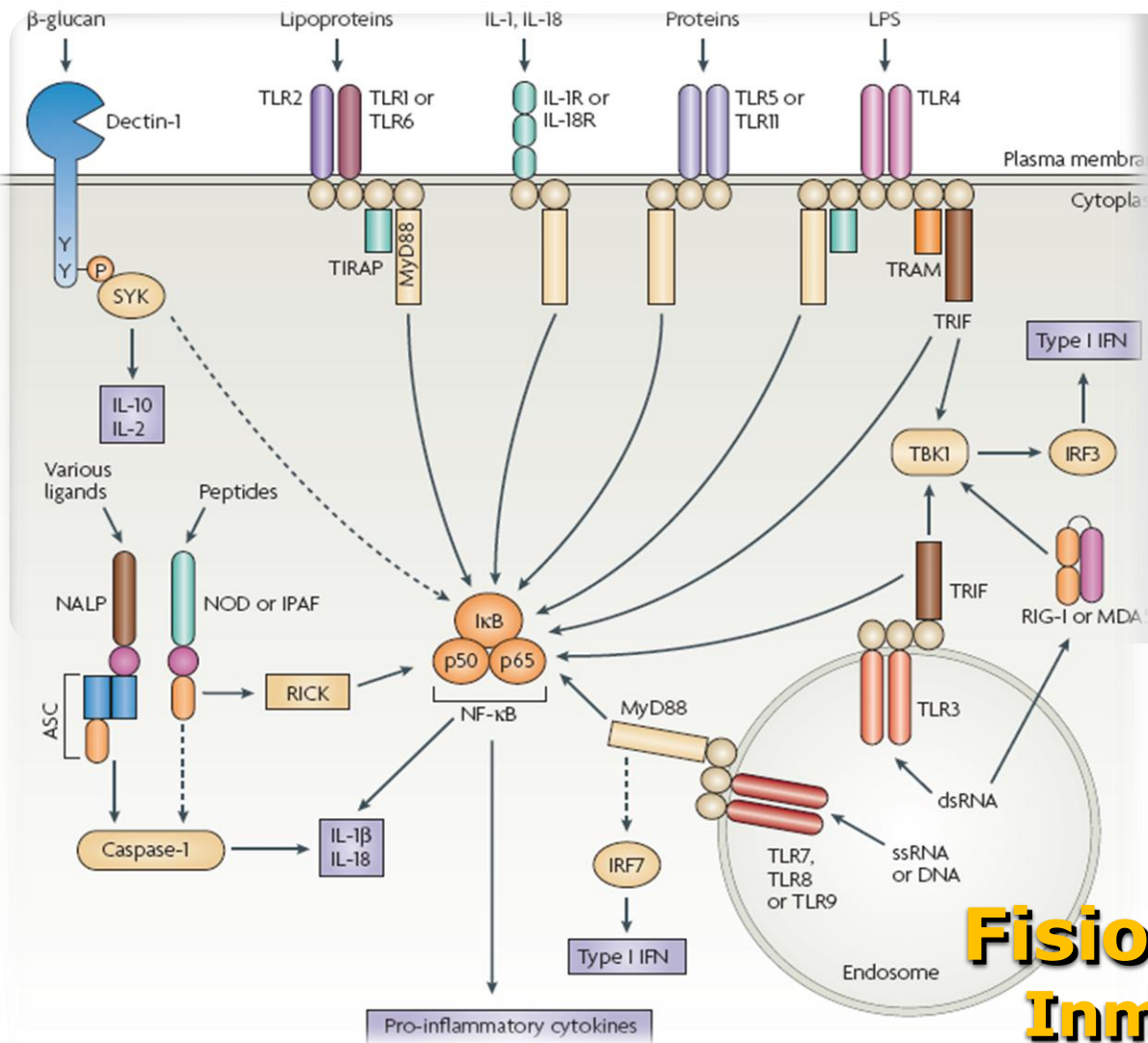




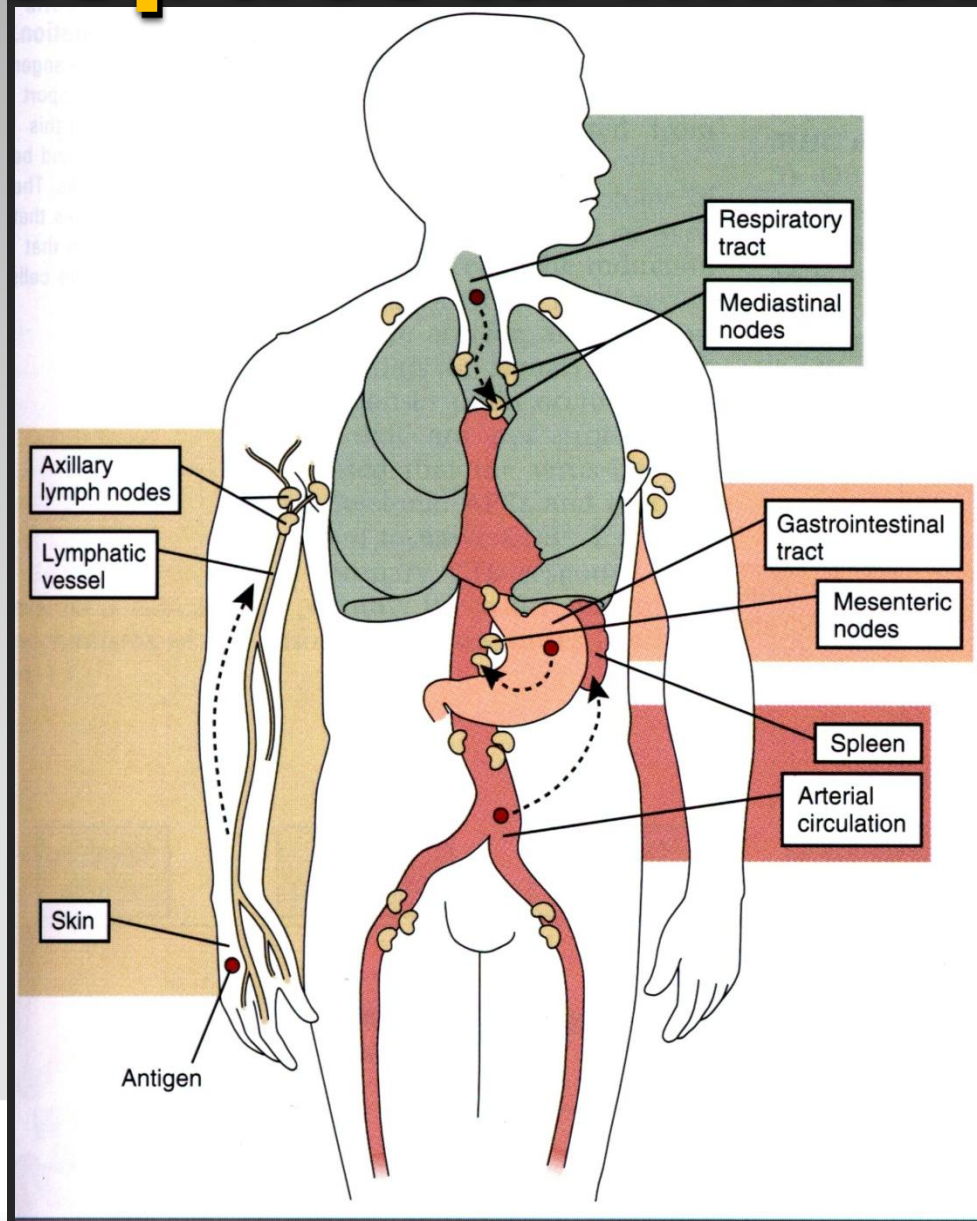
Fisiología de la RI: Inmunidad Innata

Luisa Barboza, IDIC-ULA 2012

CONTENIDO

- Definición y características del sistema inmune innato
- Componentes del sistema inmune innato: barreras, sustancias solubles, células
- Reconocimiento de patrones asociados a patógenos
- Receptores de reconocimiento: descripción, señalización, regulación y modulación de respuesta inmune adaptativa
- Reconocimiento por elementos solubles
- Otros elementos de la defensa innata

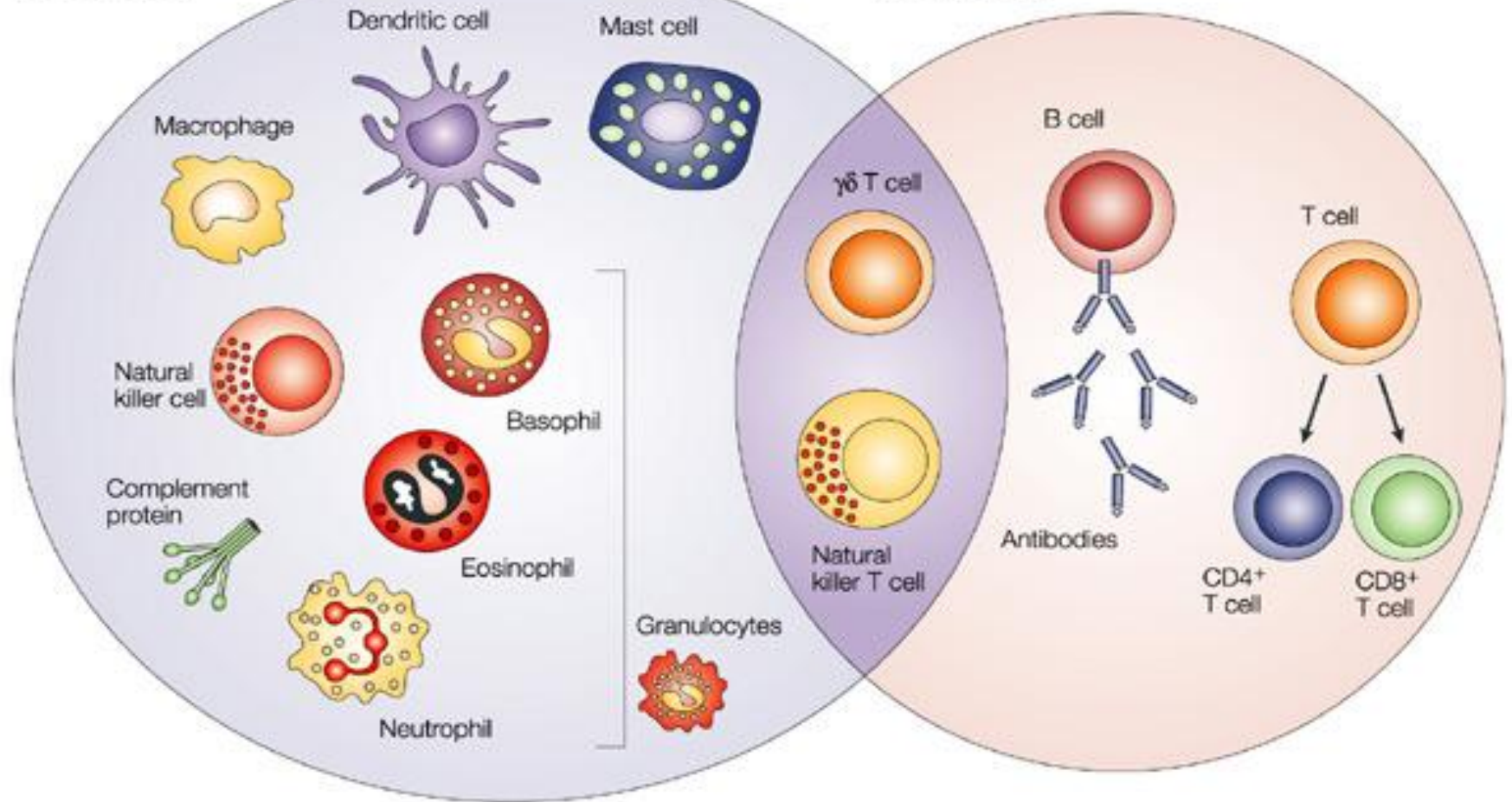
Respuesta inmune



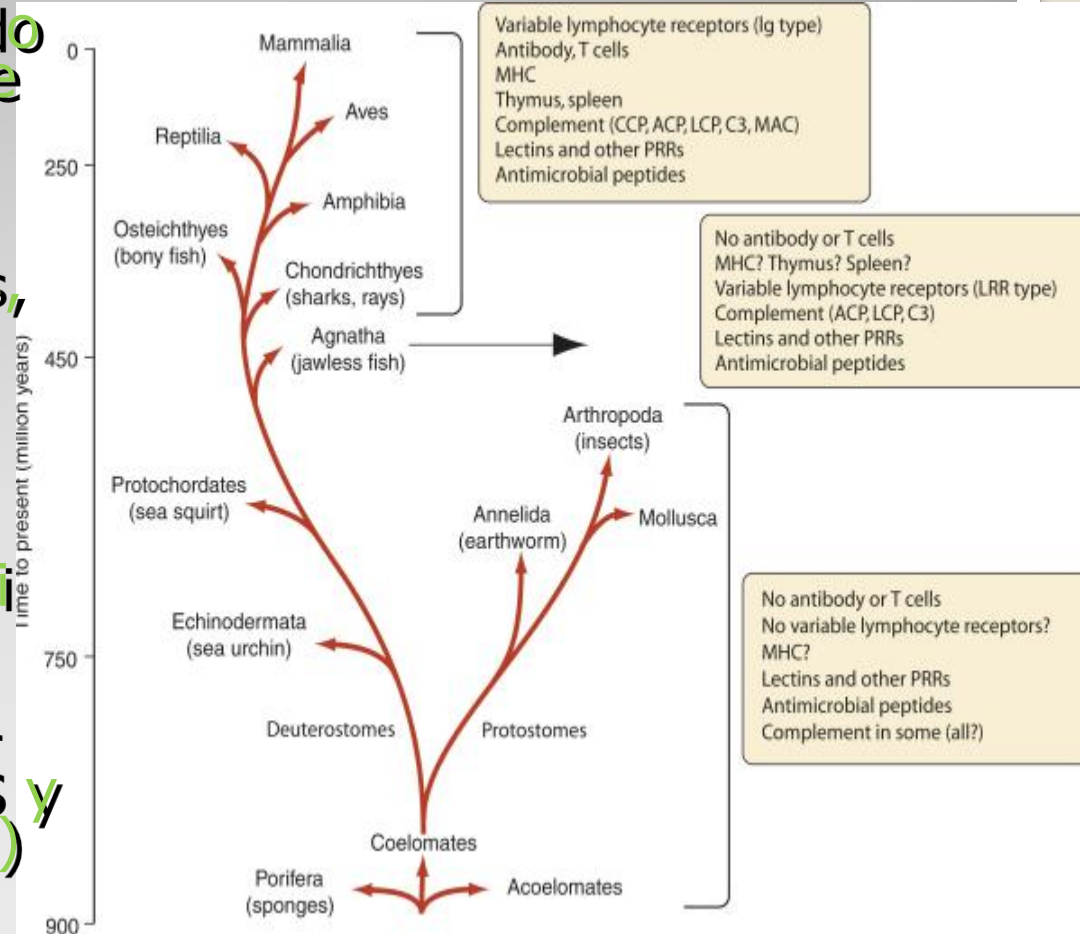
Tipos de respuesta inmune

Innate immunity
(rapid response)

