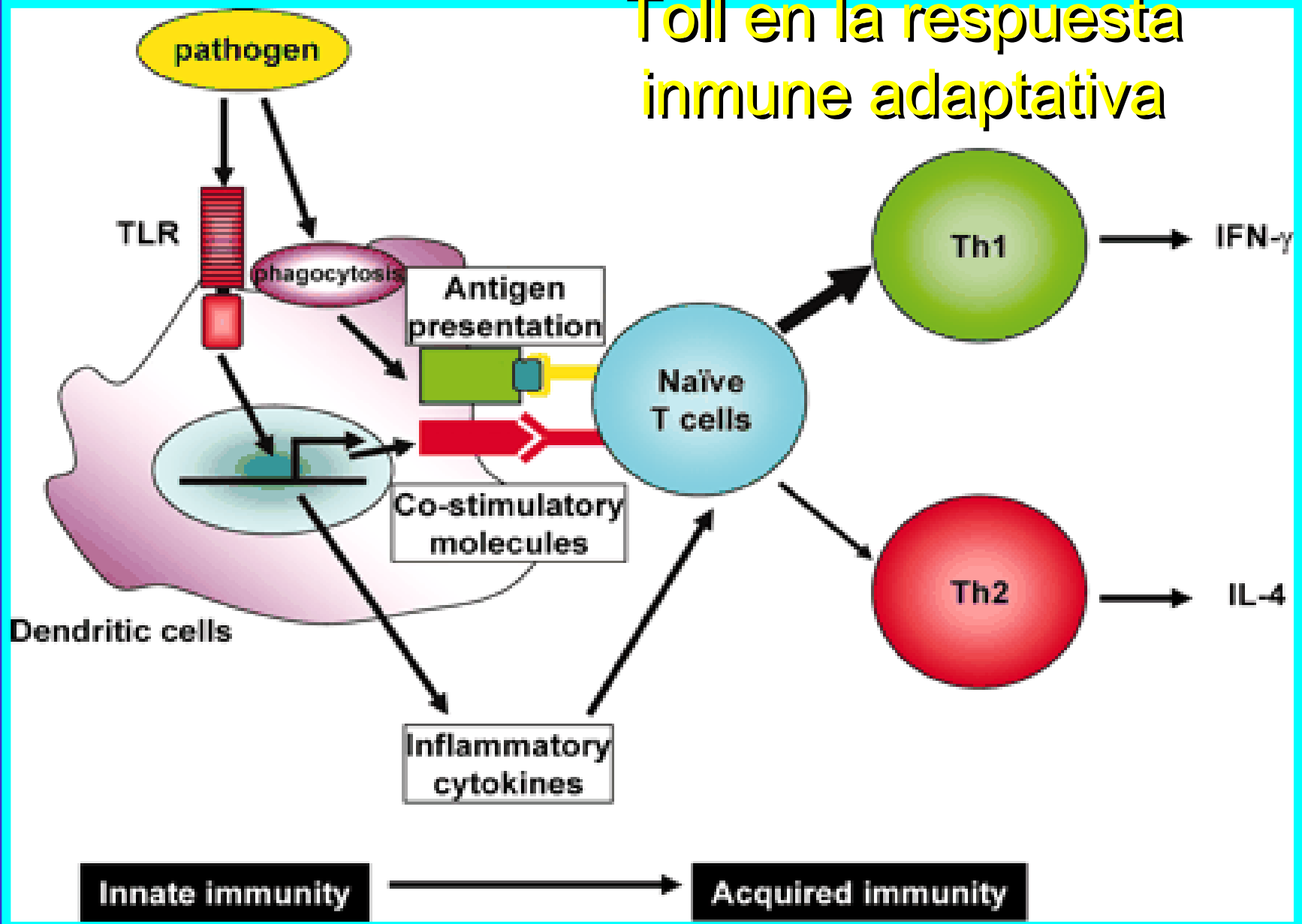
Estructura y señalización vía TLR



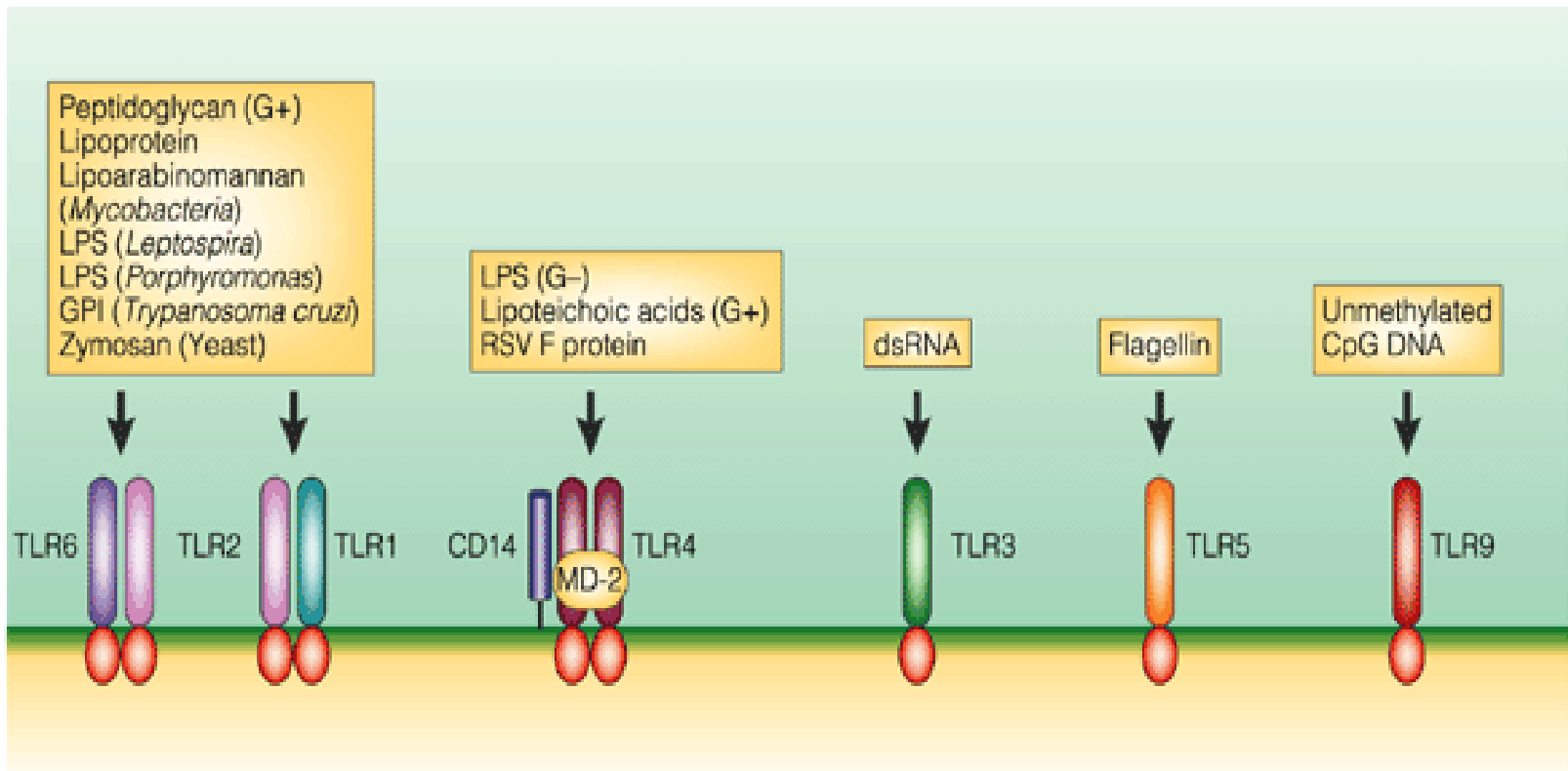
TLRs en inmunidad en mamíferos

- La mayoría de los ligandos son productos microbianos conservados
- La mayoría de los TLRs pueden reconocer varios ligandos estructuralmente no relacionados
- Algunos TLRs requieren de proteínas accesorias para reconocer sus ligandos

