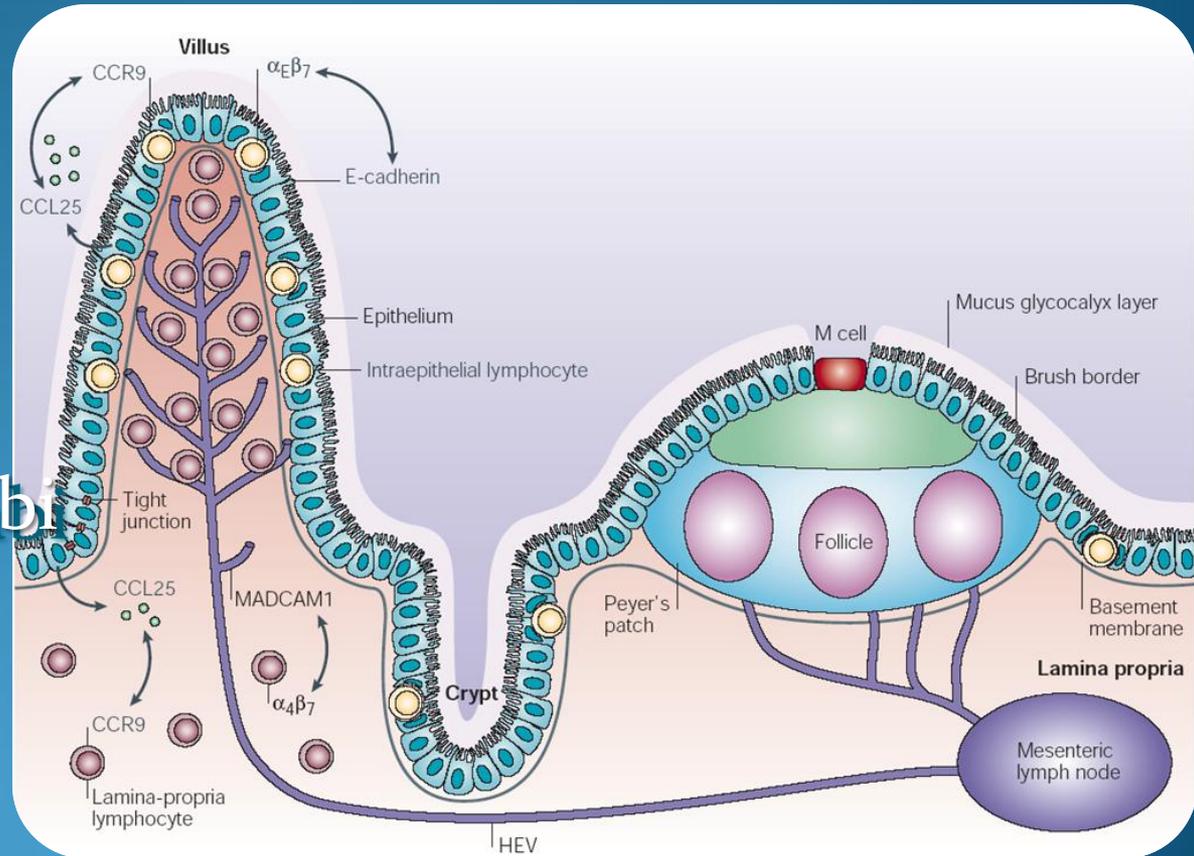


Inmunidad de las mucosas

“MECANISMOS ACTIVOS PARA PROMOVER TOLERANCIA”

Siham Salmen Halabi
Idic-ULA 2010



Sistema inmune común de las mucosas (SIM)

- Objetivos
 - Describir los componentes del sistema inmune común de las mucosas
 - Definir sus funciones
 - Detallar los sitios inductores y los sitios efectores
 - Detallar las funciones de cada uno de sus componentes
 - Describir las funciones de la IgA de las secreciones, como uno de los principales componentes efectores del sistema inmune común de las mucosas

Sistema inmune común de las mucosas: FUNCIONES DE LAS BARRERAS MUCOSAS

- **Funciones principales**

- Transporte de macromoléculas
- Absorción
- Función secretora y de barrera (primera barrera física e inmune) es la principal puerta de entrada de microorganismos
 - Mucinas, defensinas e IgAs
 - **Exclusión de antígenos**
 - Prevenir la colonización por microorganismos potencialmente patógenos
 - Prevenir la captura de Ag no degradados (2.500 kg de proteínas)
 - Uniones entre las células epiteliales no permite el paso de péptidos y macromoléculas antigénicas (hasta 2 kDa de tamaño)

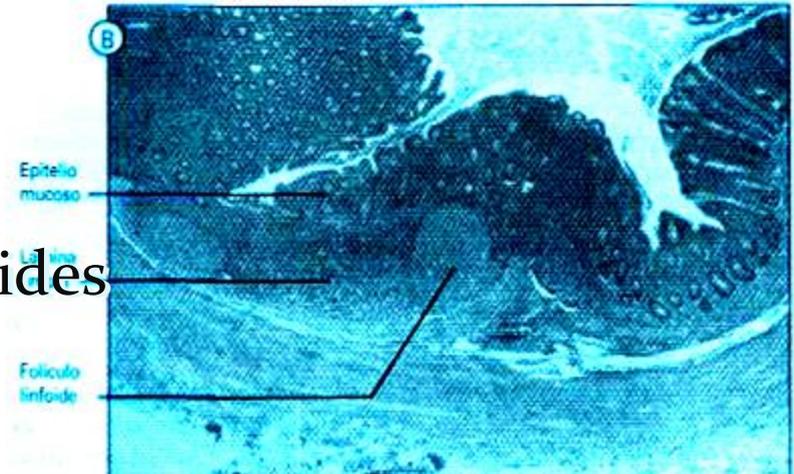
Una respuesta no controlada del SIM conduce a: alergias, hipersensibilidad e inflamación

Sistema inmune común de las mucosas

- Funciones principales
 - Prevenir el desarrollo de respuesta inflamatoria frente a los antígenos provenientes de la dieta y flora bacteriana
 - Responsable de mediar la relación simbiótica entre los microorganismos comensales y el hospedador
 - Superficie de 400m² (intestino humano)
 - Expuesto constantemente a millones de antígenos: dieta, alimentos y flora bacteriana (10¹⁴ microorganismos residentes, 500-1000 especies diferentes)
 - Promover la tolerancia, es su **OBJETIVO PRINCIPAL**