Adaptive immunity
(slow response)

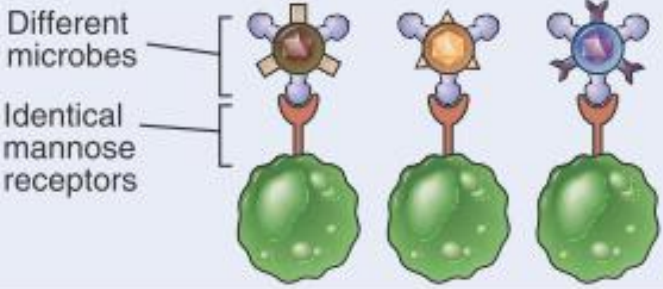
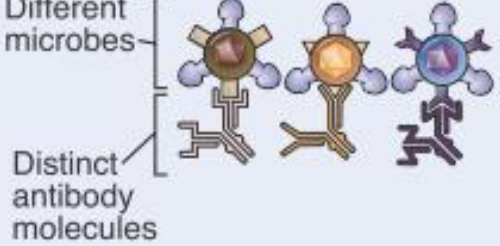
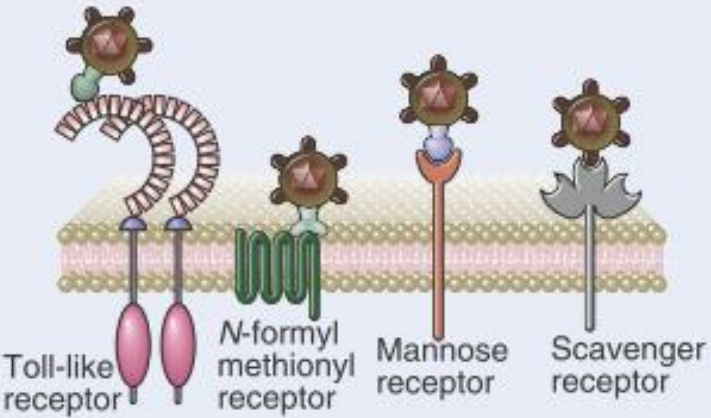
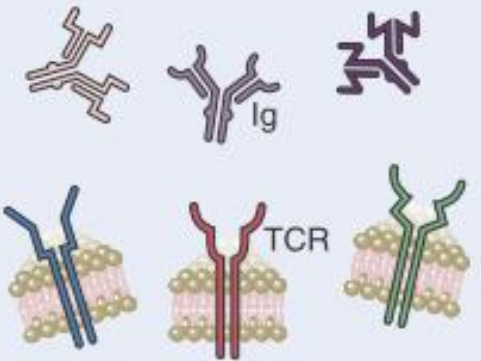


- Sistema muy conservado y evolucionado presente en plantas y animales
- Tiene como lecho una respuesta inflamatoria iniciada por macrófagos, polimorfonucleares y mastocitos a través de receptores de la inmunidad innata
- Los defectos en este sistema son raros y casi siempre letales
- Reconocimiento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



Sistema inmune innato

TABLE 4-1 Specificity of Innate and Adaptive Immunity

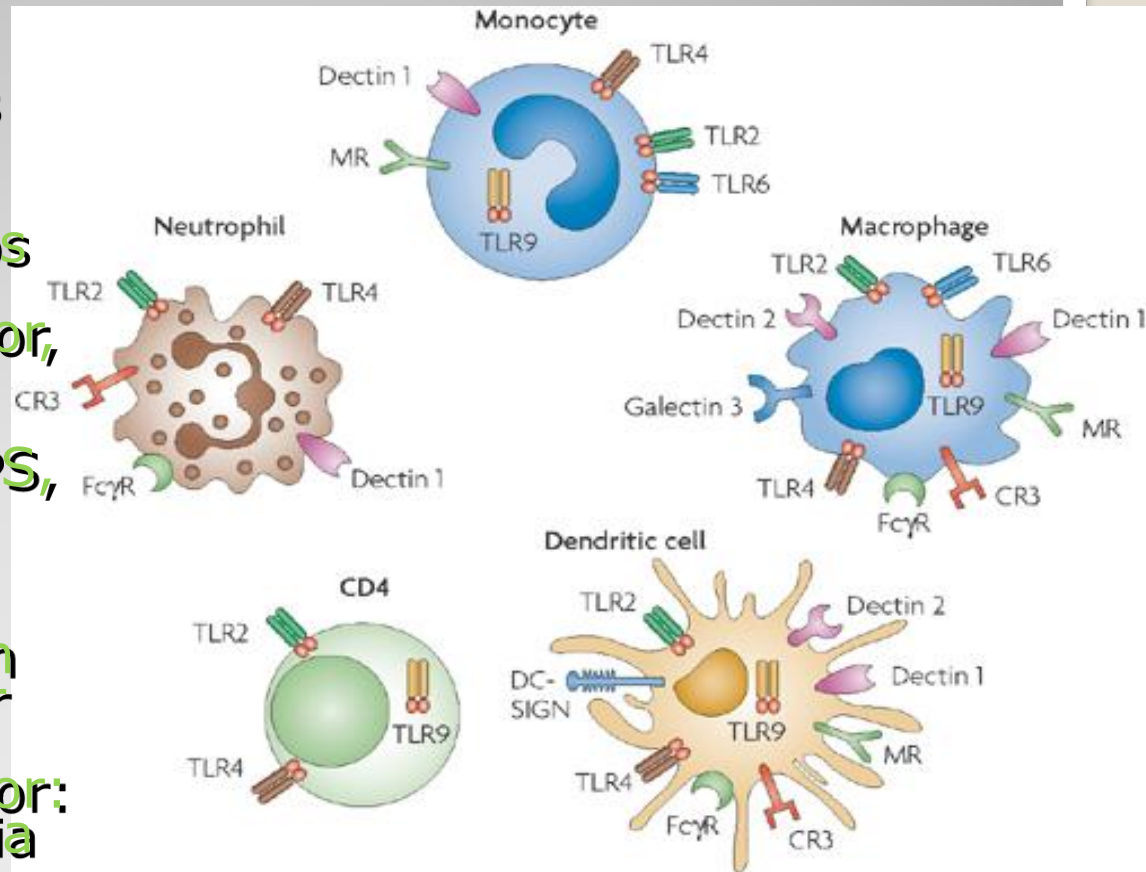
	Innate Immunity	Adaptive Immunity
Specificity	For structures shared by classes of microbes (pathogen-associated molecular patterns) Different microbes Identical mannose receptors 	For structural detail of microbial molecules (antigens); may recognize nonmicrobial antigens Different microbes Distinct 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)

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
- ▶ Pertenecientes a vías metabólicas únicas a los microorganismos y ausentes del hospedador, esenciales para la sobrevivencia del microorganismo, Ej: LPS, lipoproteínas, peptidoglicano y ácido lipoteicoico
- ▶ Permite la identificación de "huellas dejadas por los microorganismos", ausentes del hospedador: sensores de la presencia de infección



Nature Reviews | Microbiology

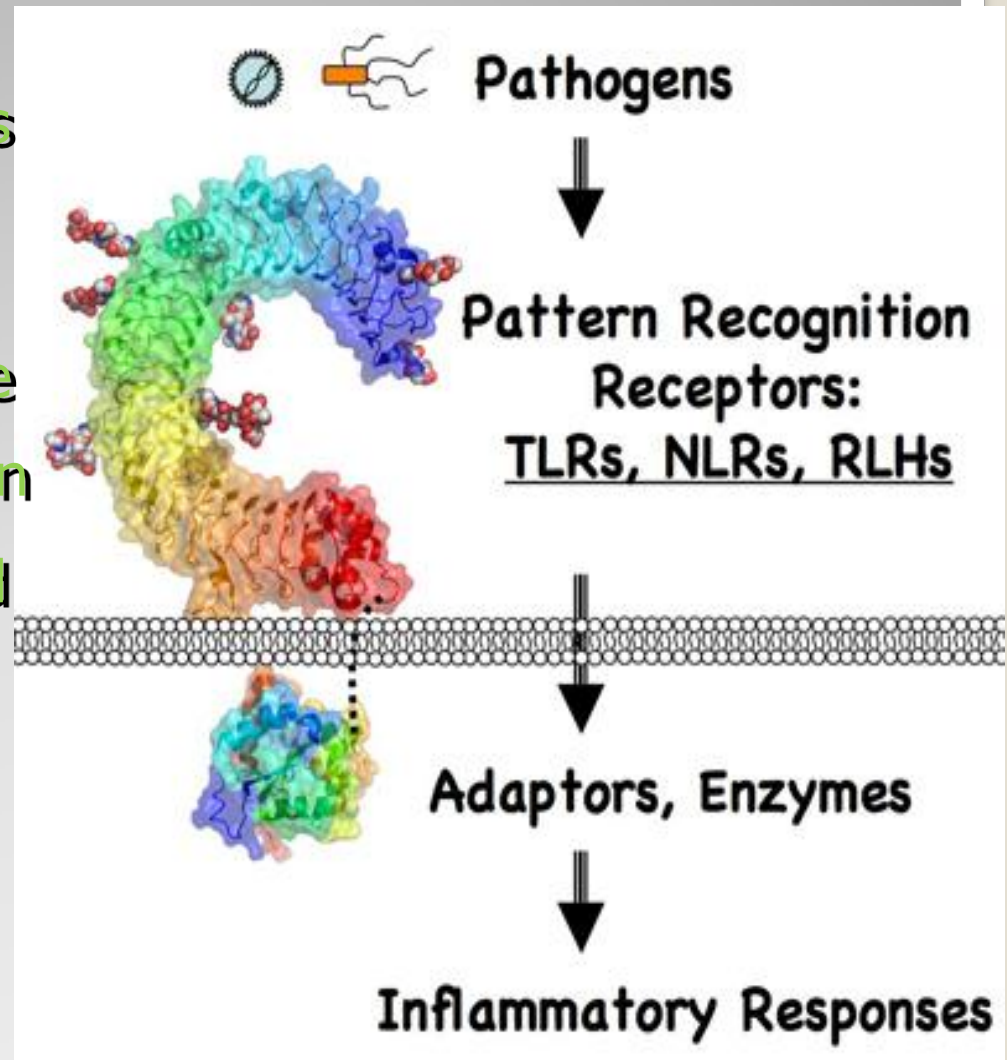
Mihai G. Netea, Gordon D. Brown, Bart Jan Kullberg & Neil A. R. Gow *Nature Reviews Microbiology* 6, 67-78 (January 2008)

Receptores para el reconocimiento de patógenos y sus ligandos

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 (profilin-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

- ▶ 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)

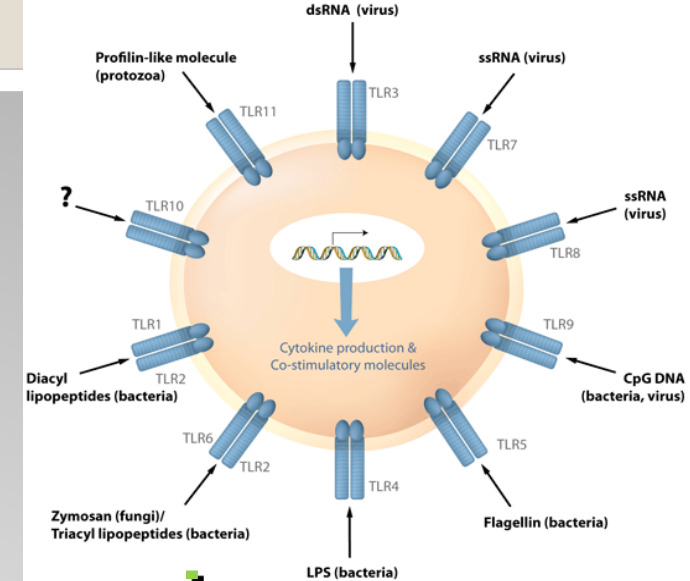


Receptores de la Inmunidad Innata

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

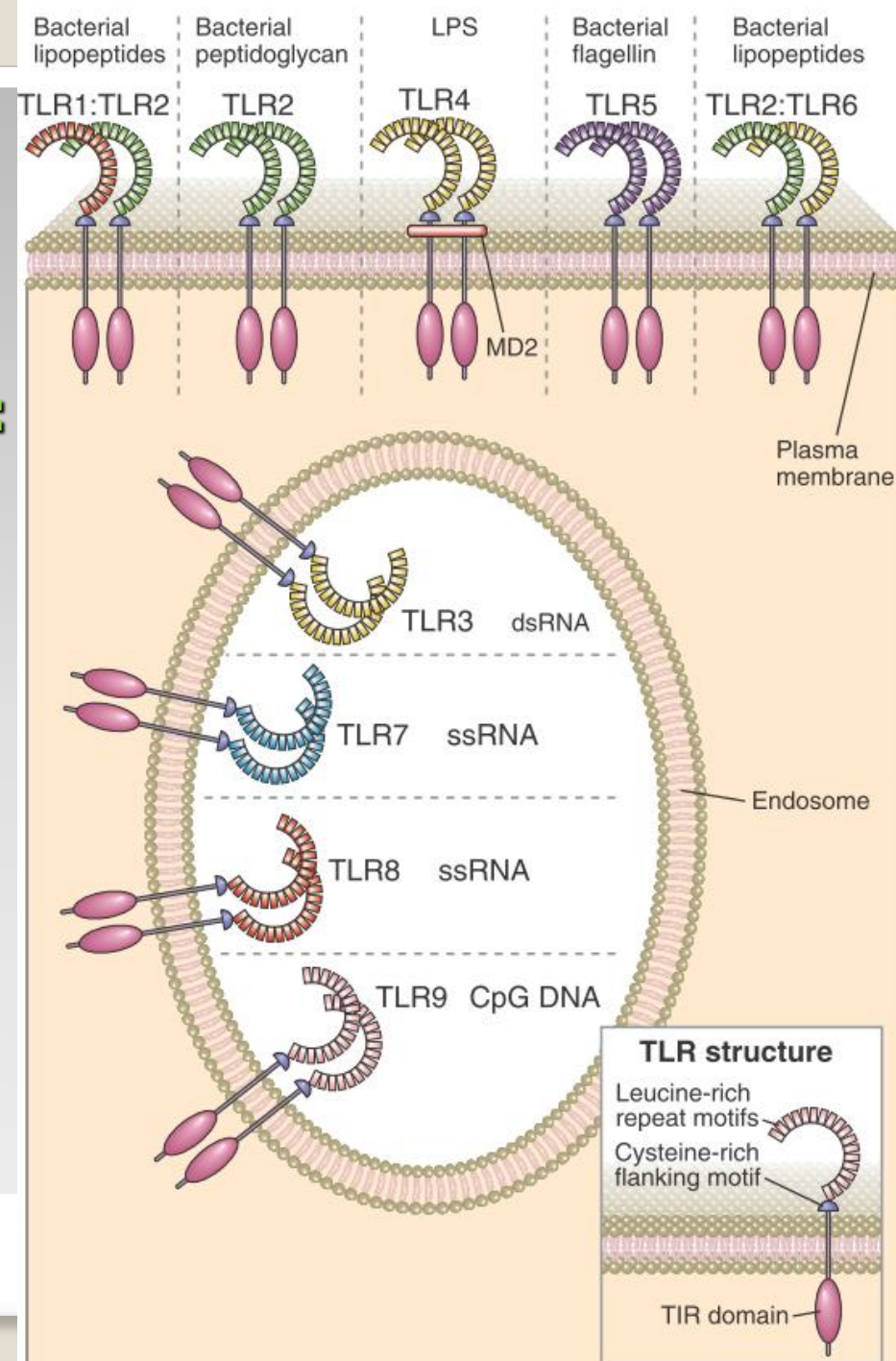
Receptores Toll (TLR)