Papel de los receptores Toll en la respuesta inmune adaptativa



Especificidad de los receptores Toll



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

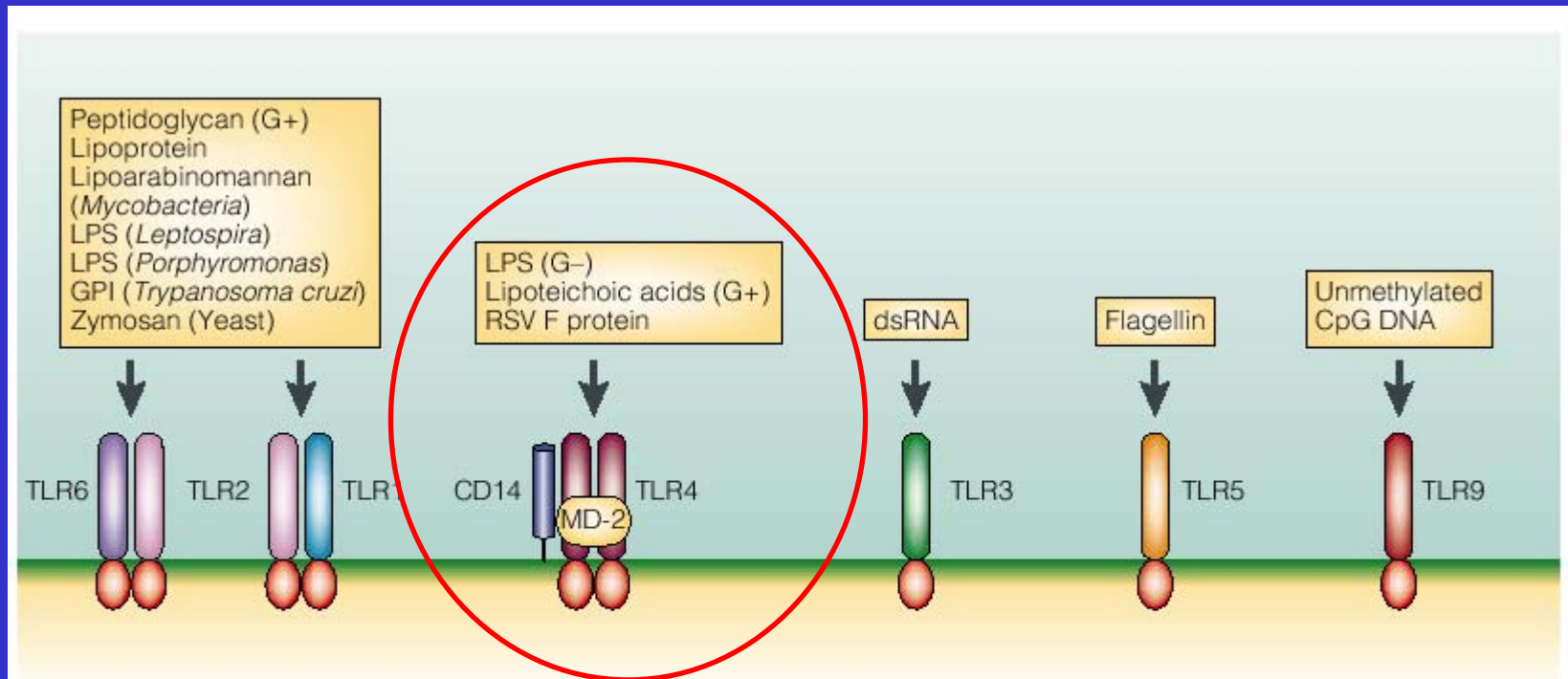


Figure 3 | **Ligand specificities of TLRs.** Toll-like receptors (TLRs) recognize a variety of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Recognition of lipopolysaccharide (LPS) by TLR4 is aided by two accessory proteins: CD14 and MD-2. TLR2 recognizes a broad range of structurally unrelated ligands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

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

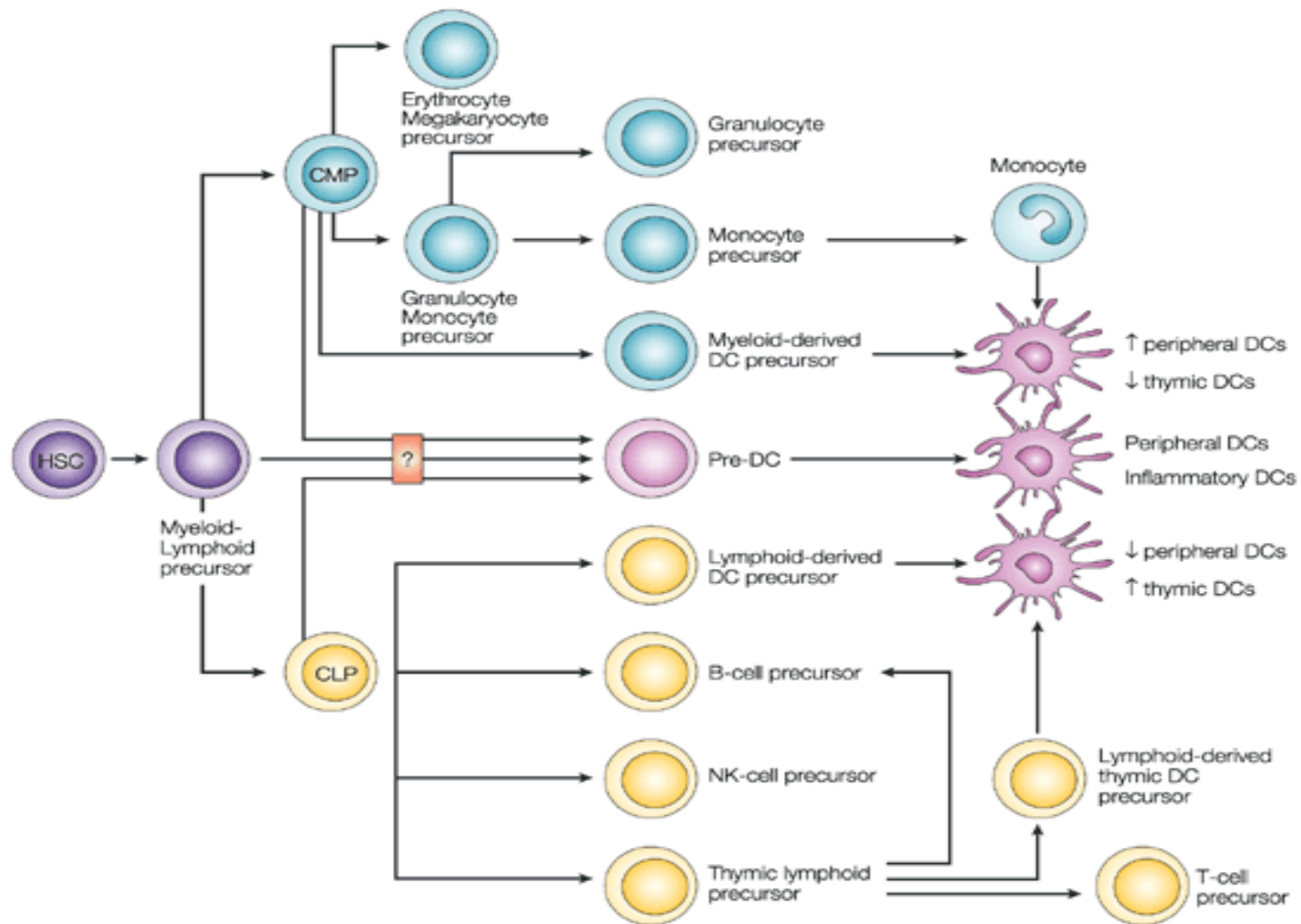
- TLR9 respuesta a ADN bacteriano y viral y oligonucleótidos sintéticos que contienen dinucleótidos CpG no metilados.