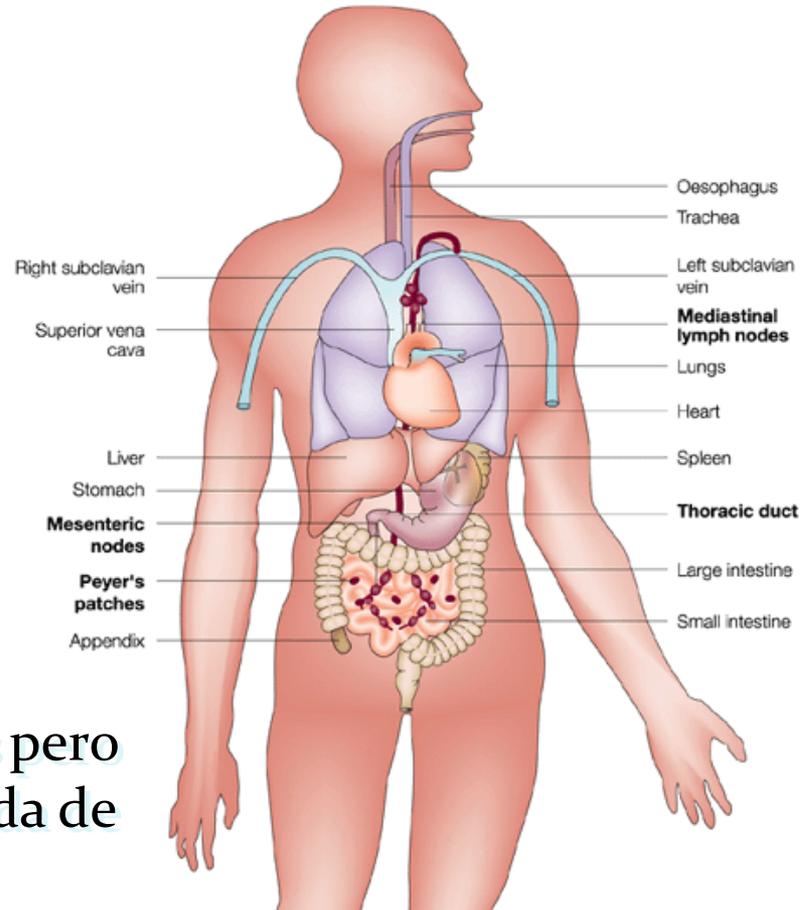
Sistema inmune común de las mucosas: ELEMENTOS QUE LO FORMAN

- Tracto respiratorio
- Tracto genitourinario
- Tracto Gastrointestinal
 - Epitelio
 - Lámina propia
 - Placas de Peyer (tejidos linfoides organizados)
 - Las amígdalas faríngeas

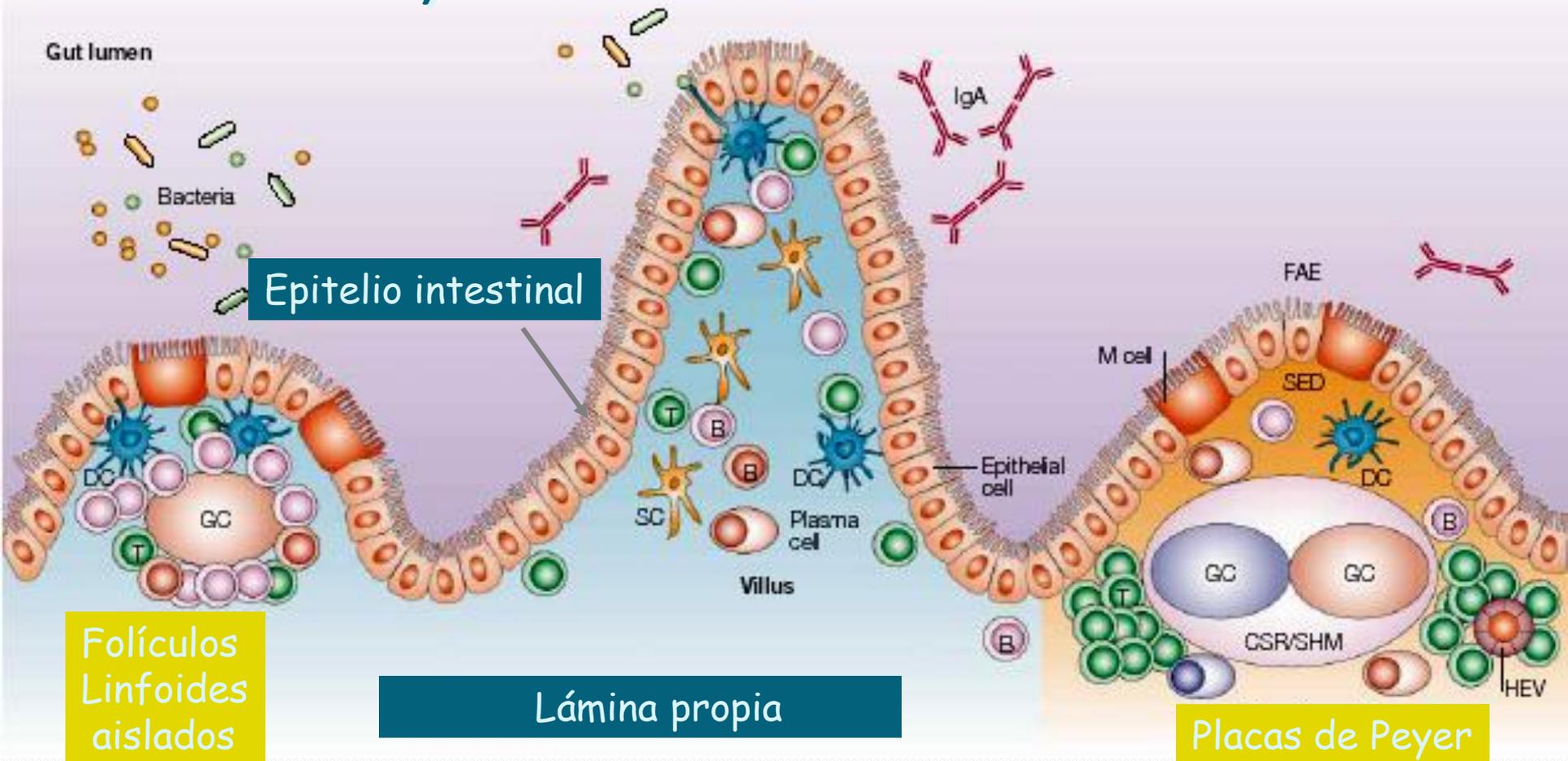


Sistema inmune común de las mucosas

- BALT: asociado al tracto respiratorio
- *NALT: asociado al tracto nasofaríngeo
- *GALT: asociado al tracto digestivo
 - *Tiene vasos linfáticos eferentes pero no aferentes, así limitar la entrada de antígenos sistémicos