- 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

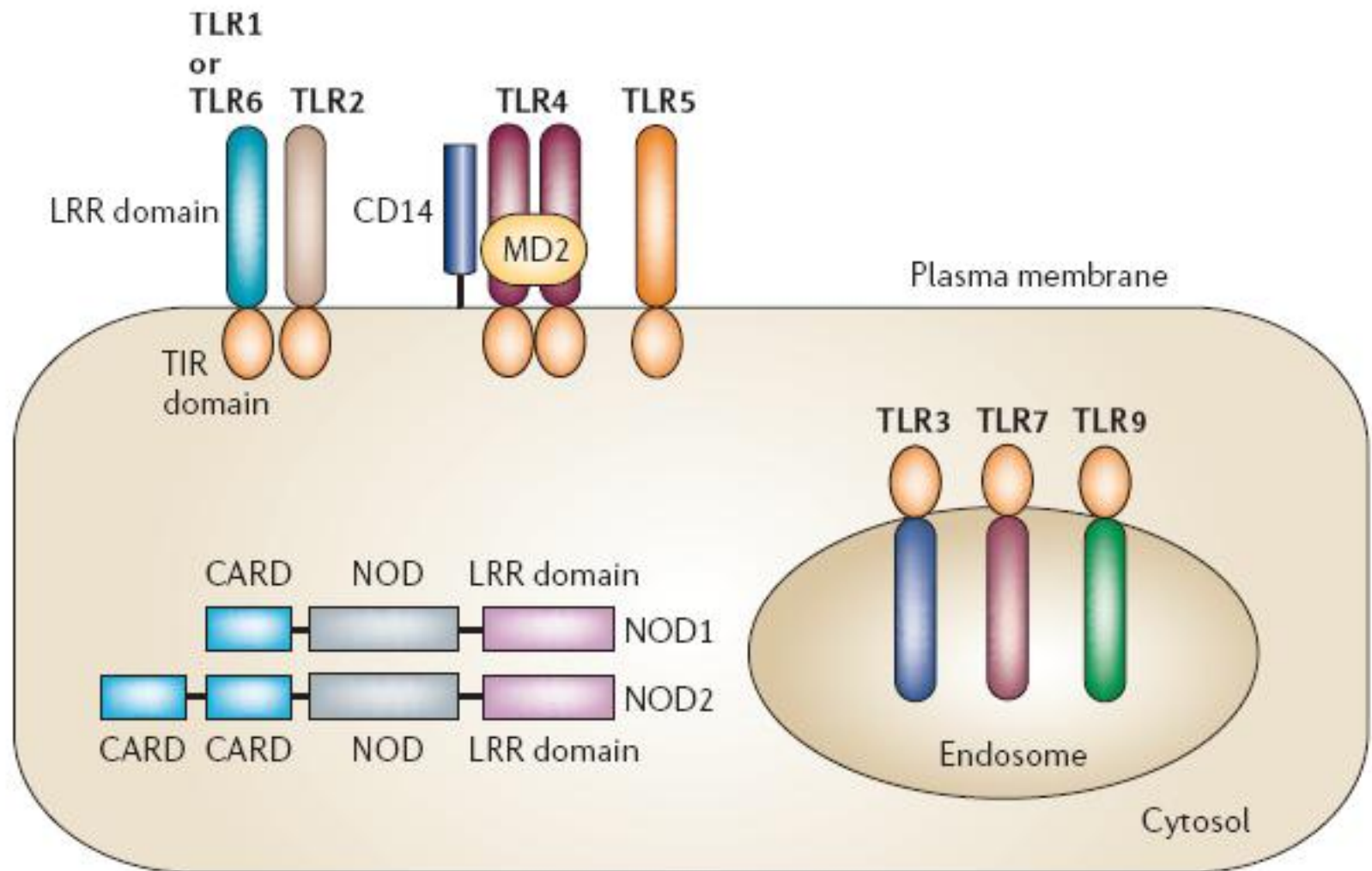


Receptores Toll (TLR)

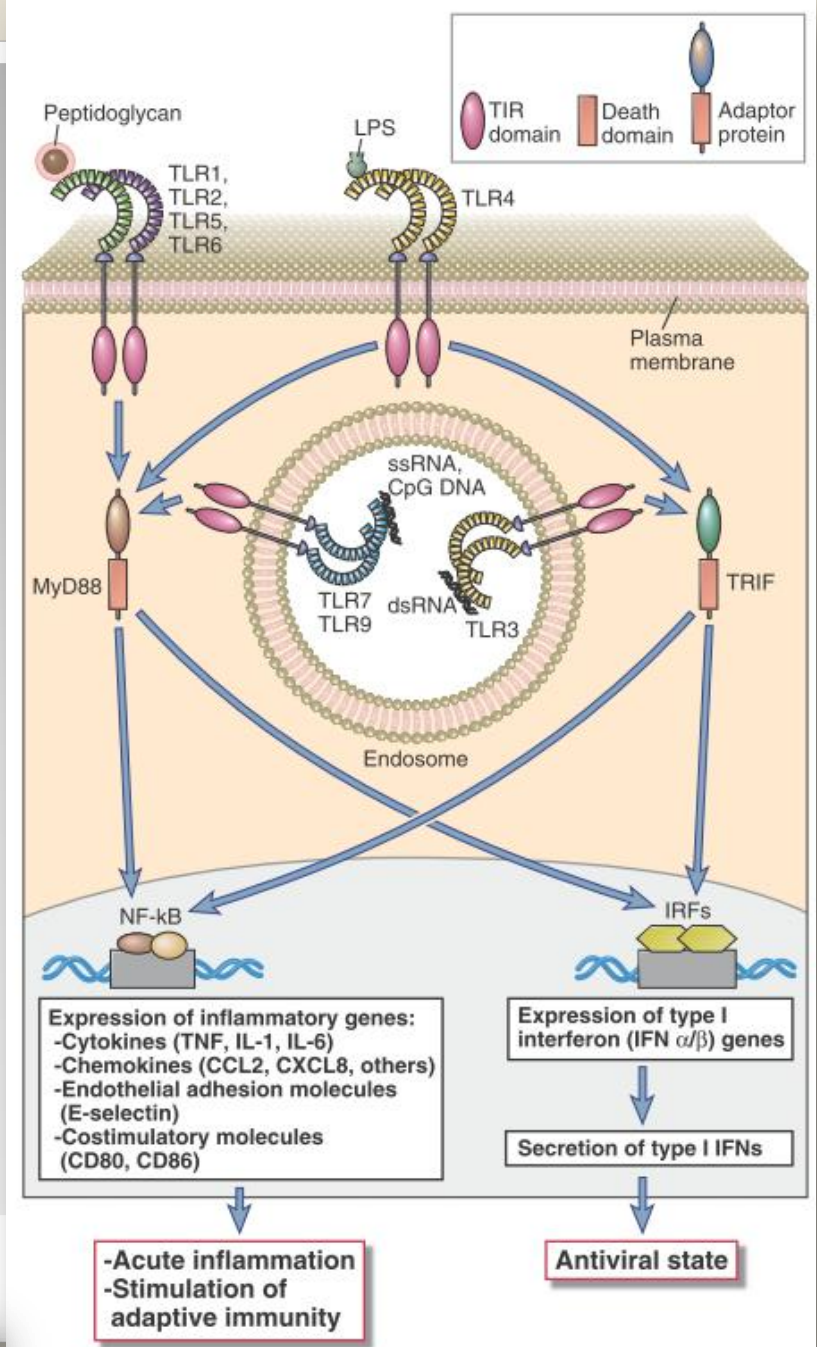
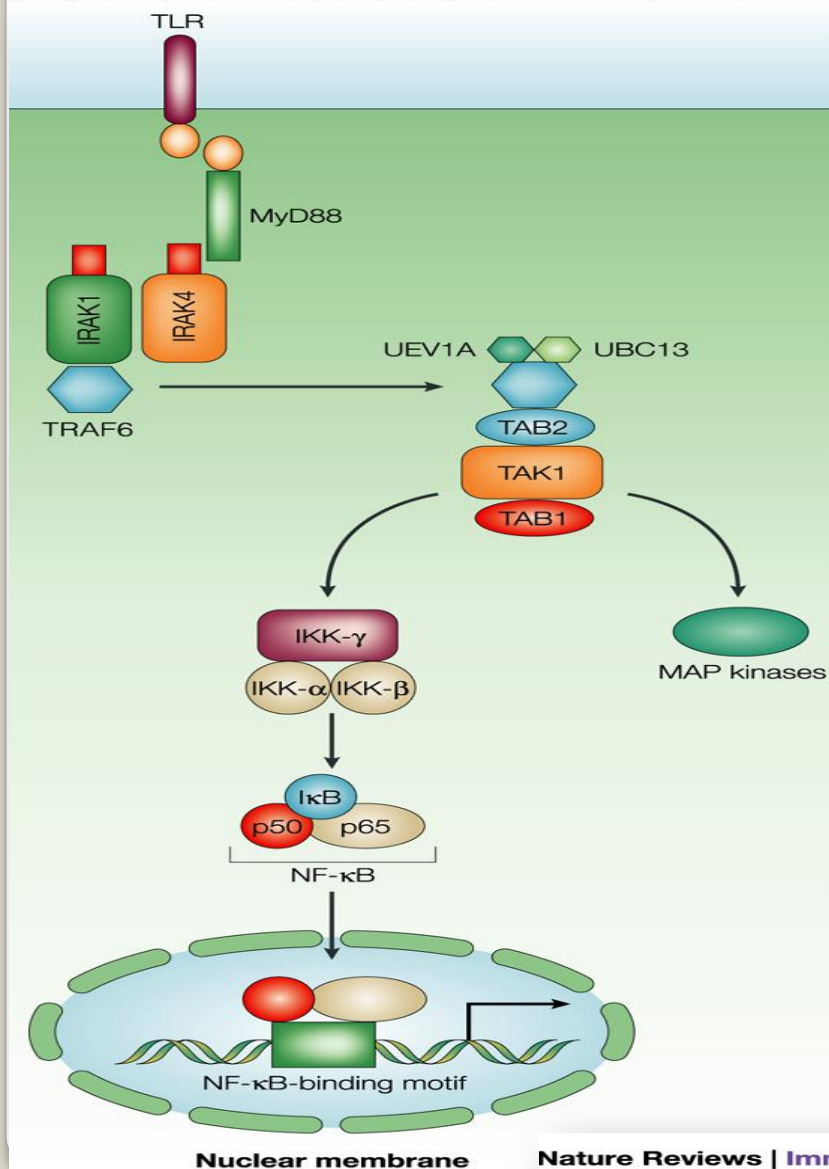
- **Expresados en superficie:**
TLR1, TLR2, TLR4, TLR5,
TLR6 y TLR11
 - **Sus ligandos son componentes de la membrana microbial:**
LPS, lípidos, lipoproteínas...
- **Expresados en vesículas intracelulares (ER, endosomas, lisosomas:**
TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9
 - **Reconocen ácidos nucleicos**