- TLR3. Expresado casi exclusivamente en células dendríticas. Funciona como receptor para RNA de doble cadena

Papel de la señalización via Toll en la respuesta inmune adaptativa

- La expresión de diferentes grupos de receptores Toll en diferentes poblaciones de células dendríticas programadas para desencadenar respuestas Th1 o Th2 puede facilitar la función de la respuesta inmune adaptativa
- Ratones deficientes en MyD88 no generan respuesta celular a LPS, se desvía la respuesta Th1 hacia un patrón Th2

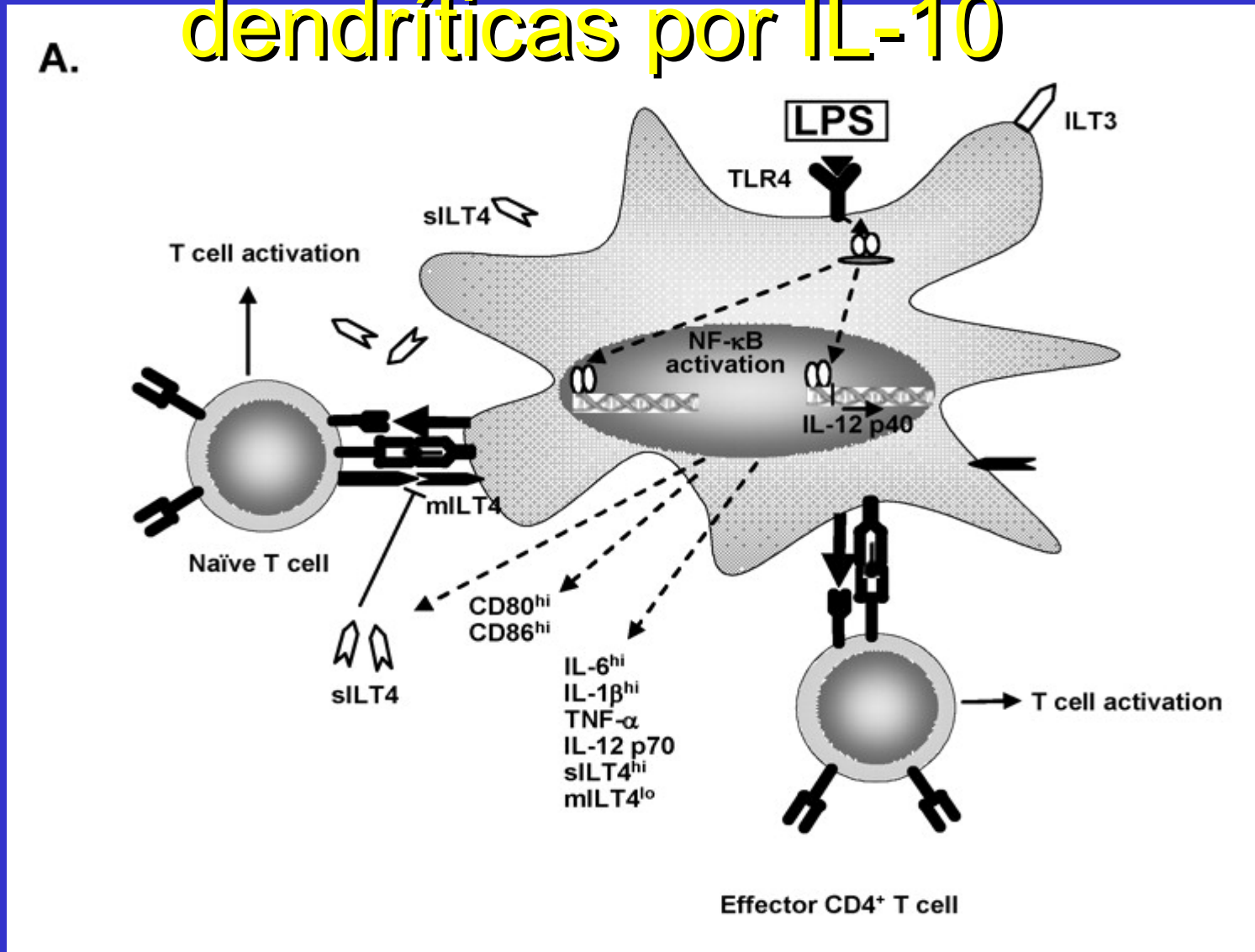
Diferenciación de células dendríticas



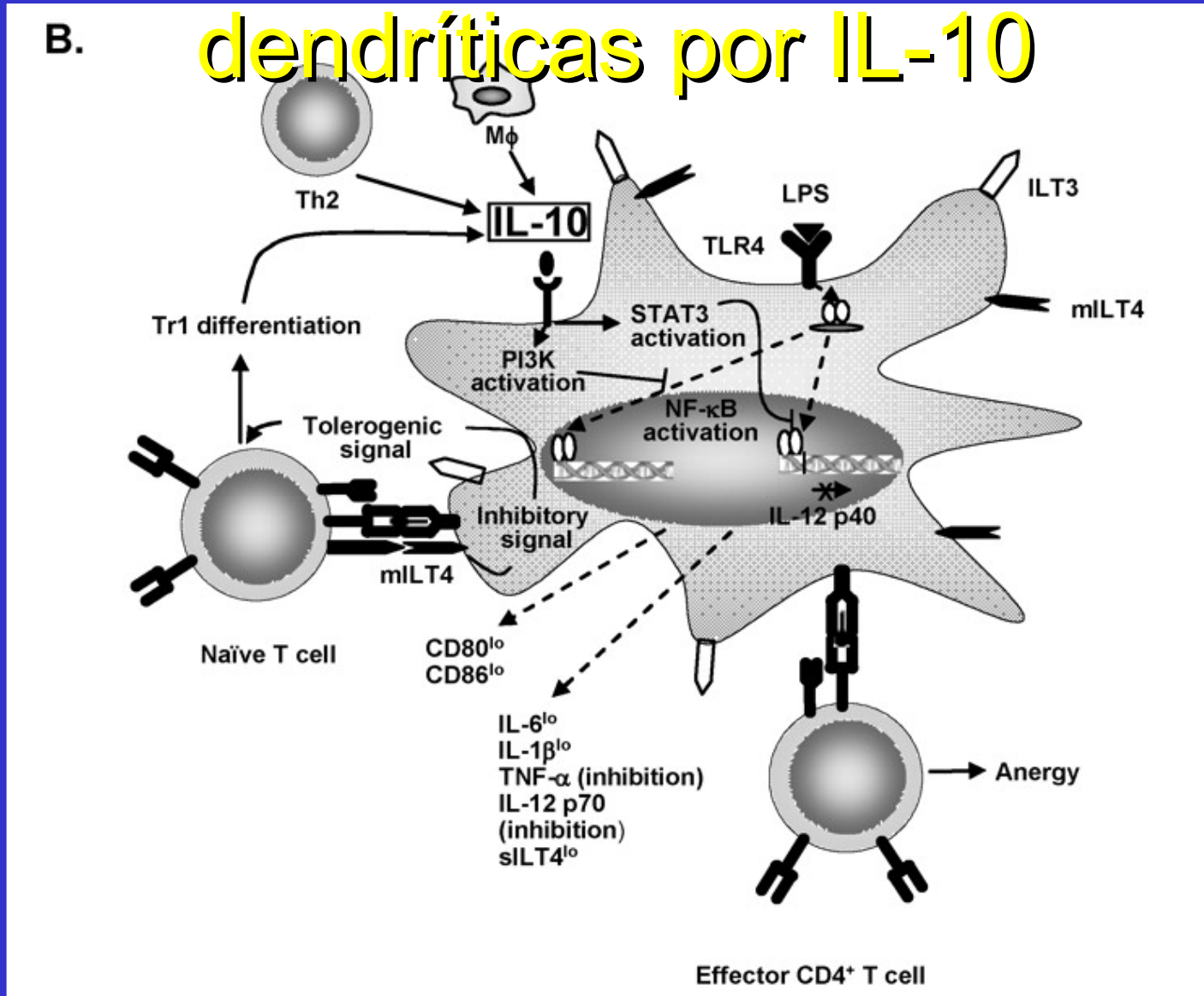
SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS DENDRÍTICAS

Dendritic cell subset	Markers	Function
Myeloid	CD11c ⁺ CD205 ⁻ CD11b ⁺ CD8 ⁻ CD4 ^{+/-}	Located in splenic marginal zones. Efficient stimulation of CD4 ⁺ and CD8 ⁺ T cells. 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 .

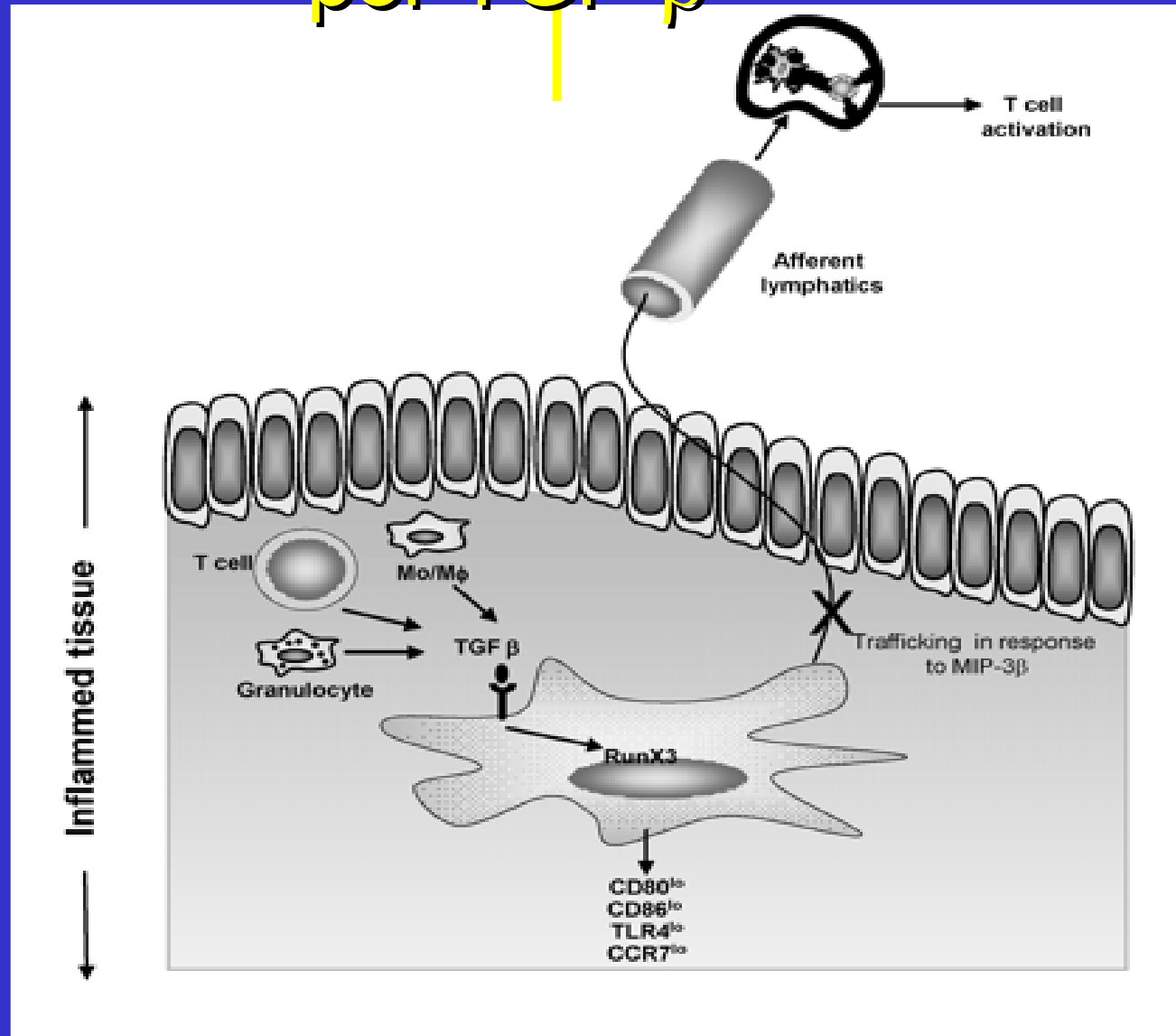
Inmunoregulación de las células dendríticas por IL-10