Sistema inmune común de las mucosas (conecta sitios efectores con inductores)

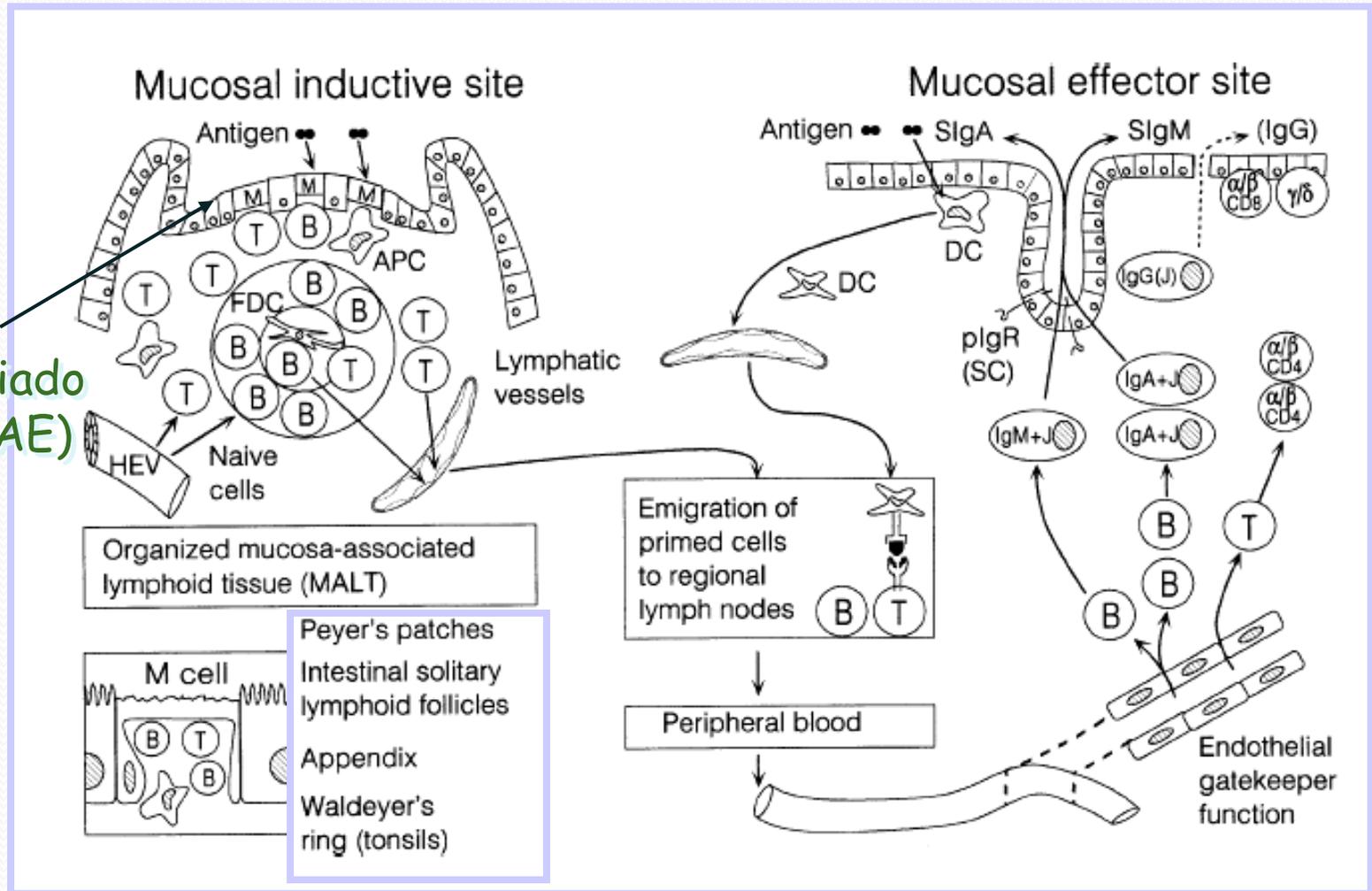


Sistema inmune común de las

mucosas: FUNCIONES DE LAS BARRERAS MUCOSAS

- Sitios inductores
 - Placas de peyer
 - Folículos linfoides aislados
- Sitios efectores
 - Lámina propia
 - Epitelio intestinal

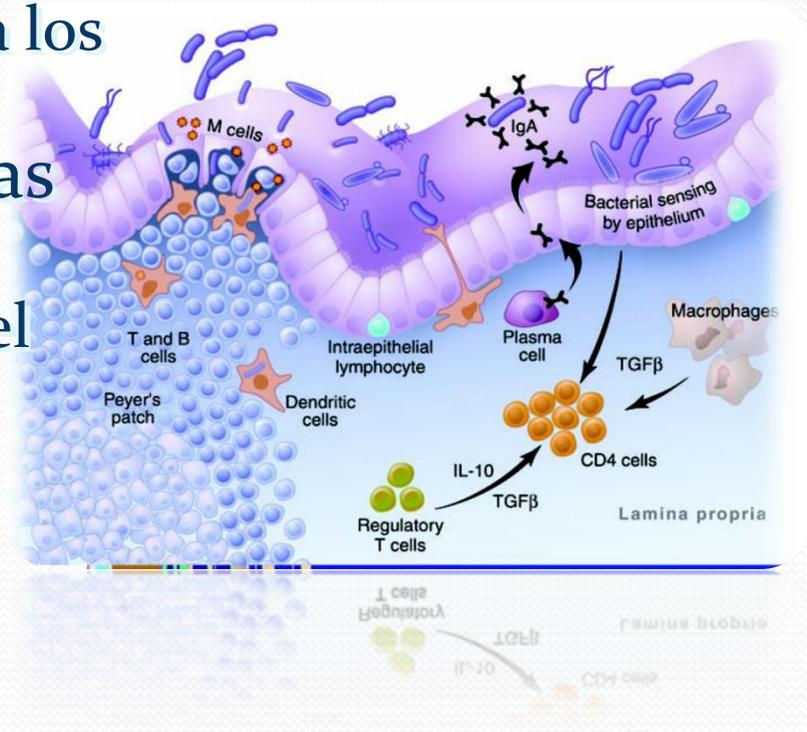
Sistema inmune común de las mucosas : ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL



Epitelio asociado al folículo (FAE)

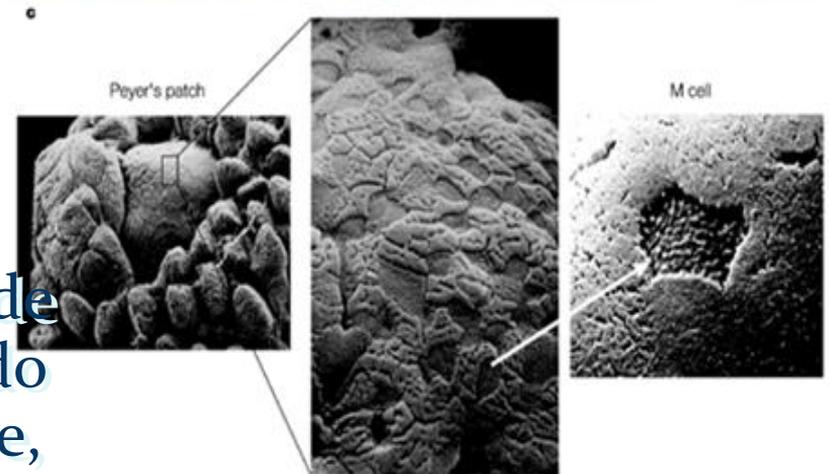
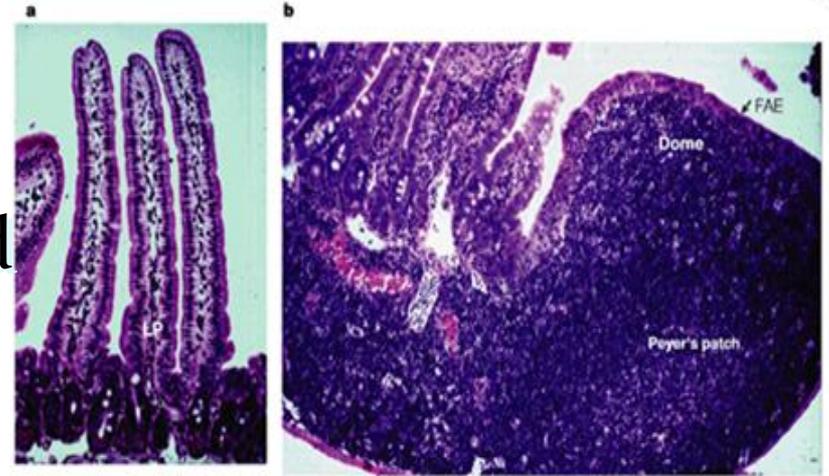
Sistema inmune común de las mucosas

- Cuales son las rutas de captura de antígenos?
 - Células M
 - Pasan los antígenos intactos a los macrófagos y DC
 - Trans-epitelial a través de las células dendríticas
 - Exponen dendritas a través del epitelio hacia la luz intestinal
 - Transferencia a través del epitelio
 - Pasan los antígenos intactos, mecanismos poco conocidos



Sistema inmune común de las mucosas: SITIOS INDUCTORES

- Placas de Peyer
 - Células M (por “membranous or microfold cells”)
 - Se ubican en FAE (epitelio asociado al folículo)
 - Borde en cepillo desorganizado,
 - Son células epiteliales diferenciadas por influencia de factores liberados por el tejido linfoide organizado adyacente, flora intestinal y linfocitos B intraepiteliales



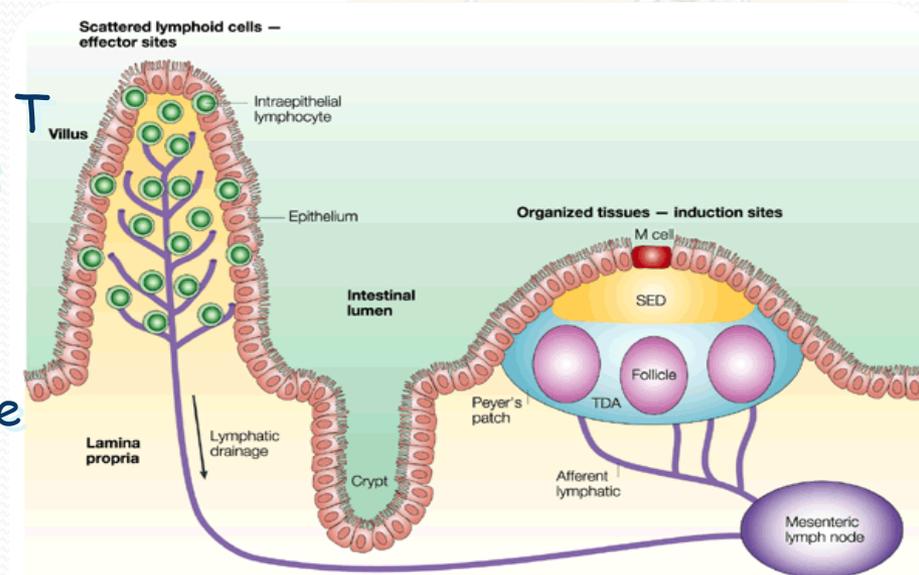
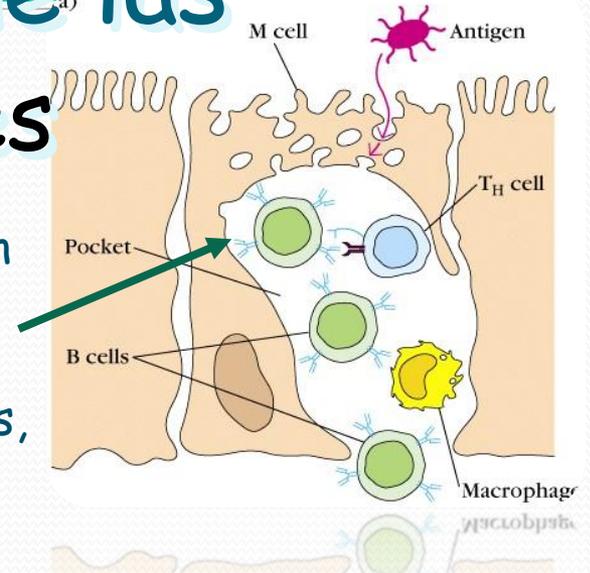
Sistema inmune común de las mucosas: Sitios inductores