Estructura y localización celular de TLRs y NOD



Estructura y señalización vía TLR

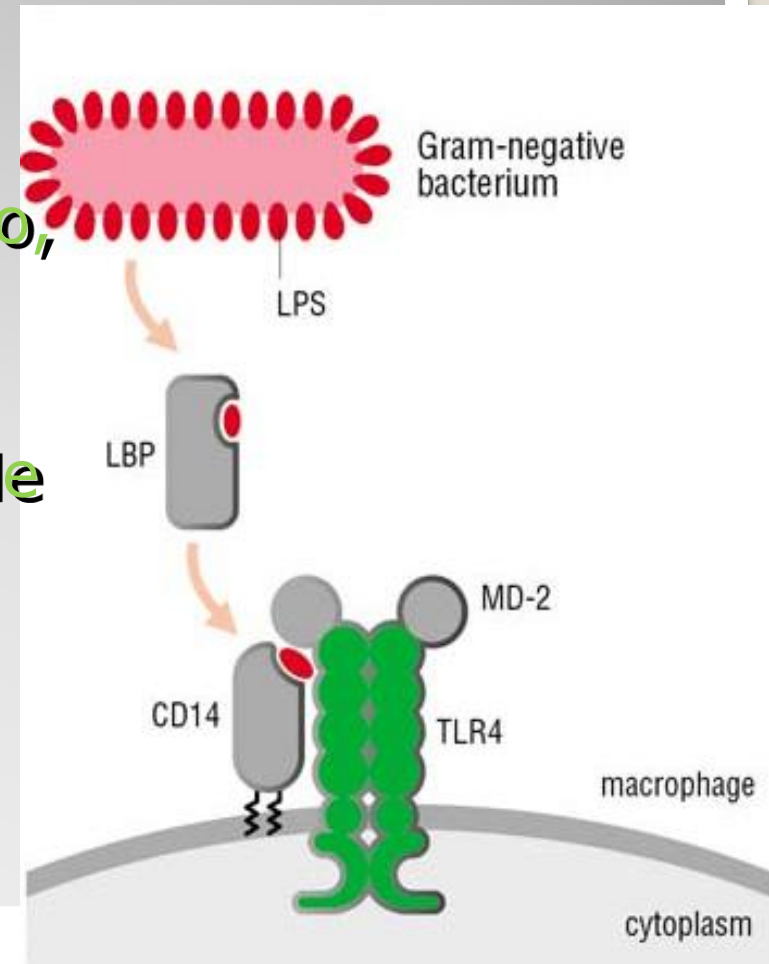


Especificidad de los receptores Toll

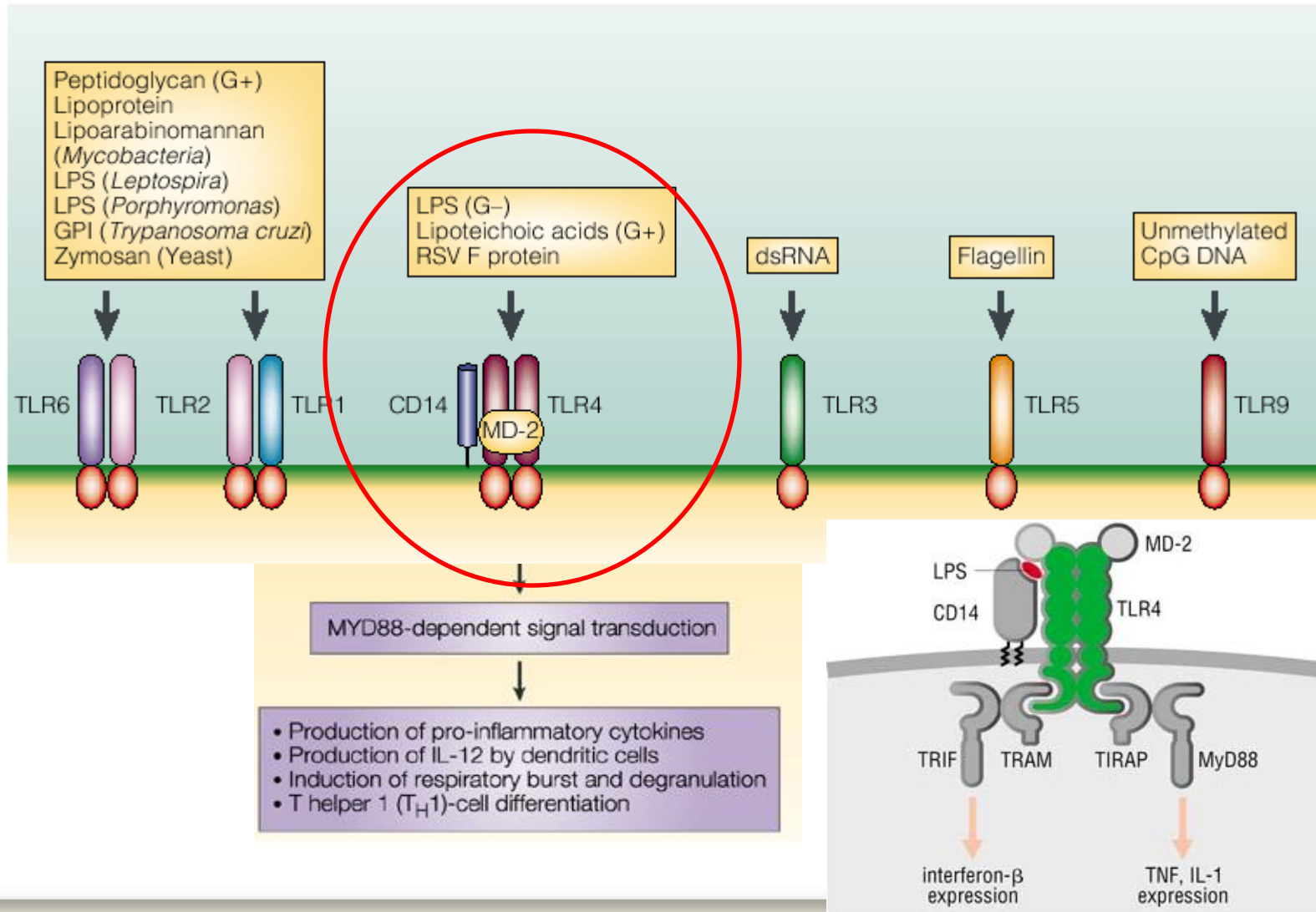
TLR	Ligandos	Microorganismos blanco	
TLR1	Triacil-lipopéptidos	Micobacterias	
TLR2	Peptidoglucanos Proteínas unidas a GPI Lipoproteínas Zimosán	Bacterias grampositivas Tripanosomas Micobacterias Levaduras y otros hongos	
TLR3	RNA bicatenario (dsRNA)	Virus	
TLR4	LPS Proteína F	Bacterias gramnegativas 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



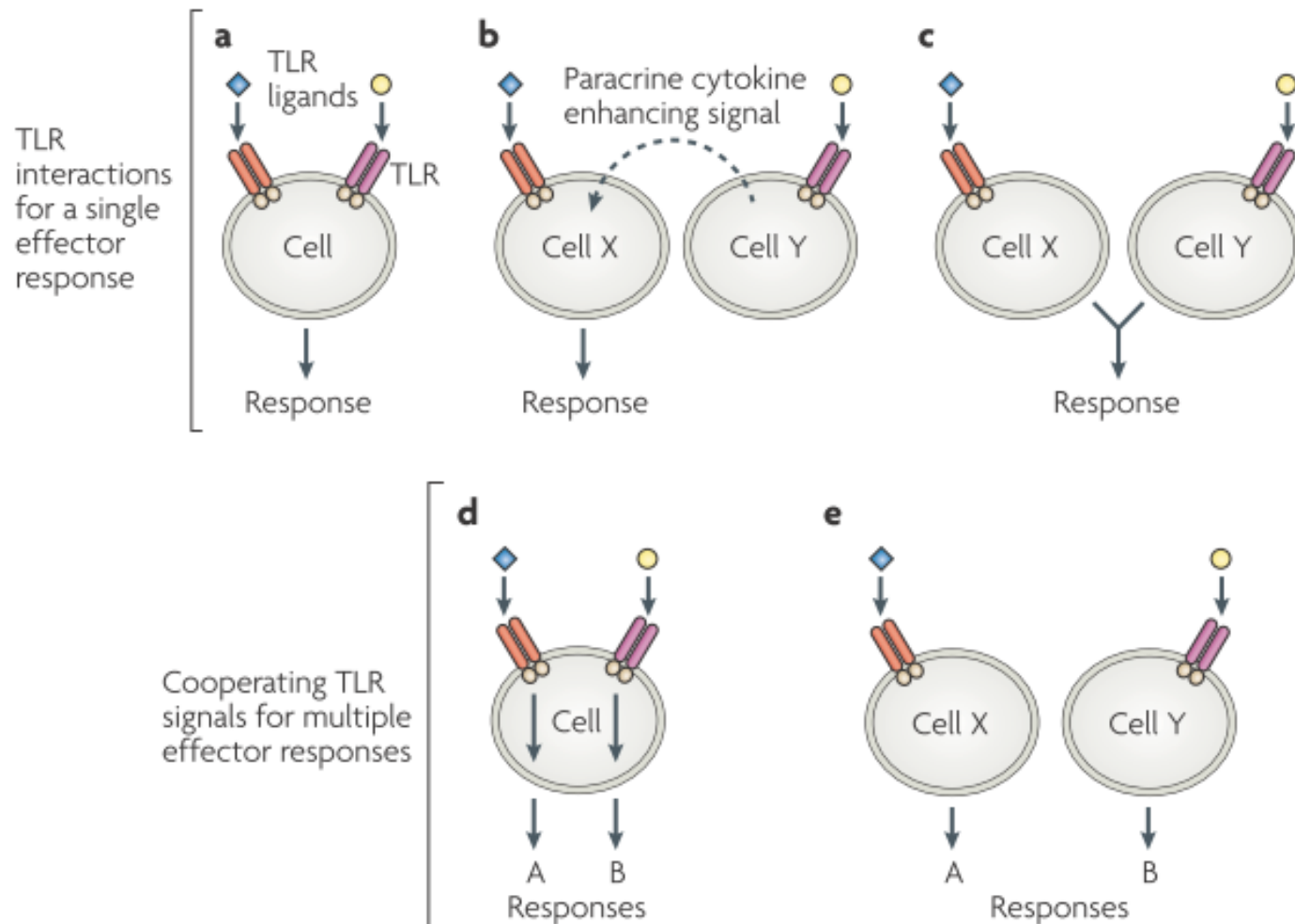
Señalización vía TLR4



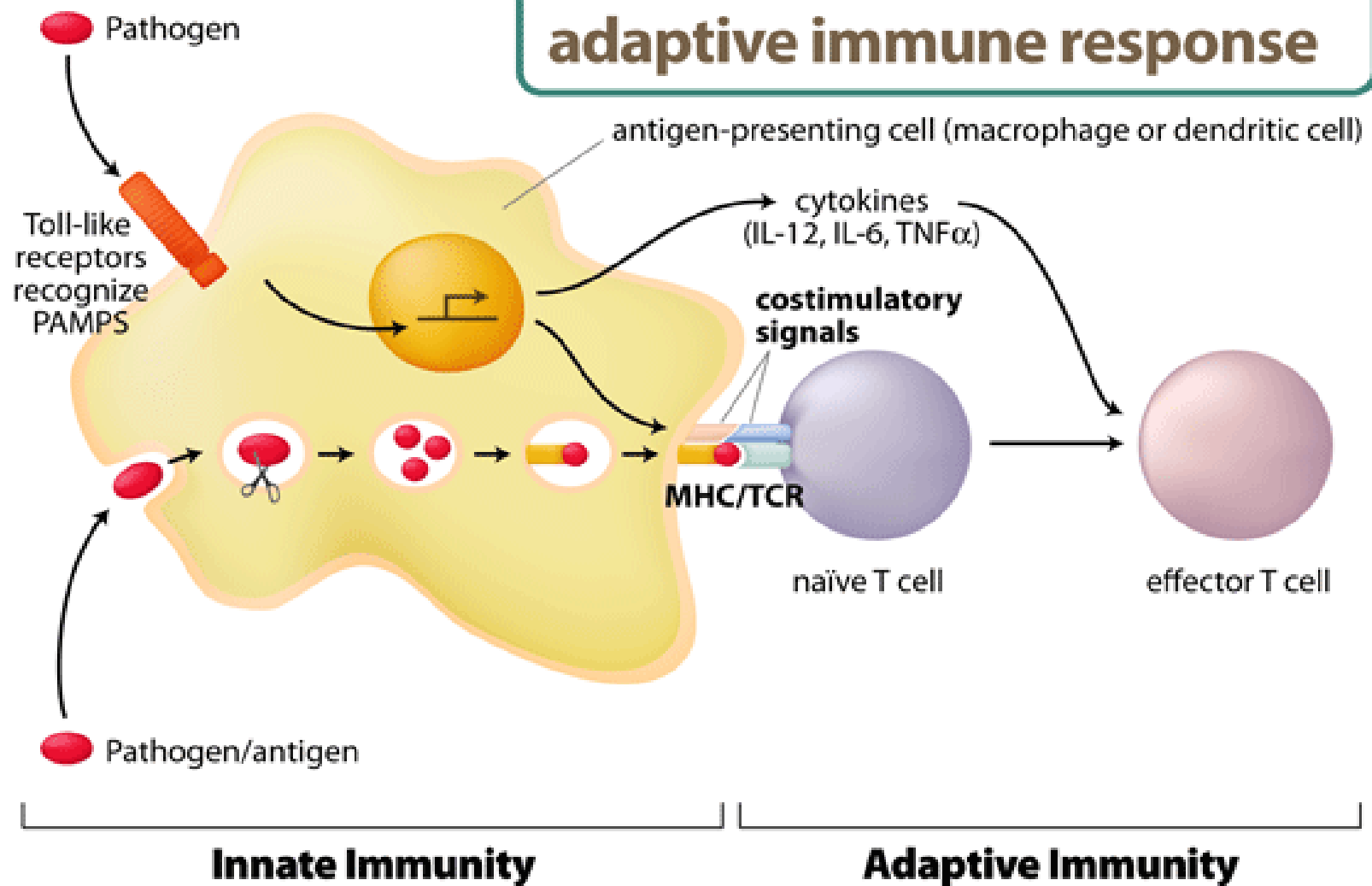
- Estudios iniciales mostraron que la estimulación simultanea de TLR2 y TLR4 resultó en la producción de TNF.
- Inducción preferencial de IL12p70
- Producción de mediadores inflamatorios es incrementada en forma sinérgica a través de la estimulación simultánea de TLRs
- La combinación de señales de TLR puede resultar también en una respuesta inhibitoria, Ej: la producción de IL-10

Cooperación de TLR en la respuesta celular

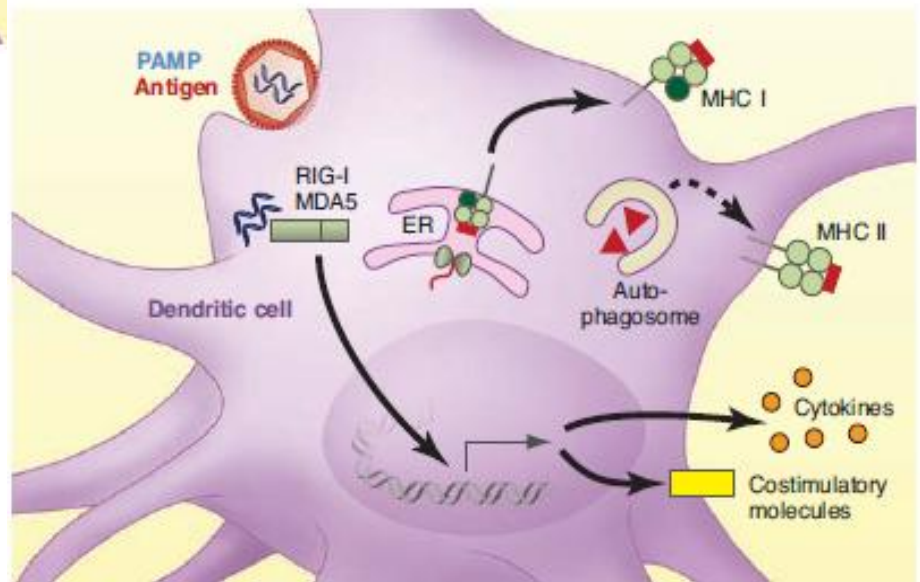
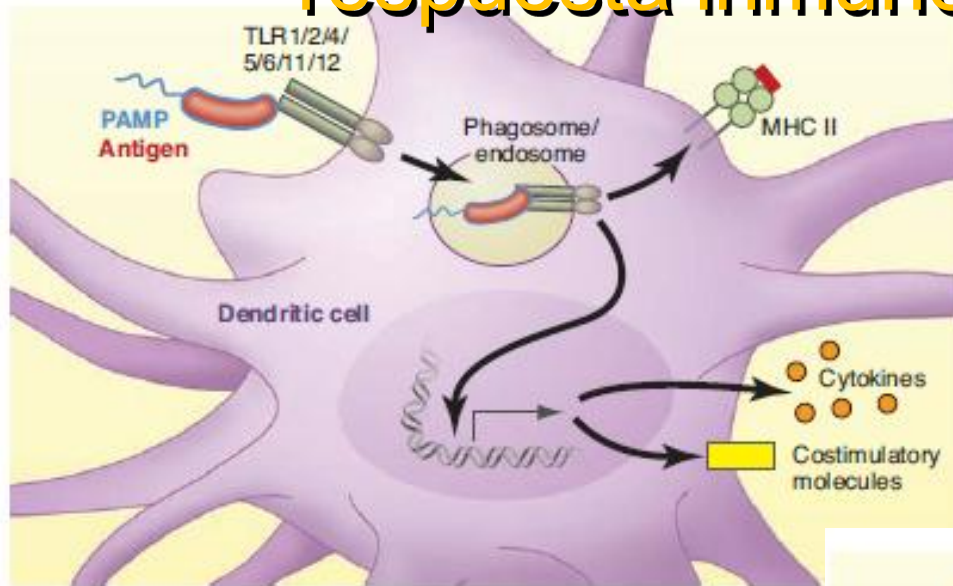
Mecanismos básicos de cooperación entre TLRs para resistencia a la infección