Inmunoregulación de las células dendríticas por IL-10



Modulación de células dendríticas por TGF- β



Péptidos antimicrobianos: Las defensinas

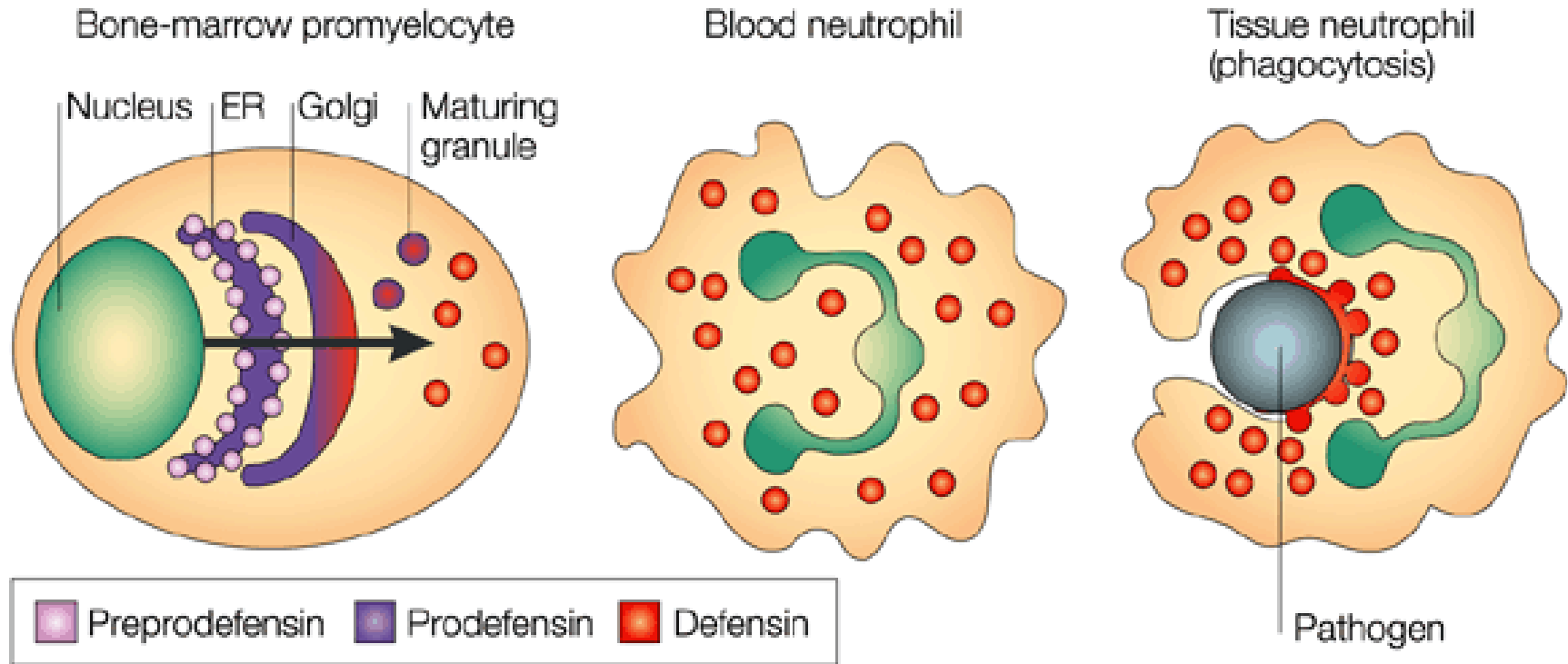
- Son polipéptidos de menos de 100 aa con actividad antimicrobiana a concentraciones fisiológicas. Dos miembros principales: defensinas y catelicidinas (LL37)
- α , β , θ defensinas: Hoja plegada beta, estructura de cisteínas con puentes disulfuro
Distribución: mayor concentración presente en gránulos 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

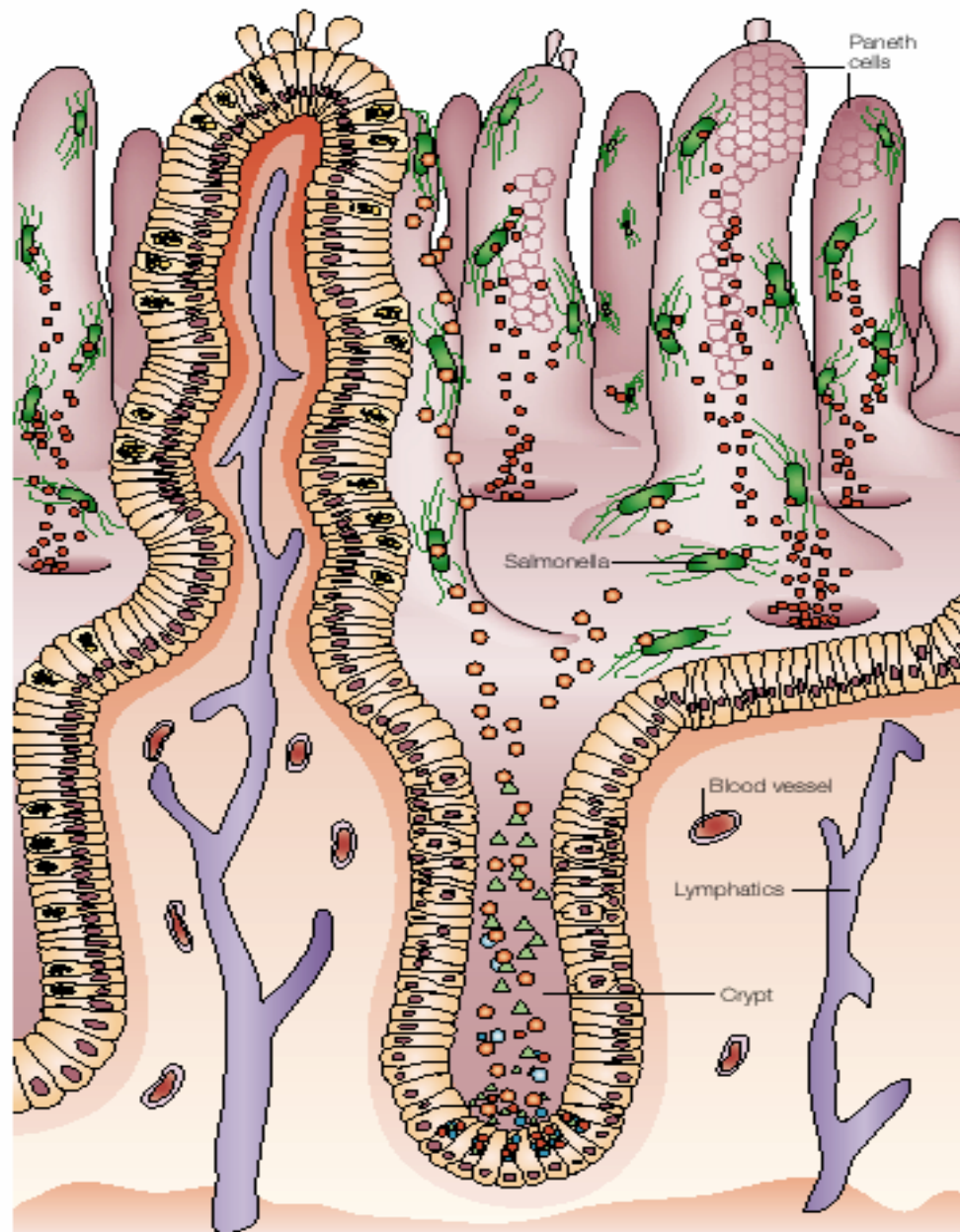
*Main cellular source. HBD, human β -defensin; HD, human α -defensin; HNP, human neutrophil peptide; IL-1 β , interleukin-1 β ; PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate; TNF, tumour-necrosis factor.