• Placas de Peyer

• Células M

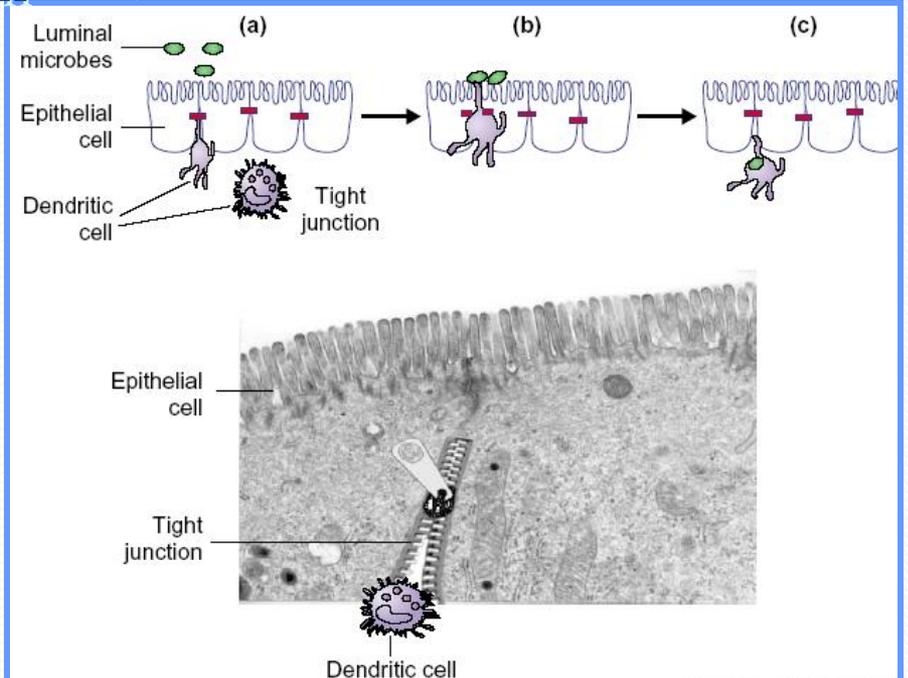
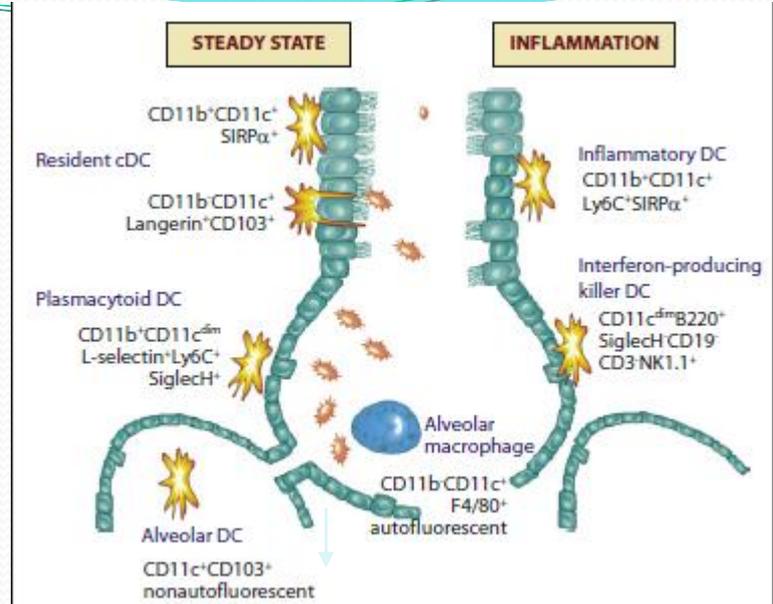
- Ag tomados y liberados directamente a células del sistema inmune adyacentes
 - Alícuotas pequeñas de Ag dieta = tolerancia (favorecen CD4 supresoras, productoras de TGF- β , supresión de respuesta Th1 y cambio de isotipo a IgA)
 - Interés para el desarrollo de vacunas

Invaginación basolateral contentivo de linfocitos, DC



Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS

- Vía independiente de las células M
 - ¿Como diferencian las Dc entre patógenos de los que no lo son?
 - DC toman Ag de la luz intestinal sin alterar la integridad de la mucosa
 - Receptores Toll aún no definidos u otros receptores con capacidad inhibitoria
 - NOD₂/CARD₅ (nucleotide-binding oligomerization domains), encargado del reconocimiento de comensales
 - Adquieren Ag propios de los enterocitos en apoptosis para promover tolerancia



Sistema inmune común de las mucosas : Células Dendríticas

Inducen la respuesta supresora, controlada por las células epiteliales intestinales a través de la liberación de linfopoyetina del estroma tímico (TSLP)