Innate immunity is critical to adaptive immune response

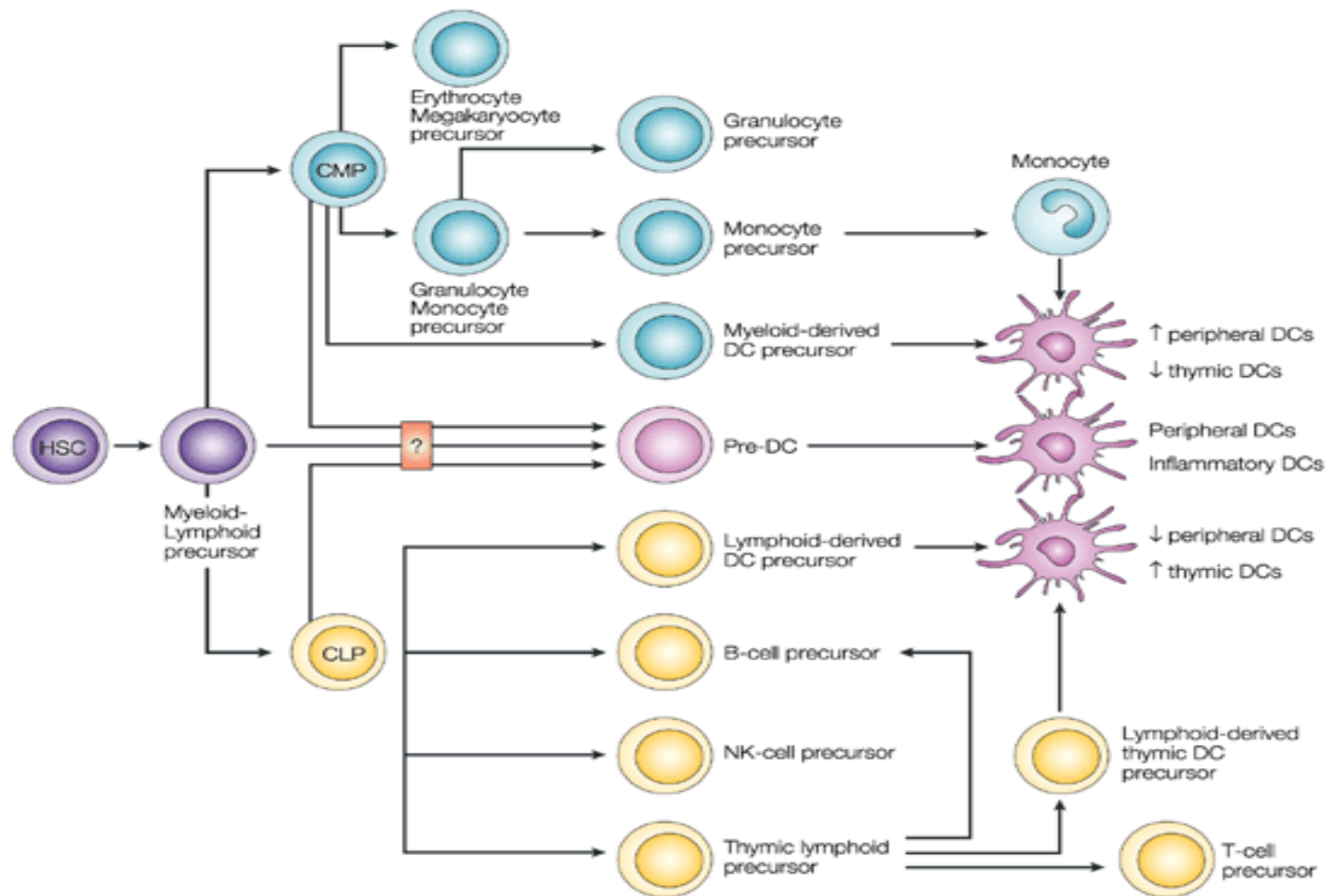


Papel de los receptores Toll en la respuesta inmune adaptativa



Akiko Iwasaki et al, Science 2010

Diferenciación de células dendríticas

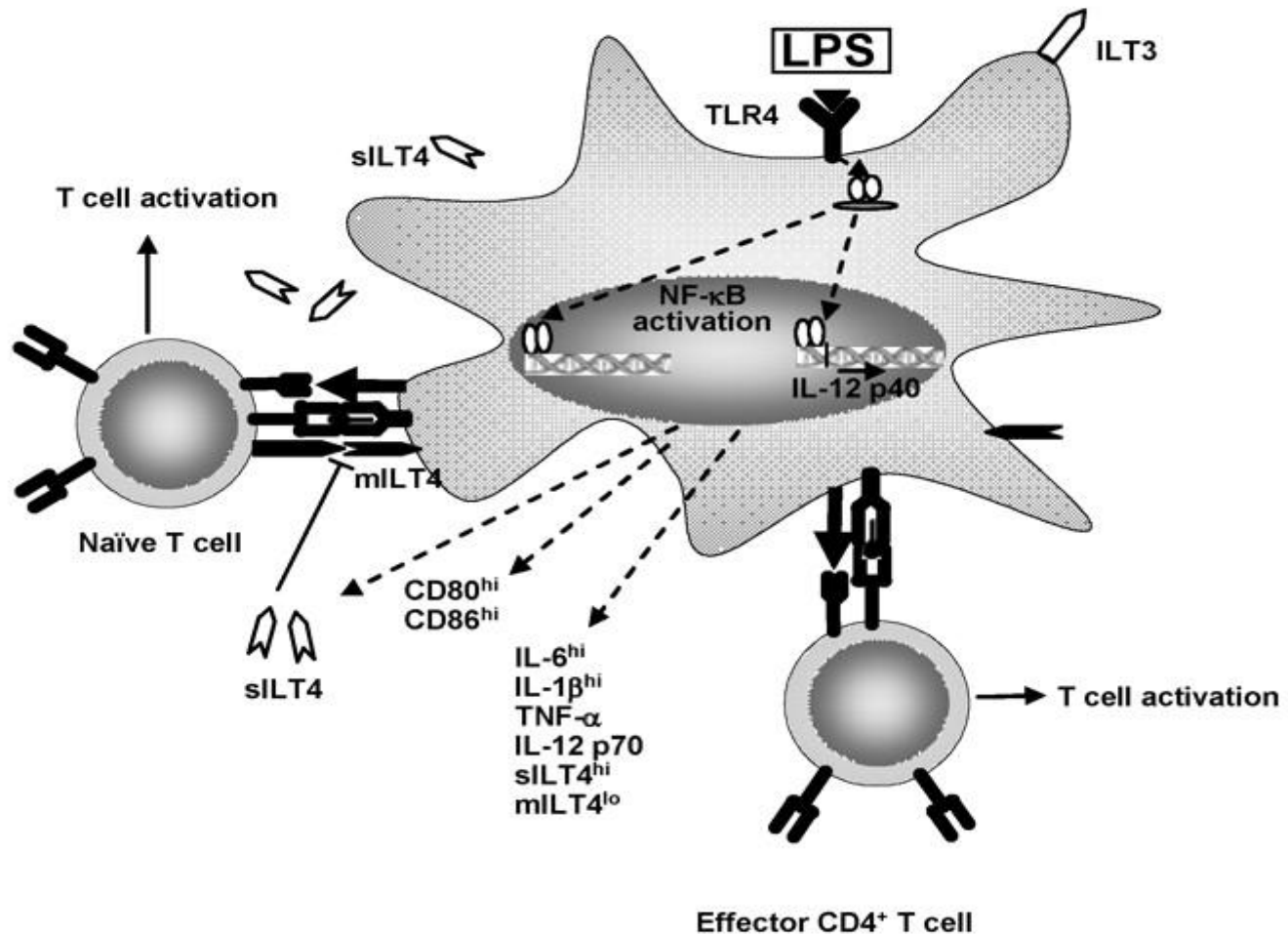


SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS DENDRÍTICAS

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 .

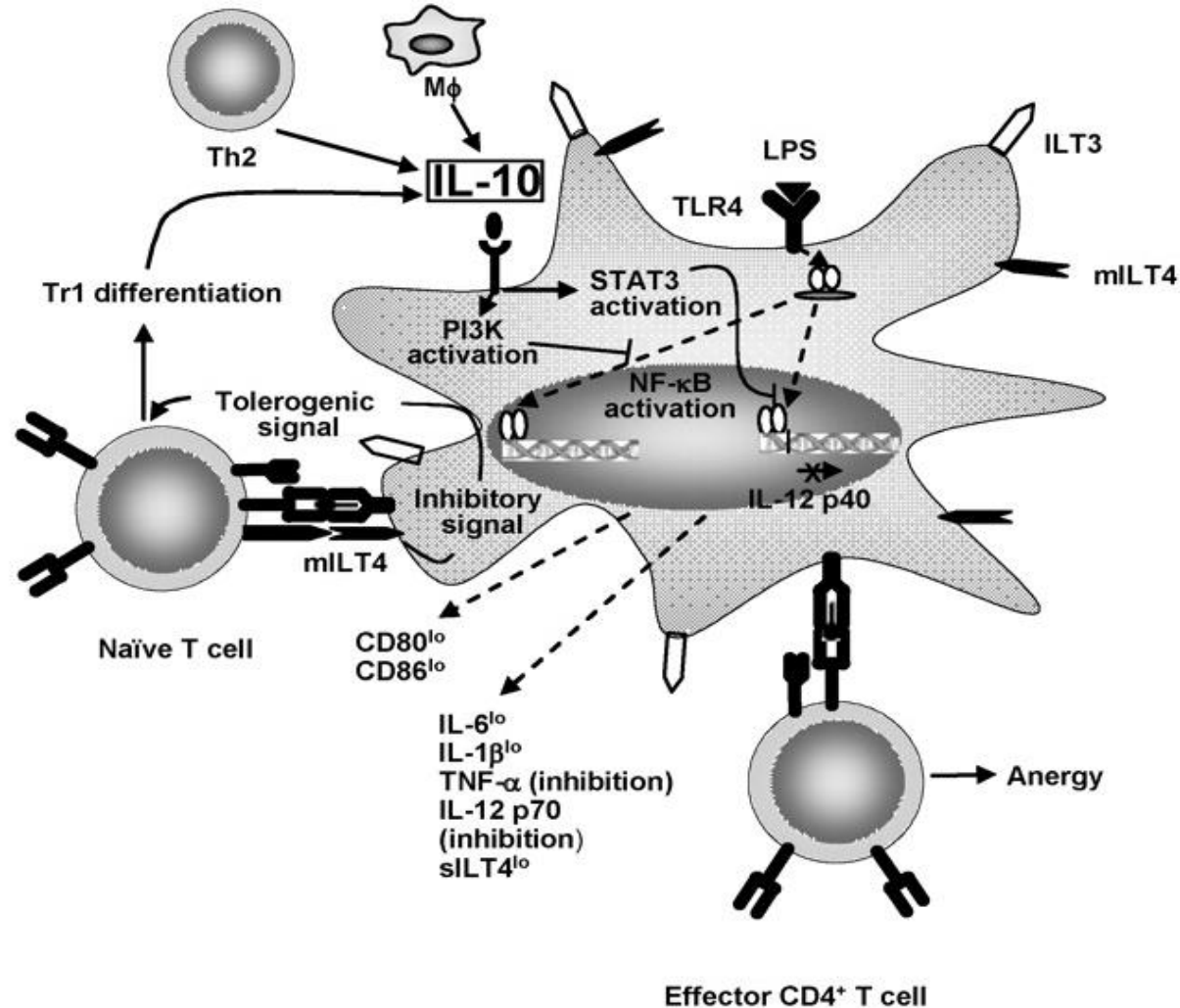
Inmunorregulación de las células dendríticas por IL-10

A.



Inmunoregulación de las células dendríticas por IL-10

B.