Síntesis y liberación de defensinas



HNP: defensina α , péptido de los neutrófilos humanos

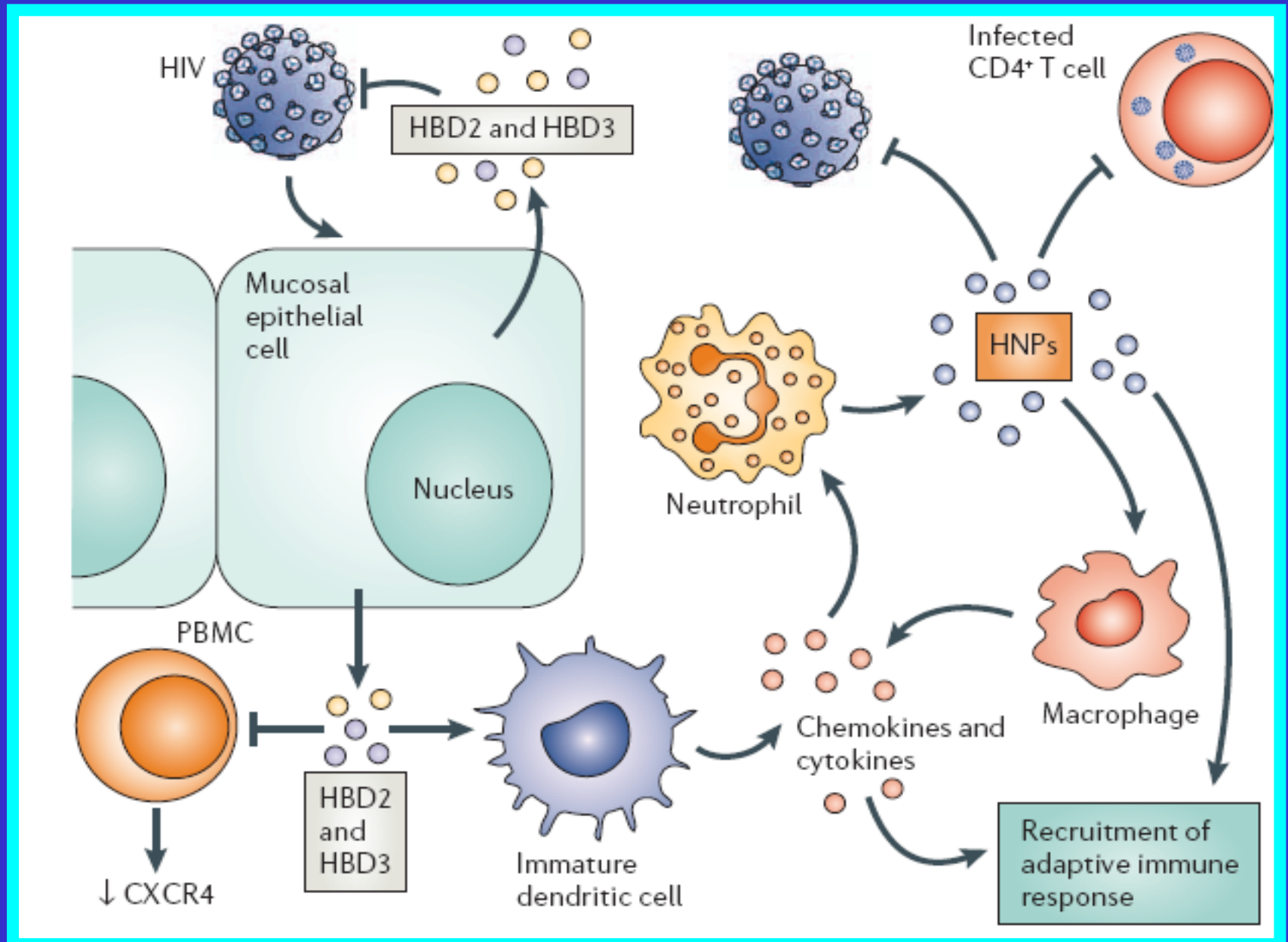
Nature Reviews | Immunology



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



Defensinas: inducción de respuesta inmune adaptativa

- Reclutamiento de neutrófilos ricos en α -defensina
 - Efecto antimicrobiano directo
 - Facilitan y amplifican RI adaptativa
 - Aumentan la proliferación de los linfocitos, aumentan la producción de citocinas, aumenta la respuesta de anticuerpos (IgG1, IgG2a y IgG2b)
 - Reclutamiento de células dendríticas inmaduras
- Disminución de expresión de moléculas de adherencia