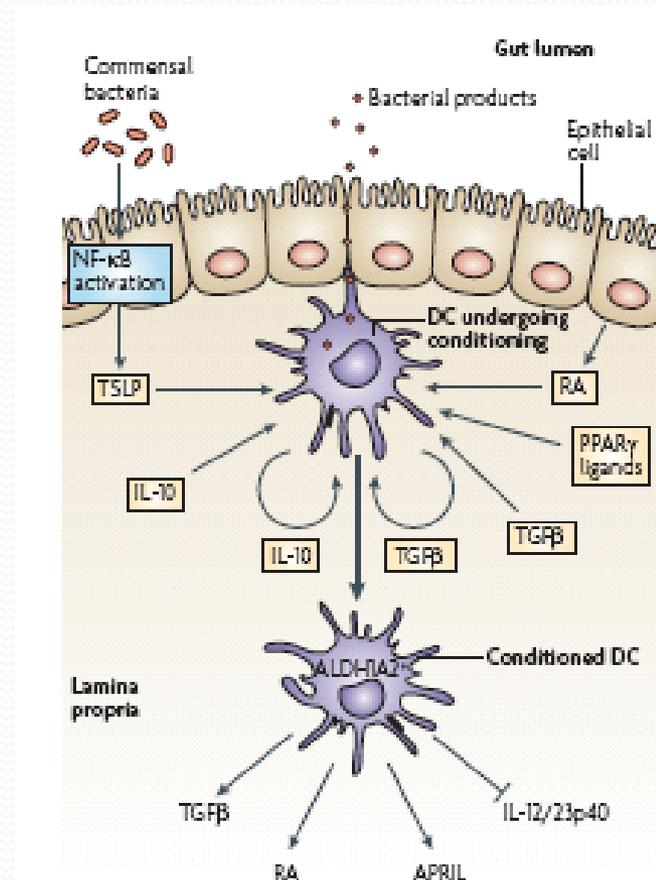
CD40

CD80

CD86

IL-12

IL-10



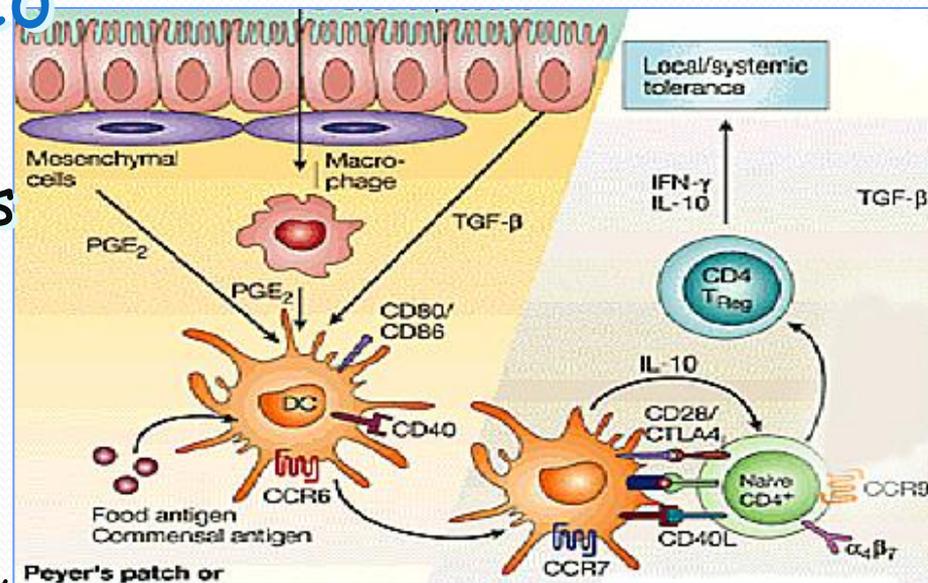
Sistema inmune común de las mucosas : Sitios inductores

- Células dendríticas poco estimuladoras:

- Baja expresión de moléculas co-estimuladoras

- Favorecido por $TGF\beta$ que es responsable del "switch" o cambio de isotipo hacia IgA

- Microambiente rico en $TGF-\beta$, producido tanto por células del estroma como por Treg

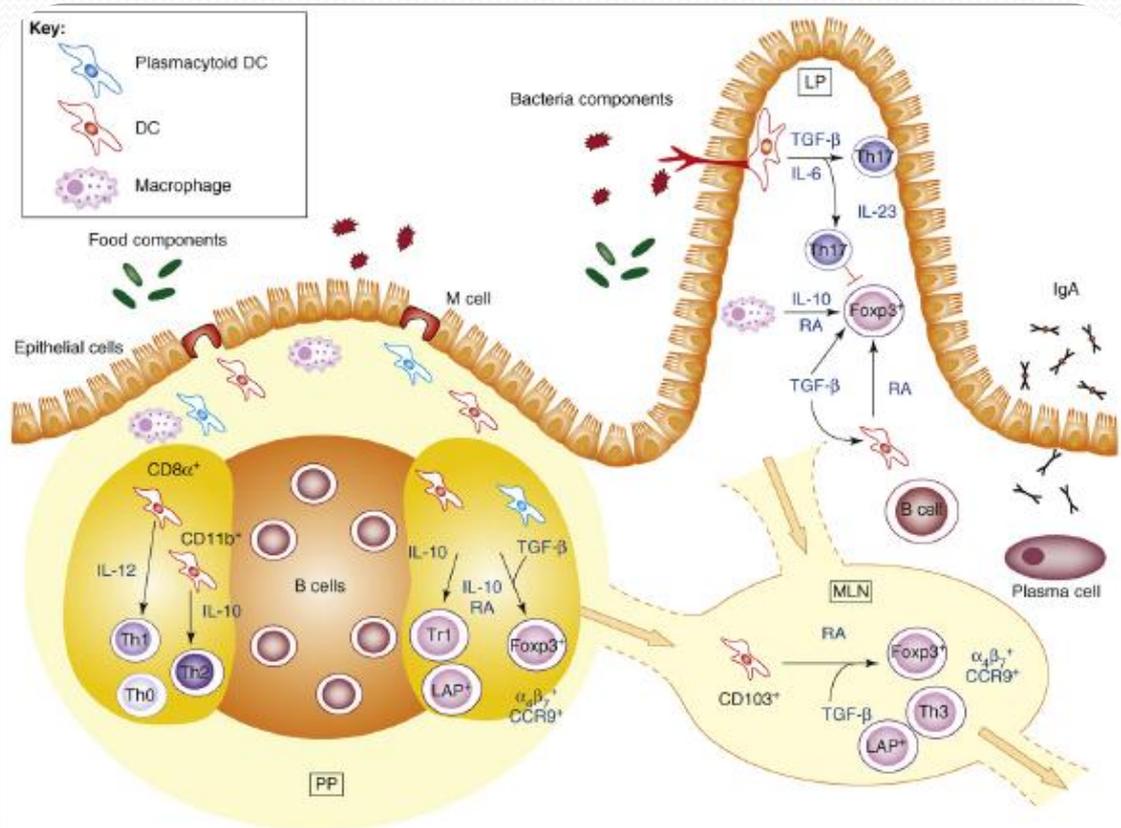


Co-estimulación ICOS/ICOSL y PD-1/PD-L conduce a la producción de IL-10

Sistema inmune común de las mucosas: CÉLULAS DENDRÍTICAS (DC)