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

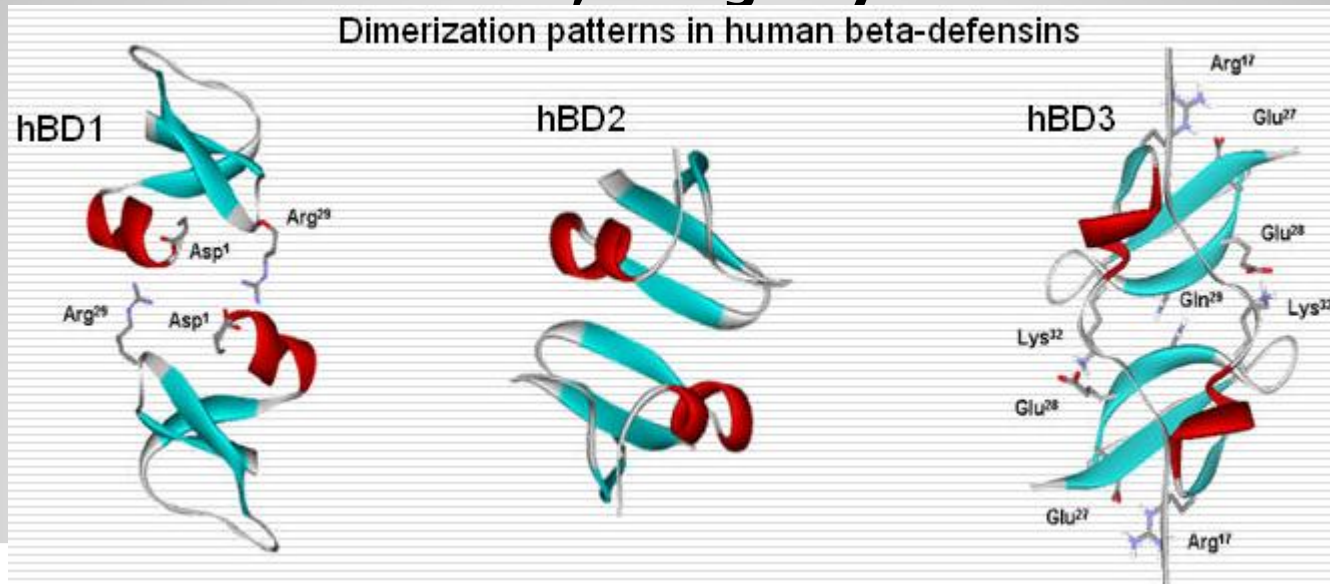
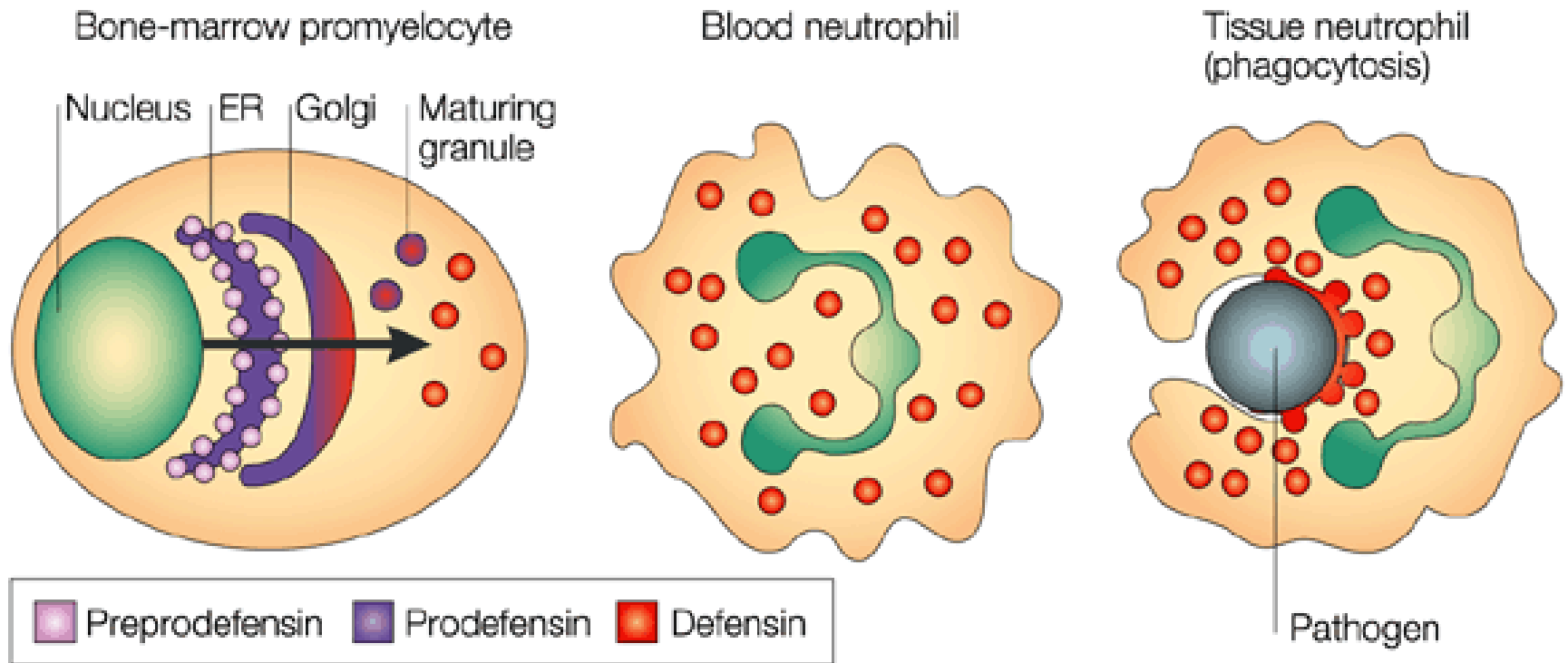


Table 1 | **Distribution and source of defensins**

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

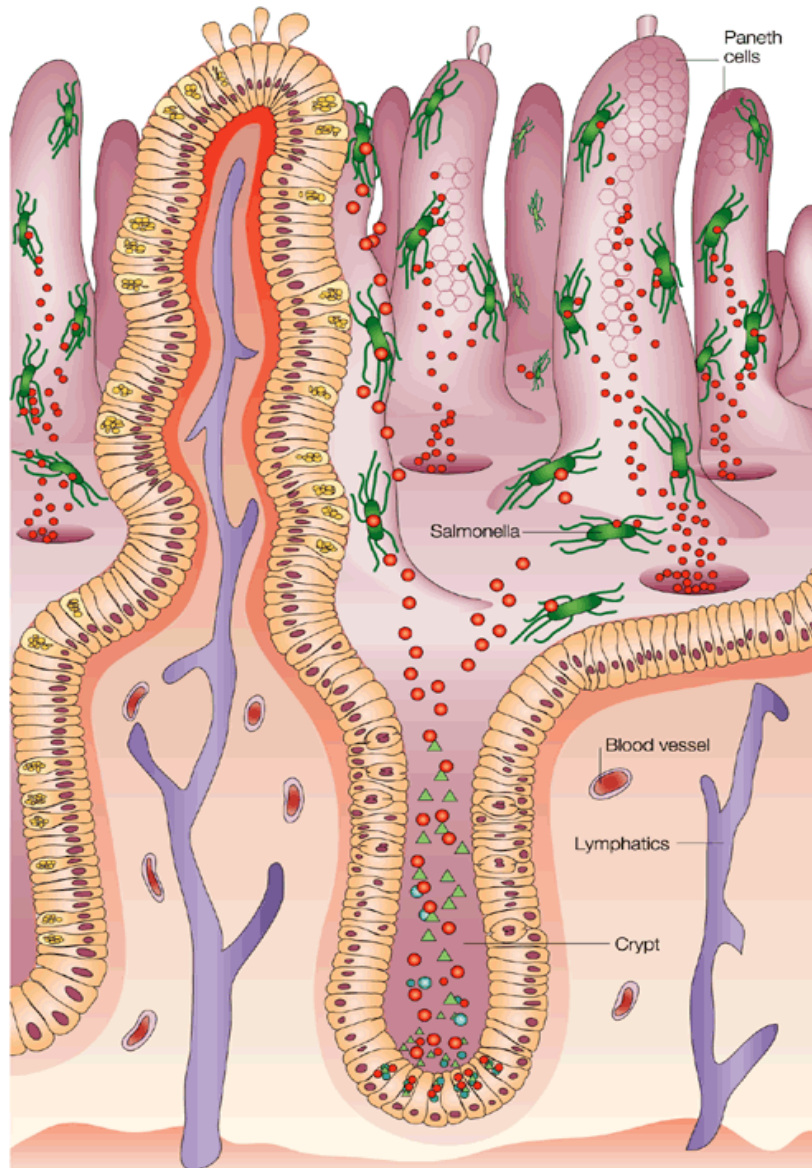
*Main cellular source. HBD, human β -defensin; HD, human α -defensin; HNP, human neutrophil peptide; IL-1 β , interleukin-1 β ; PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate; TNF, tumour-necrosis factor.

Síntesis y liberación de defensinas



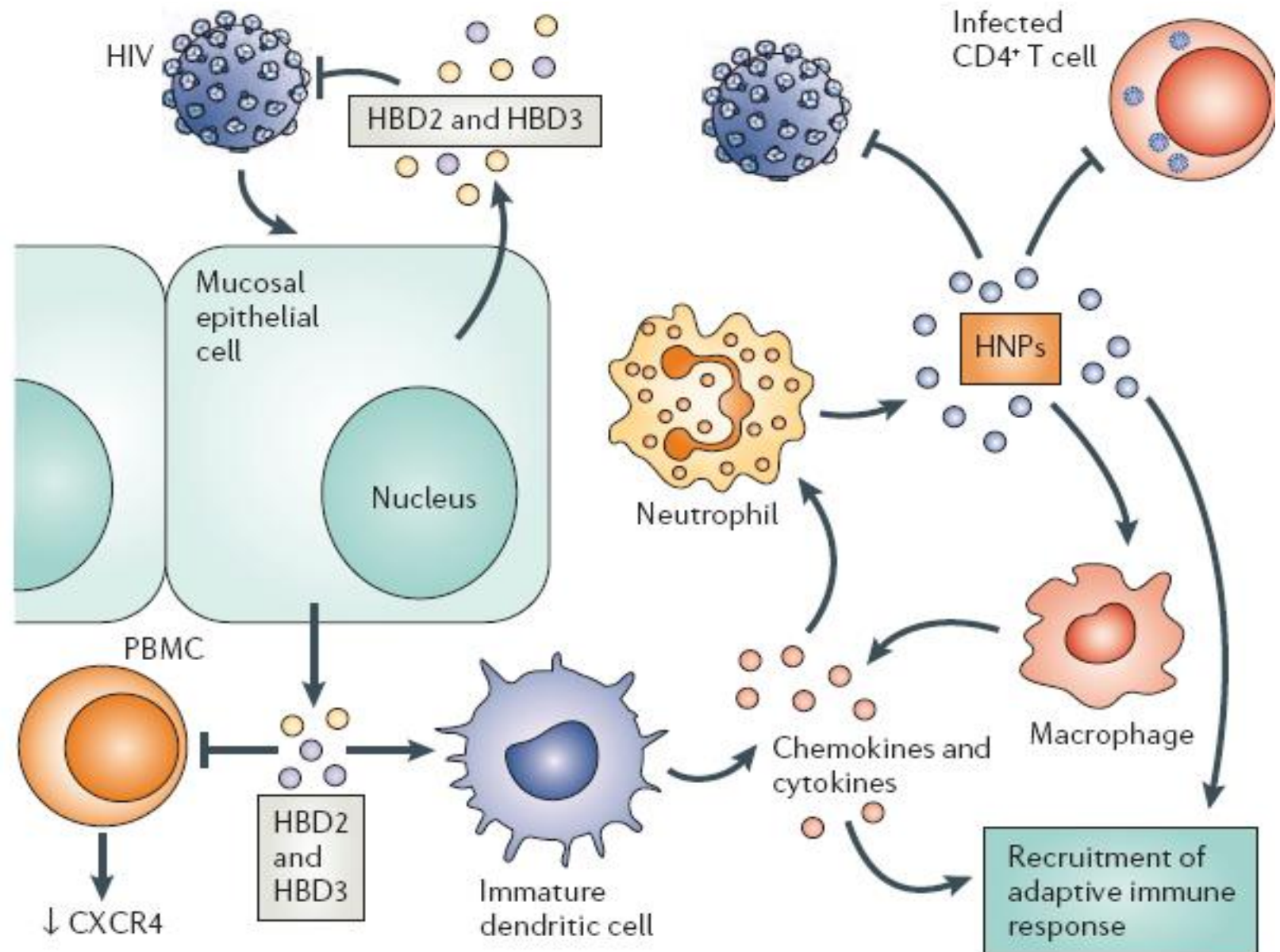
HNP: defensina α , péptido de los neutrófilos humanos

Nature Reviews | Immunology



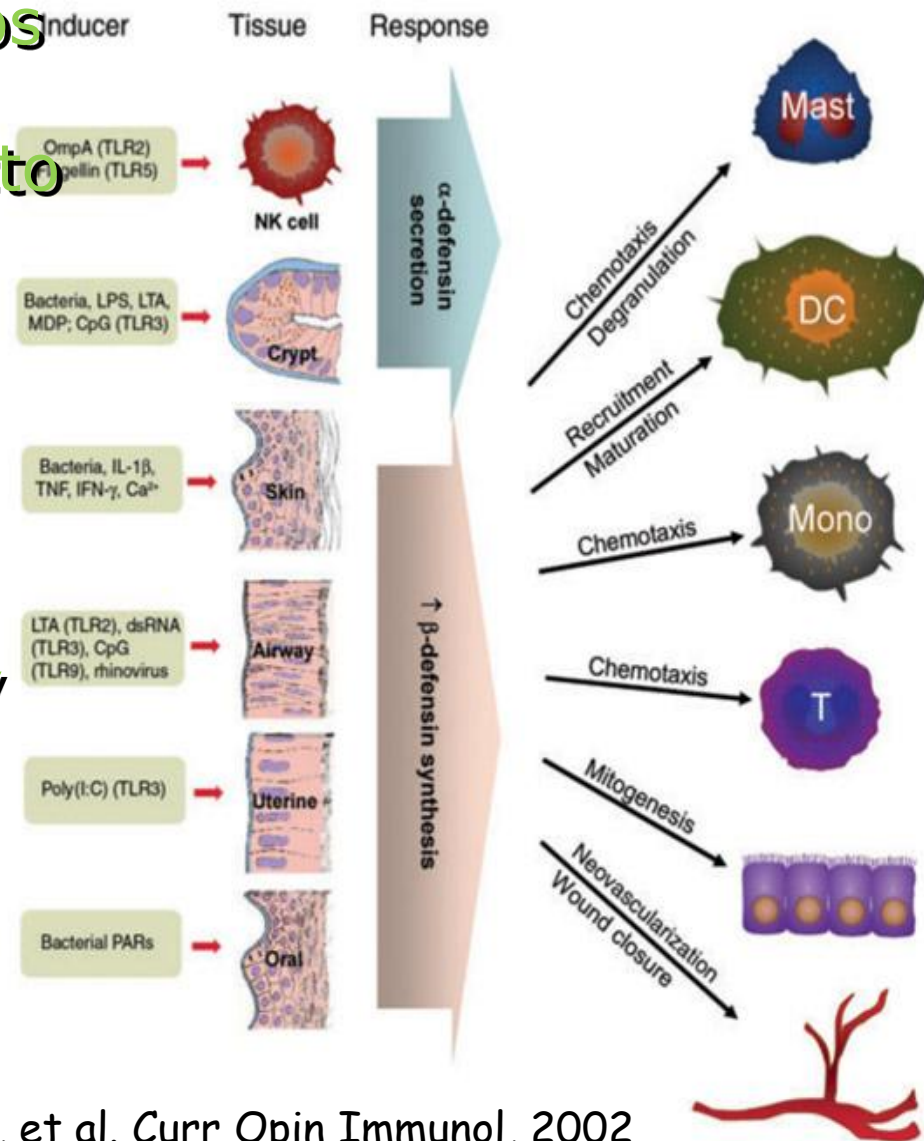
**Acción
bactericida
de las
defensinas:**
papel de la
prodefensina 5,
defensina 5 y
tripsina a nivel de
las criptas