Receptores Scavenger en Inmunidad Innata

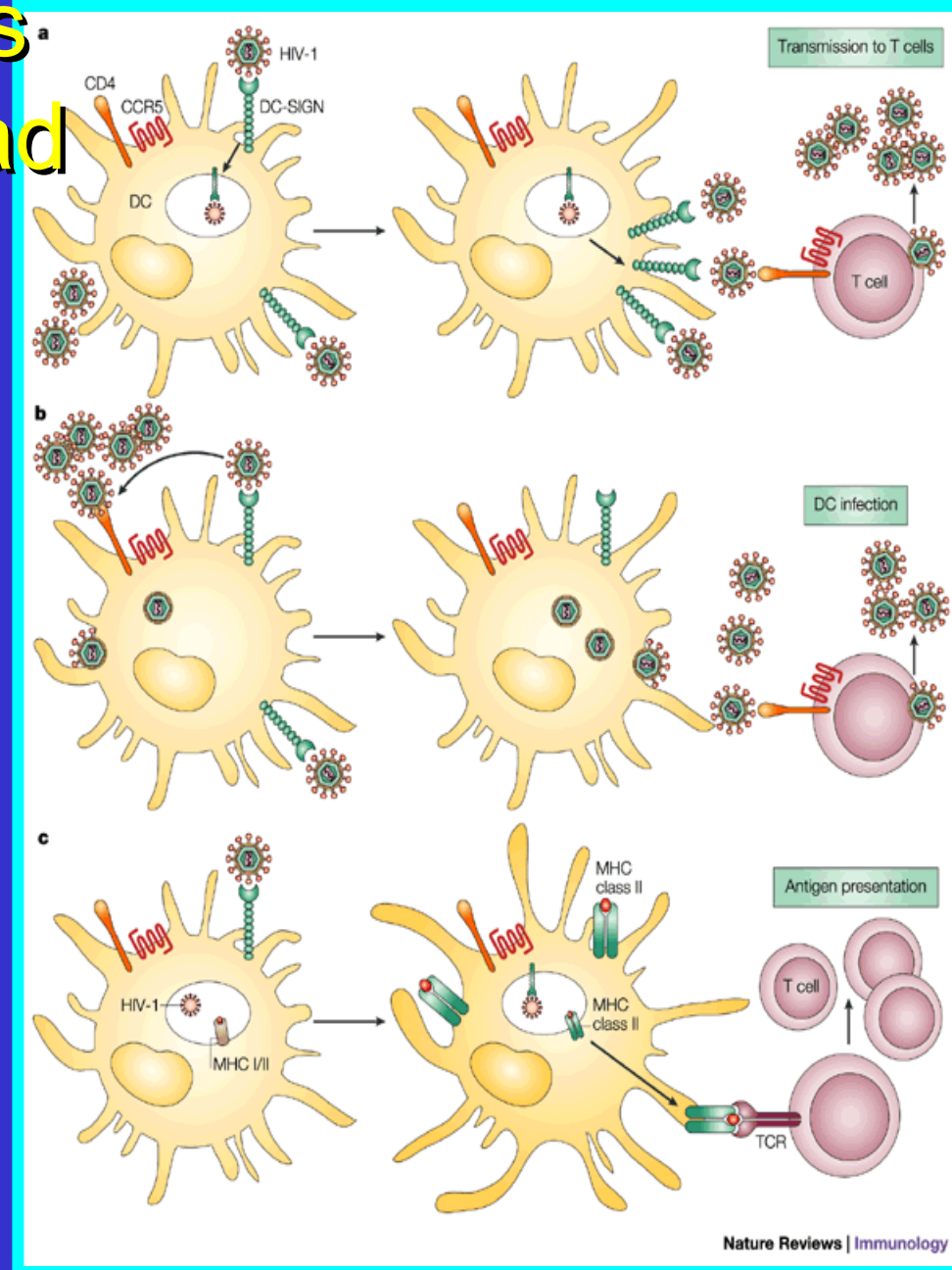
- **Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales**
- **Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)**
- **Interacciones con bacterias**
 - **SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).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

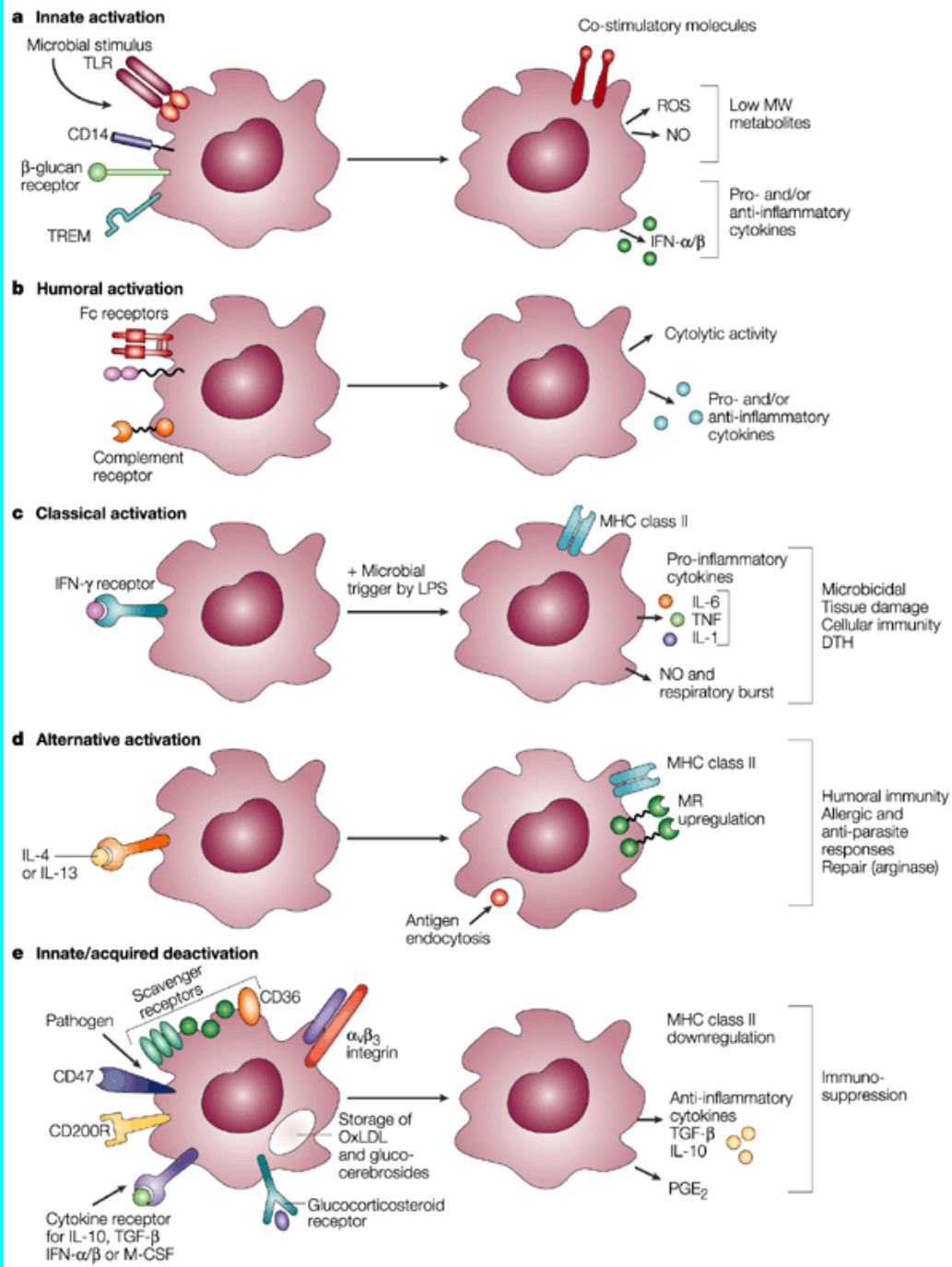
Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

- 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

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.