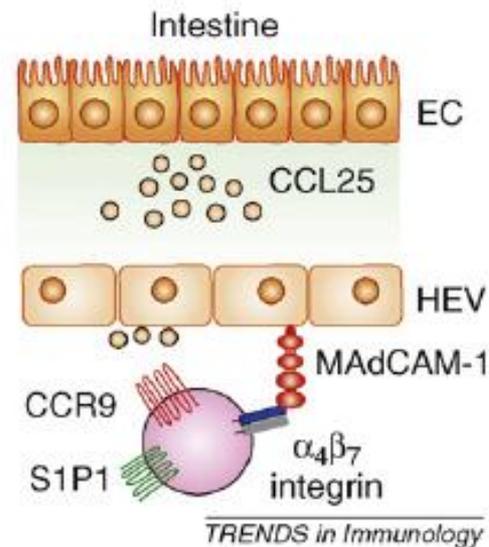
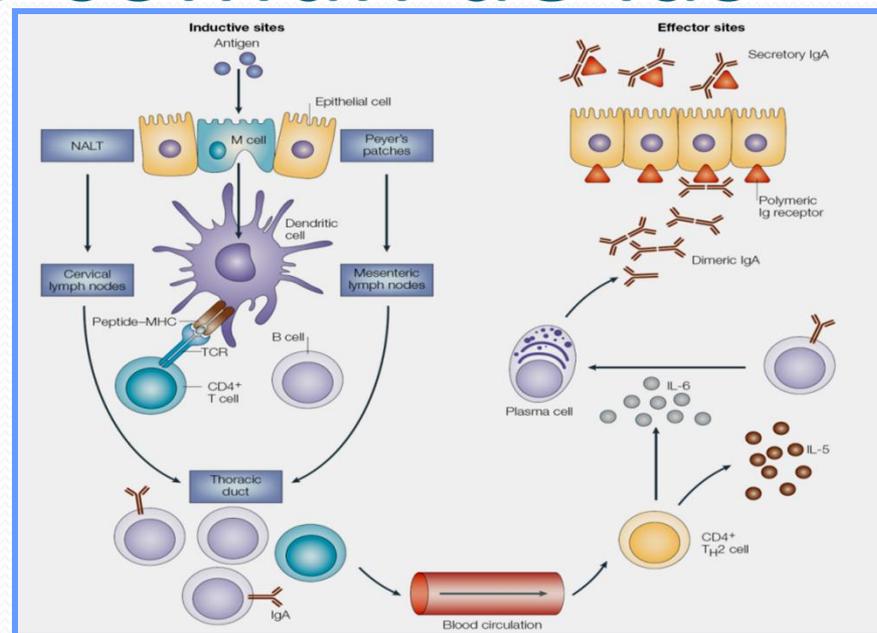
DC cargadas con Ag-no patogénicos migran desde PP, LP o del epitelio, hacia los NLM

- Células dendríticas con antígenos provenientes de comensales son retenidas en los Nódulos linfáticos mesentéricos evitando su migración sistémicas y previene una respuesta sistémica comensales específicos



Sistema inmune común de las mucosas

- Conexión entre sitios inductores y sitios efectores
- Linfocitos T activados en la mucosa expresan **CCR9** y la integrina **$\alpha_4\beta_7$** que le permite reingresar a la mucosa por reconocer a **MadCAM-1** de endotelio intestinal, probablemente conducido por DC de las placas de Peyer
- Sphingosine 1-phosphate (S1P), regulador del tráfico de linfocitos



Sistema inmune común de las mucosas : SITIOS EFECTORES

- Lámina propia
 - Poblaciones CD4 y CD8
 - Microambiente de inmunosupresión
 - Células T y macrófagos LP inducen proliferación de células epiteliales intestinales
 - APC poco estimuladoras, IL-10, TGF- β

Sistema inmune común de las mucosas : SITIOS EFECTORES

- LAMINA PROPIA

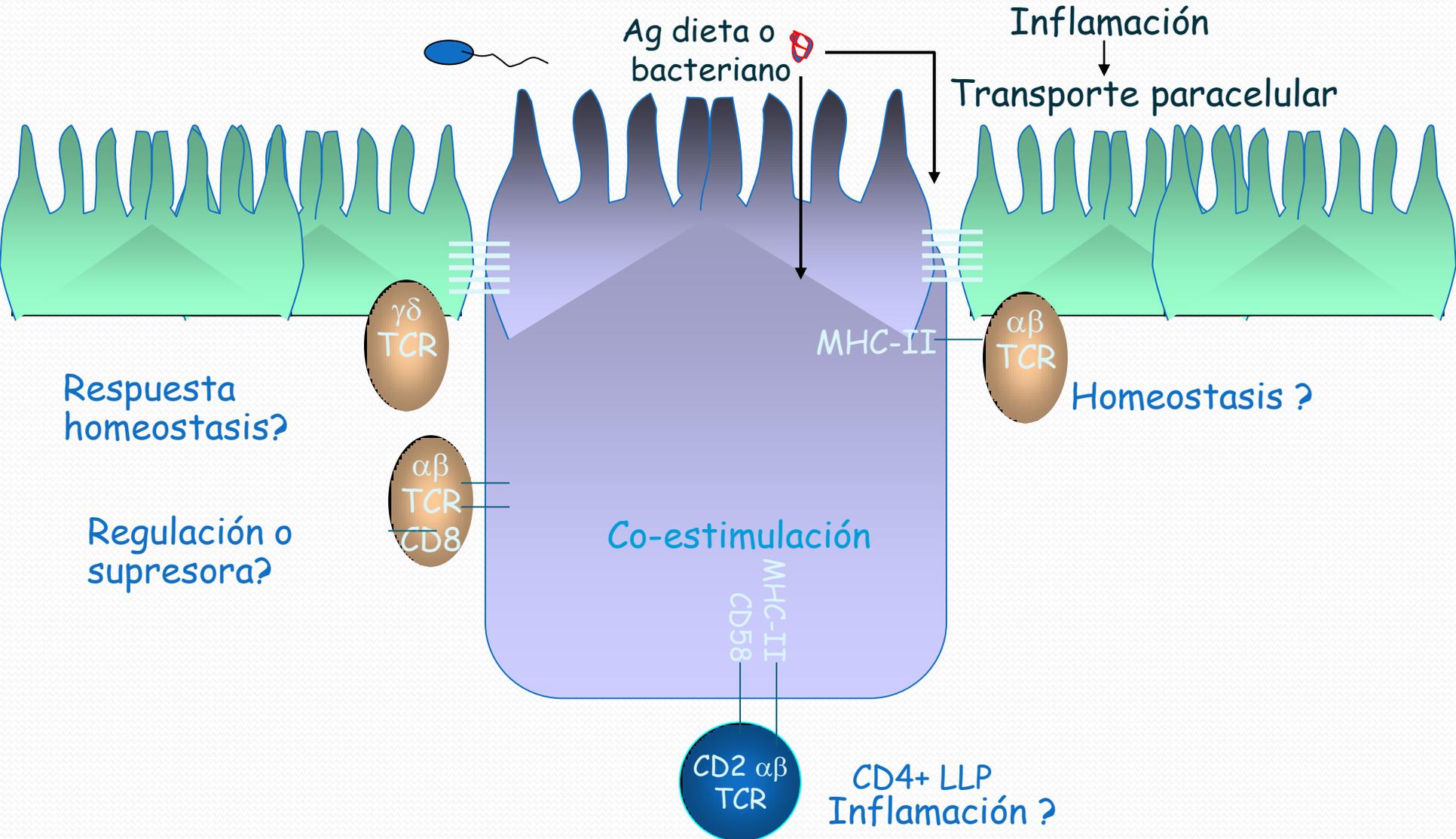
- Gran número de linfocitos B activados y células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos y mastocitos
- Sitio de maduración final de las células plasmáticas
 - 70-90% productoras de IgA (secretan de 3 a 5g de IgA diario)