Papel de las defensinas en la infección contra el HIV



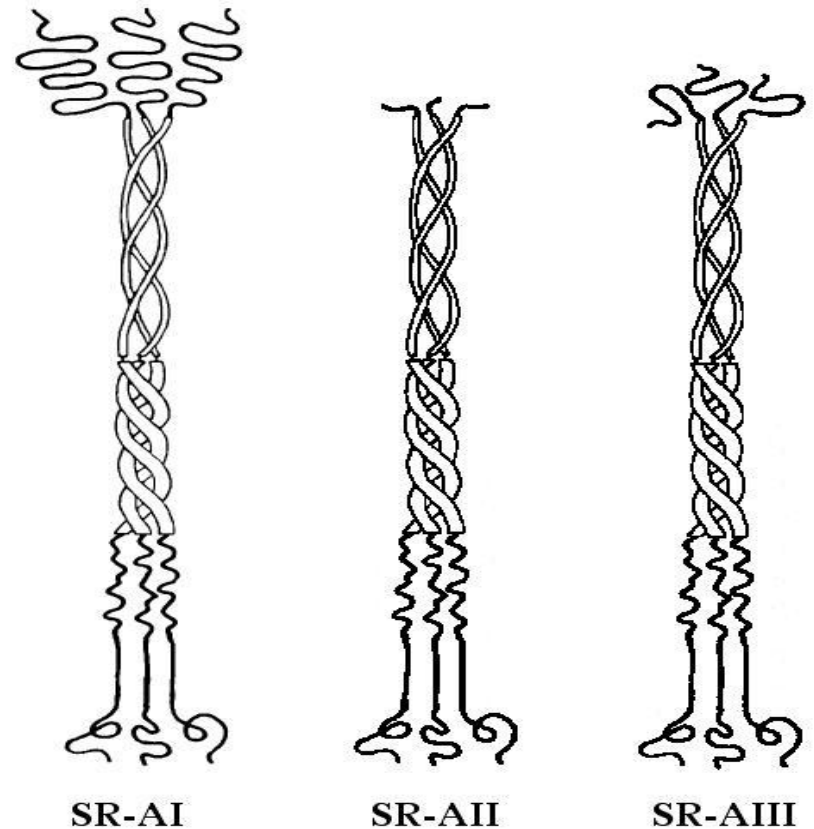
Defensinas: inducción de respuesta inmune adaptativa

- 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



Receptores "Scavenger" en Inmunidad Innata

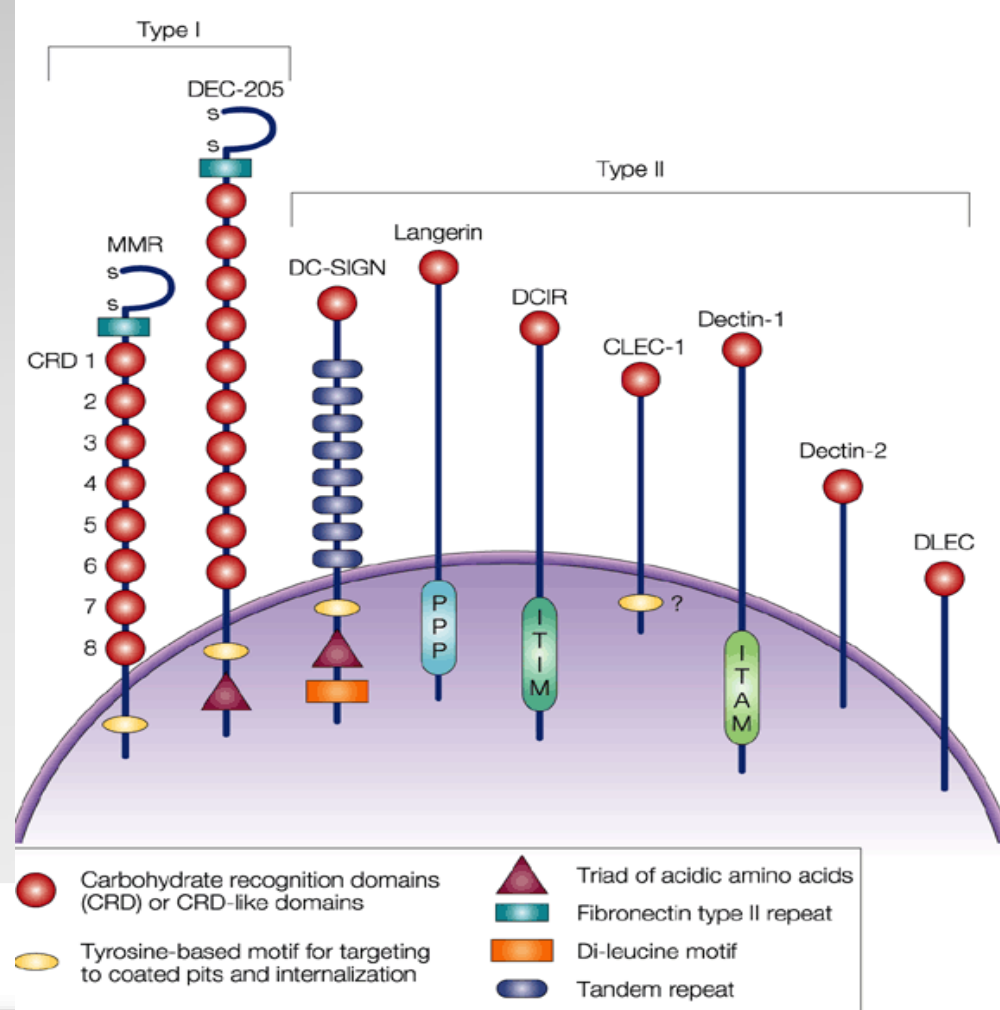
- ▶ Pertenecen al grupo PRR, expresados en células mieloides y células endoteliales
- ▶ Captura y eliminación de elementos propios transformados (ej: cel apoptóticas)
- ▶ Interacciones con bacterias
 - SR-AI y SR-AII: Expresados en la mayoría de macrófagos tisulares (no neutrófilos ni monocitos).



The class A macrophage scavenger receptor

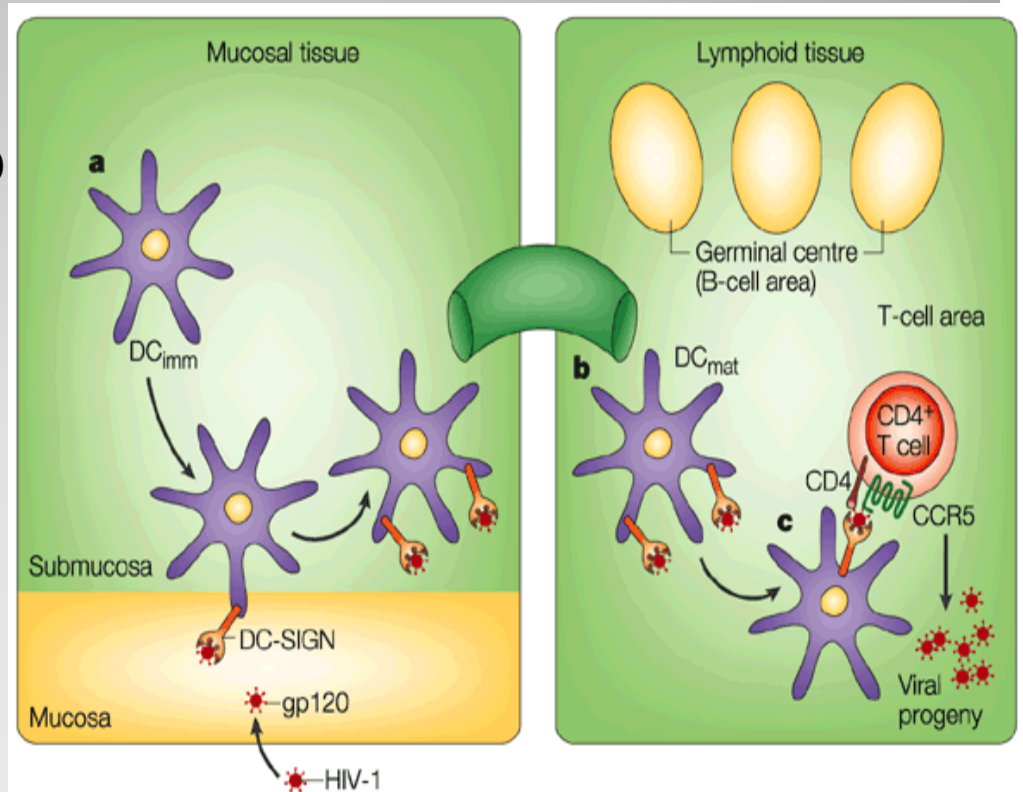
Receptores lectinas tipo C en la inmunidad innata

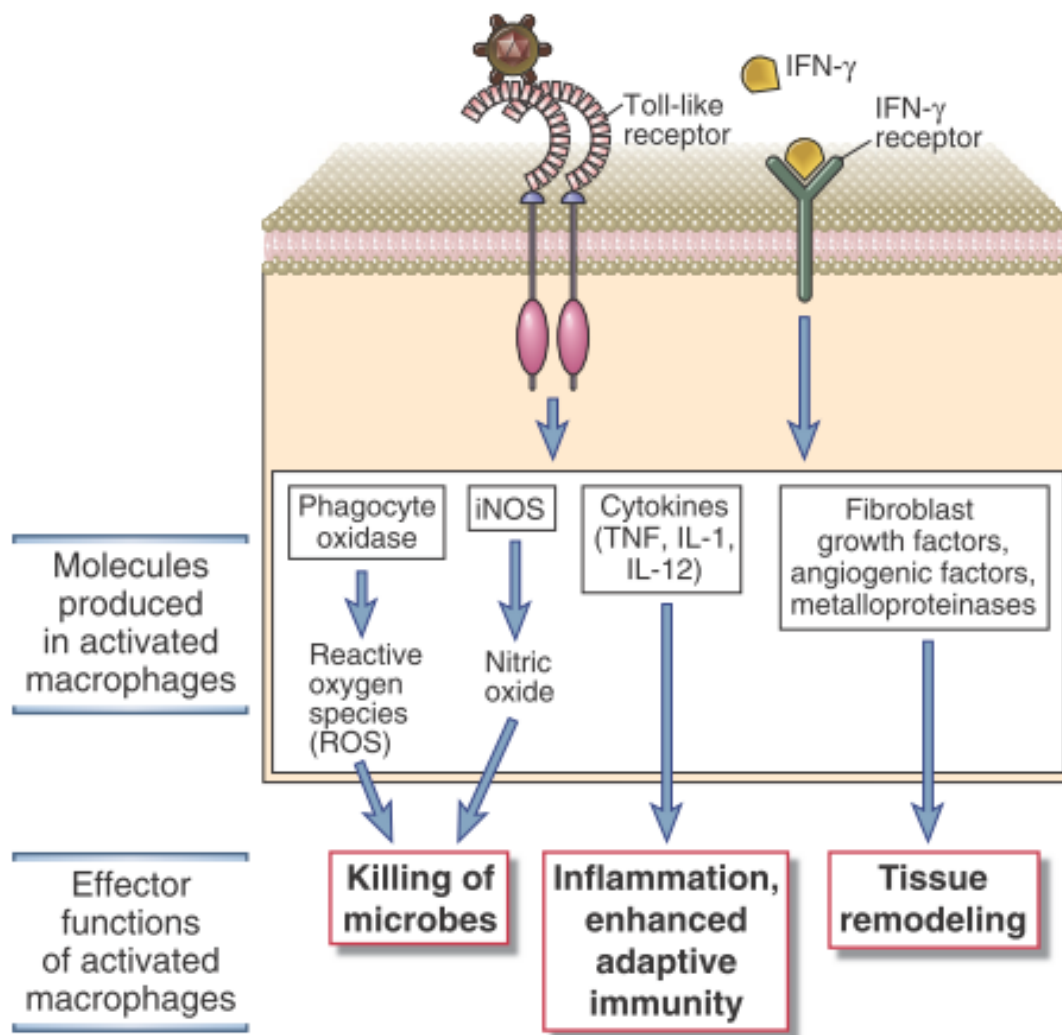
- ▶ Lectinas de tipo C se unen a azúcares en una manera dependiente de Ca utilizando residuos de carbohidratos altamente conservados (CRDs).
- ▶ Ejemplos de tipo solubles: Surfactante pulmonar (SPA y SPD), llamadas colectinas (colágeno+lectina).
- ▶ Al unirse a sus ligandos, las colectinas se asocian 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

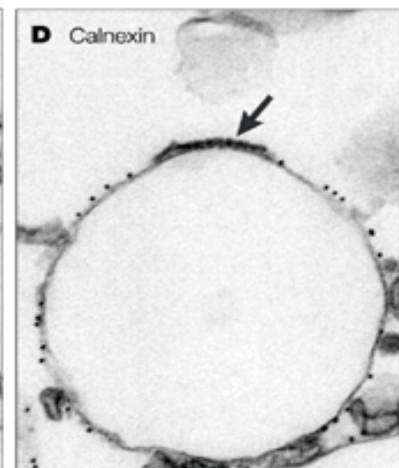
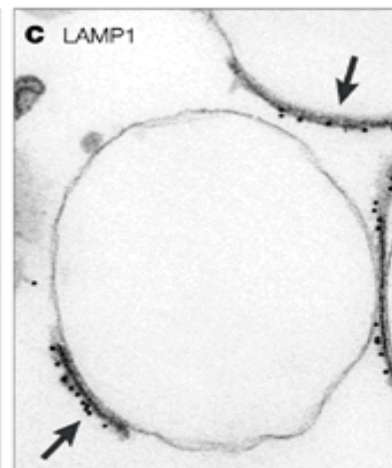
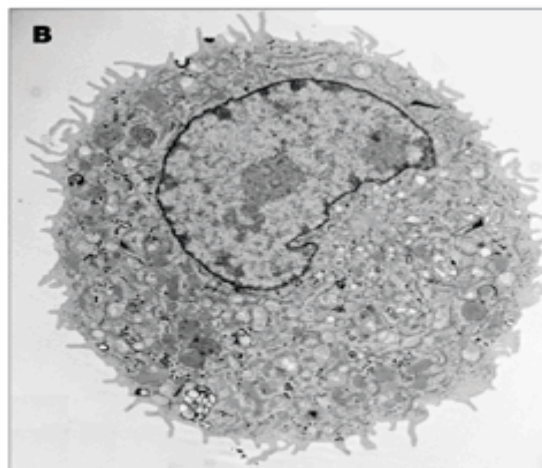
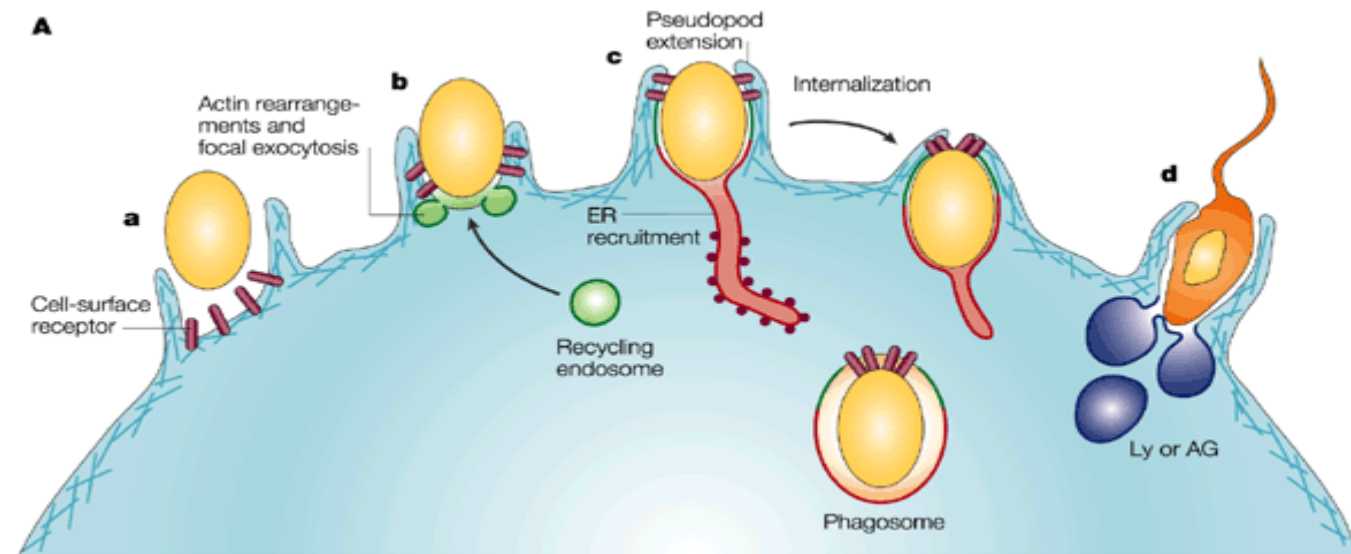
Inmunidad innata: Fagocitosis