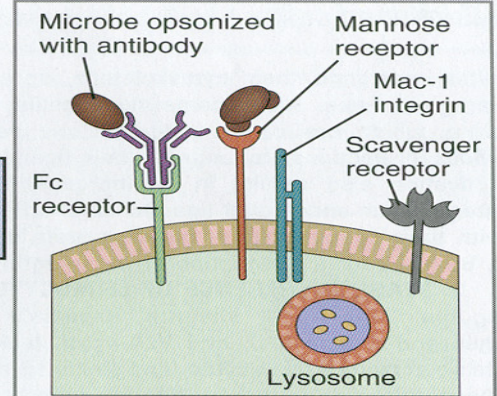
Papel de los macrófagos en la Inmunidad Innata

Inmunidad innata: Fagocitosis

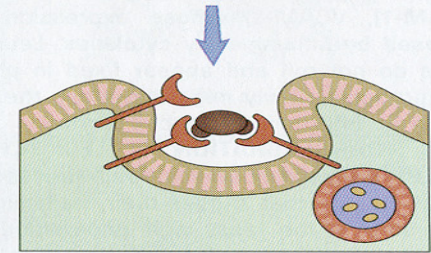
- Principalmente por PMN y monocitos/macrófagos
 - Migración y llegada al sitio de la injuria
 - Comienzan a ingerir detritus celulares, bacterias y partículas extrañas
 - Reconocimiento en parte por PRR o receptores de patrón de reconocimiento
 - <100 nm endocitosis, mediada por clatrina
 - >100 nm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

Fagocytosis: Mecanismo

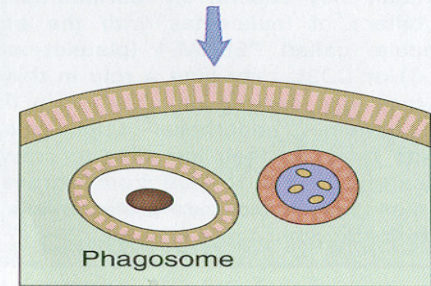
(A) Microbes bind to phagocyte receptors



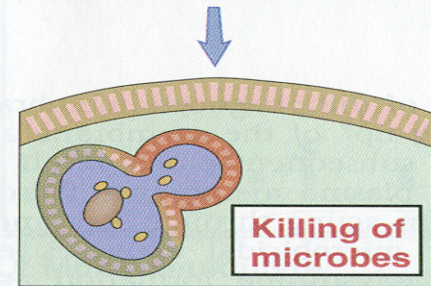
(B) Phagocyte membrane zips up around microbe



(C) Microbe ingested in phagosome



(D) Lysosome fuses with phagosome, killing microbe



Origen y funciones de las células NK

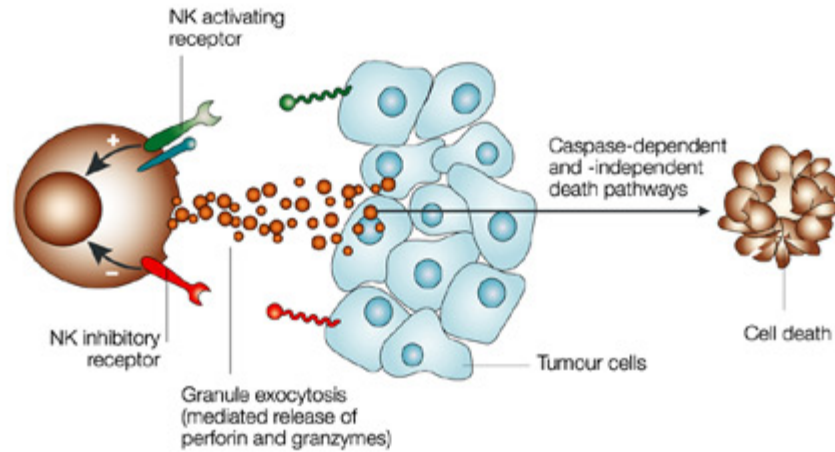
- Representan entre 5-20% de los linfocitos circulantes, 5% de los linfocitos esplénicos
- Expresión de CD56 y CD16, ausencia de CD3
- Producen citocinas: INF- γ , TNF- α , Linfotoxina, IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-13, IL-10, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , entre otras.
- Deficiencia de NK, infecciones virales severas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

Citotoxicidad

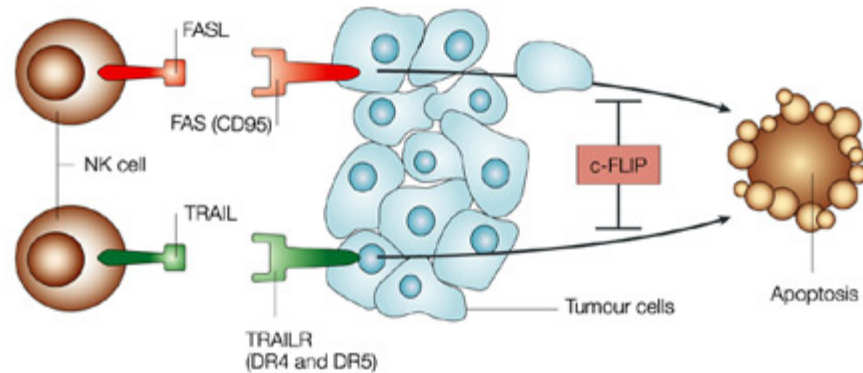
- **CD8 citotóxicas**
 - Educadas para reconocer péptidos
 - Gránulos citolíticos formadores de poros
 - Poseen perforina análogo al C9, granzime (neoformada)
 - Citotóxicidad vía FasL
 - Pico máximo de activación 5-8 días
- **Células NK**
 - Reconocen MHC propias
 - Gránulos citolíticos formadores de poros
 - Poseen perforina análogo al C9, granzime (constitutivamente)
 - Citotóxicidad vía FasL
 - Pico máximo de activación 1-3 días

Lisis mediada por NK

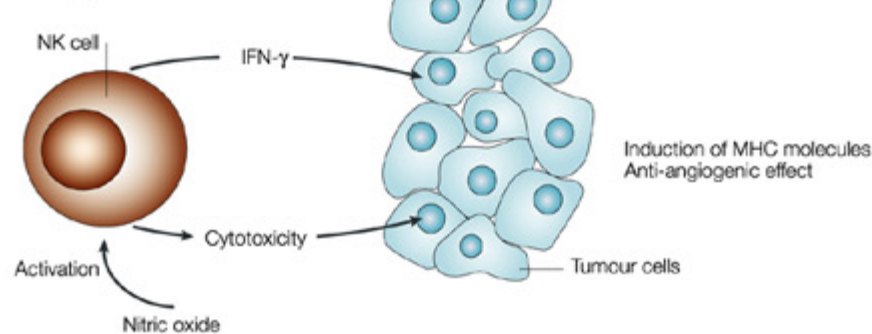
a Granule exocytosis pathway



b Death-receptor pathway



c IFN- γ , nitric oxide



Inmunidad innata: conexión con inmunidad adquirida

- PRR induce la expresión y síntesis de moléculas co-estimuladoras, citokinas y quemokinas en APC
- TLR4:
 - A través de la activación de NF- κ B induce expresión de:
 - IL-1 β , IL-6, IL-8, p40 de IL-12, CD80 y CD86
- Ratones deficientes en MyD88 desarrollan patrón TH2

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

- Eventos mediados por TLRs para el reclutamiento de células dendríticas inmaduras hacia los sitios de entrada de los patógenos, y el traslado de estos a los nódulos linfáticos en donde activarán a células T vírgenes.
- La activación mediada por TLR induce la liberación de quimiocinas a partir de los macrófagos residentes y células dendríticas, reclutando diferentes grupos de leucocitos
- Asociación entre la activación de respuesta TH2 y la eosinofilia tisular

Tráfico de CD mediado por quimiocinas