► 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**



Copyright © 2001 Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / Dennis Kunkel

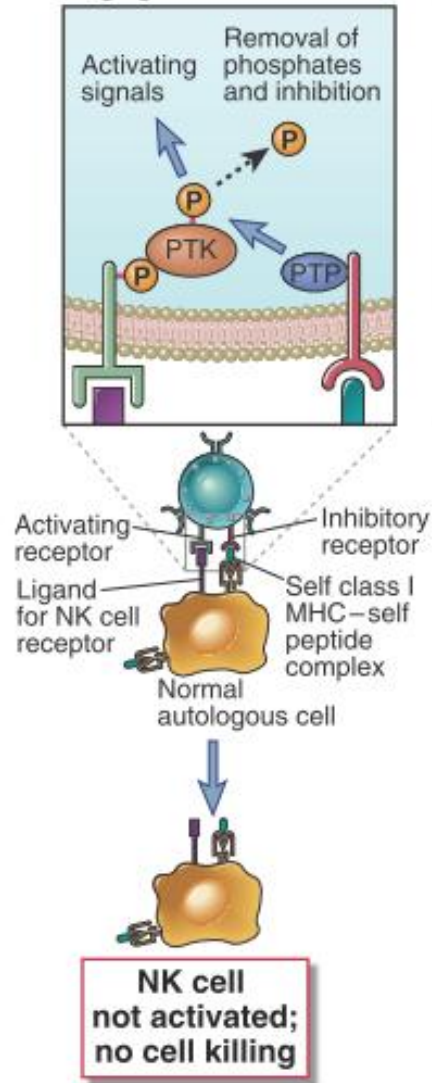


- ▶ Representan entre 5-20% de los linfocitos circulantes, 5% de los linfocitos esplénicos
- ▶ Expresión de CD56 y CD16, ausencia de CD3
- ▶ Producen citokinas: IFN- γ , TNF- α , Linfotoxina, IL-3, GM-CSF, IL-5, IL-13, IL-10, IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , entre otras.
- ▶ Deficiencia de NK, infecciones virales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

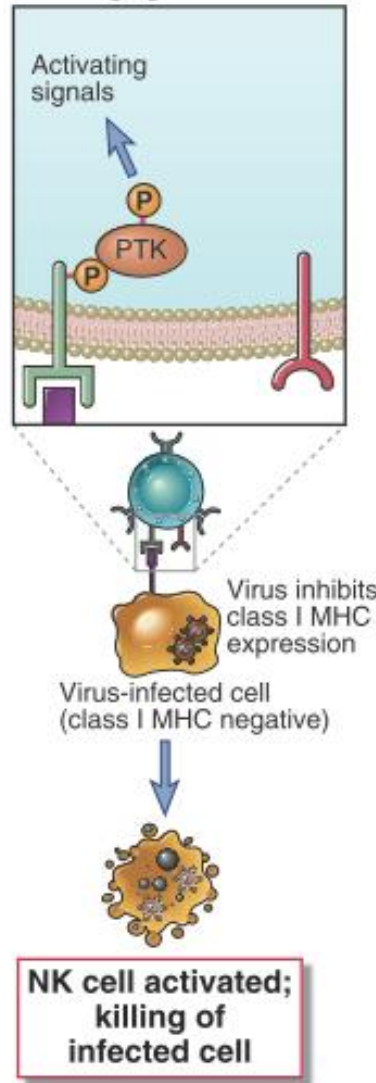
Origen y funciones de las células NK

Activación de NK

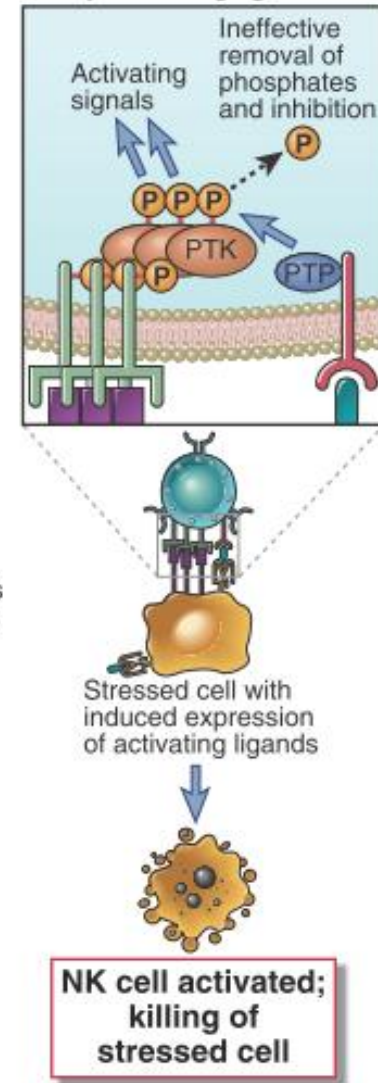
A Inhibitory receptor engaged



B Inhibitory receptor not engaged



C Multiple activating receptors engaged



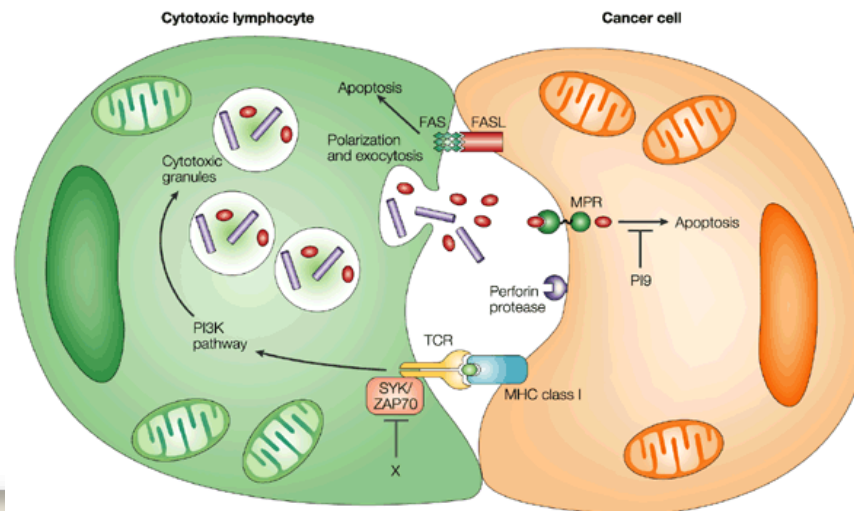
Citotoxicidad

► 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

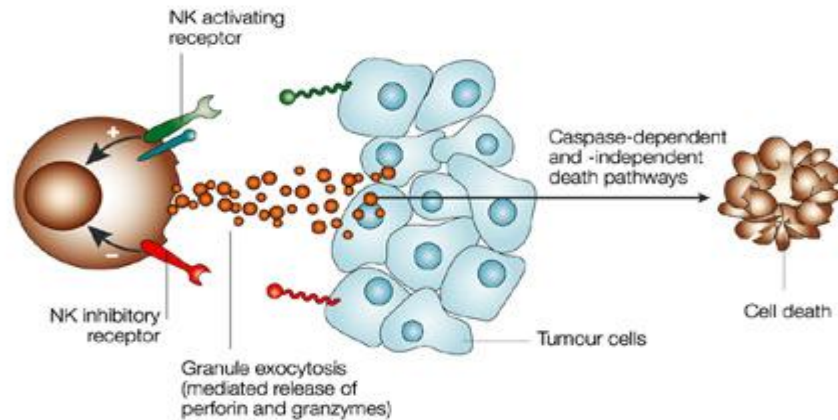
► Células NK

- 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

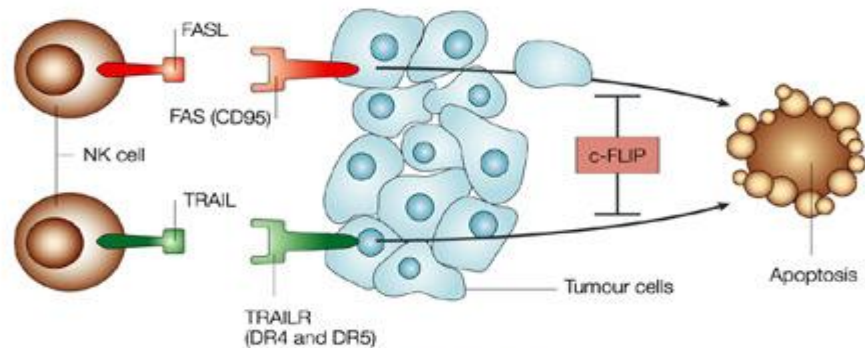


Lisis mediada por NK

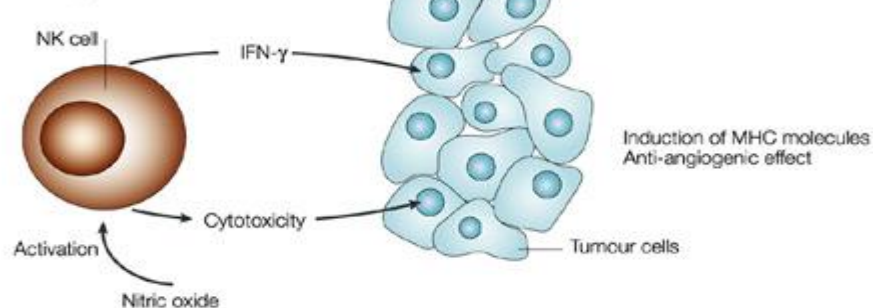
a Granule exocytosis pathway



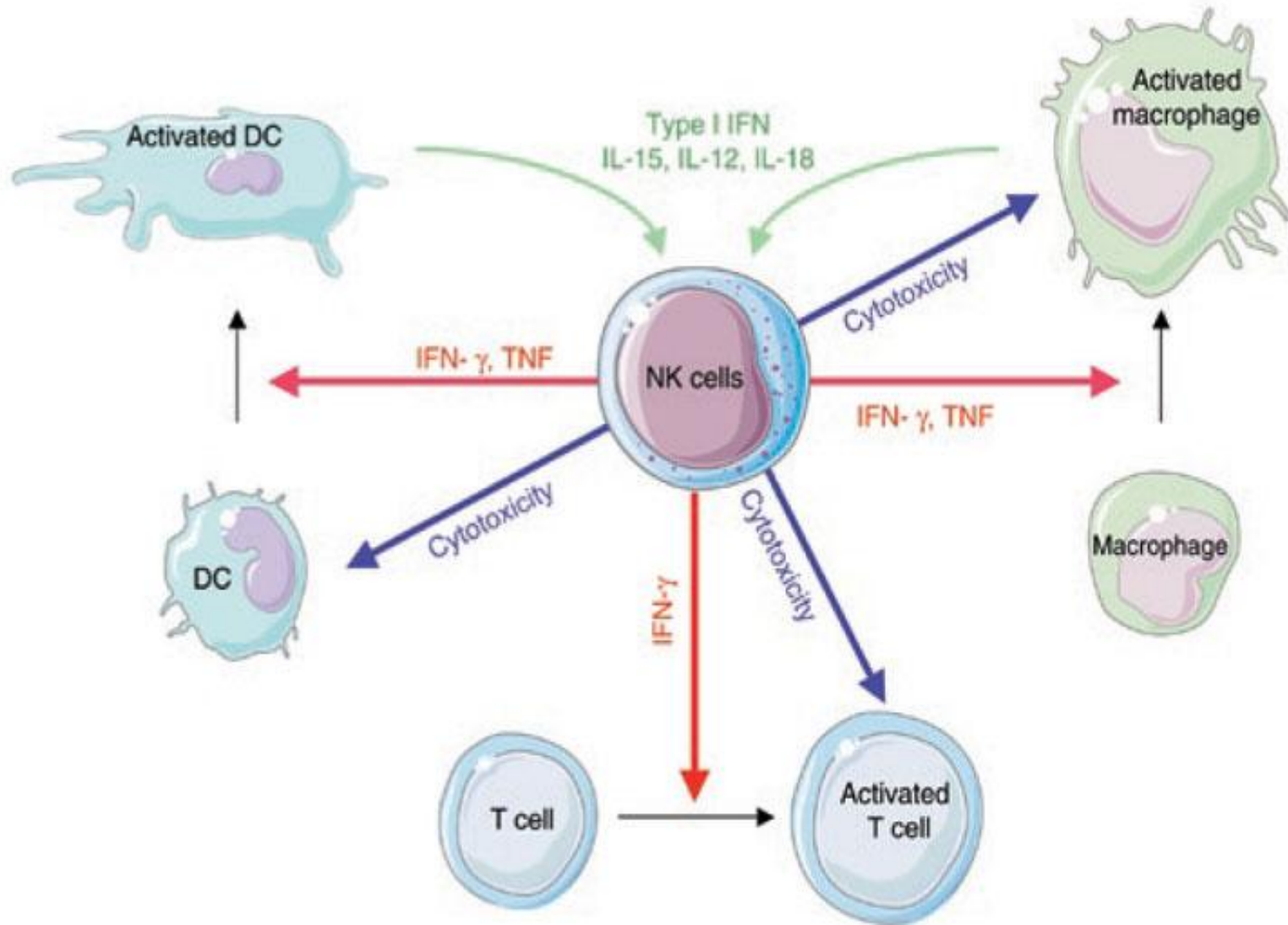
b Death-receptor pathway



c IFN- γ , nitric oxide



Regulación de la Respuesta Inmune mediada por NK



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

- ▶ Eventos mediados por TLRs , 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 TLR induce la liberación de quimiocinas a partir de los macrófagos residentes y células dendríticas, reclutando diferentes grupos de leucocitos

Tráfico de CD mediado por quimiocinas