Sistema inmune común de las mucosas: EPITELIO INTESTINAL

- **Células epiteliales intestinales**
 - Son células no fagocíticas, que bajo condiciones no inflamatorias están equipadas para prevenir la invasión a través del epitelio
 - Expresan receptores Toll (TLR), como sensor para la detección de componentes de agentes infecciosos
 - Función de APCs no profesionales
 - No expresan B7.1 ni B7.2, ICAM-1
 - Ausencia de adecuadas moléculas co-estimuladoras = anergia

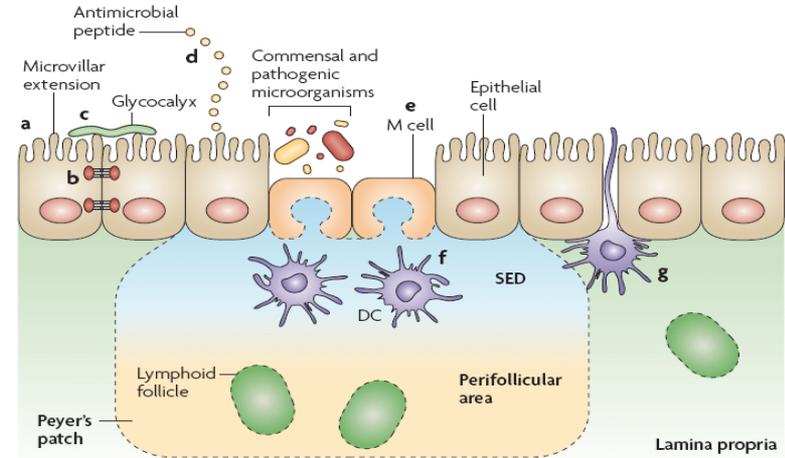
Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL



Sistema inmune común de las mucosas: SITIOS EFECTORES

Células epiteliales intestinales

- Barrera para Ag extraños (alimentos y bacterianos)
- Pueden transportar Ag intactos
- Mantiene íntimo contacto con los linfocitos T intraepiteliales y lámina propia
 - Proyecciones basolaterales contactan con linfocitos T de la lámina propia



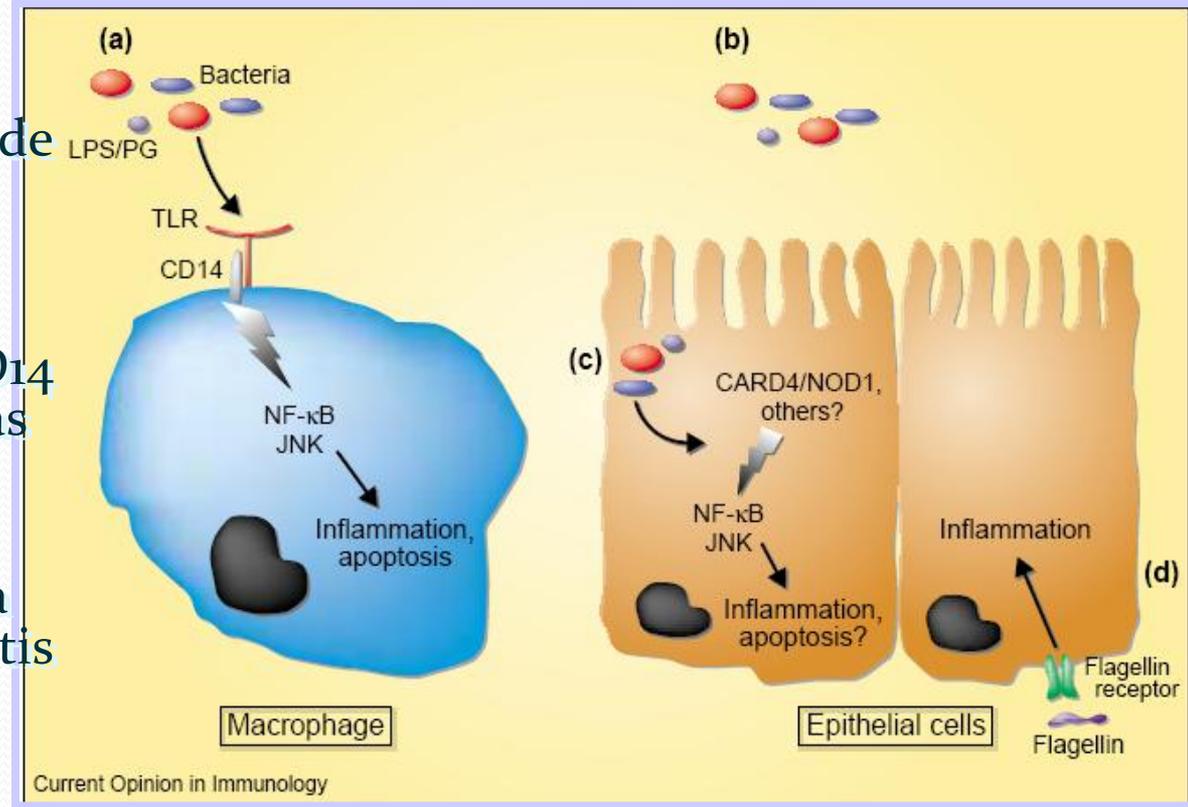
Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL

- Células epiteliales intestinales
 - Liberan defensinas
 - Producen y modulan la expresión de citokinas
 - Liberan: IL-1 α , IL-1 β , antagonista IL-1R, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- α , IGF-II, GM-CSF, TGF- α , TGF- β ₁₋₃
 - α -Quemokinas que atraen neutrófilos (durante el proceso inflamatorio)
 - IL-7, papel en la ontogenia extratímica

Sistema inmune común de las mucosas : EPITELIO INTESTINAL

TRL2 confiere protección a la barrera epitelial, fortalece unión entre CE/CE

- Célula epitelial discrimina entre patógeno o no, depende localización subcelular del reconocimiento (apical, intracelular o basolateral)
- Expresan TLR4, pero no CD14 bajo condiciones fisiológicas
- Mutantes de NOD1, promueve alteración de la permeabilidad de la barrera epitelial y desarrollo de colitis

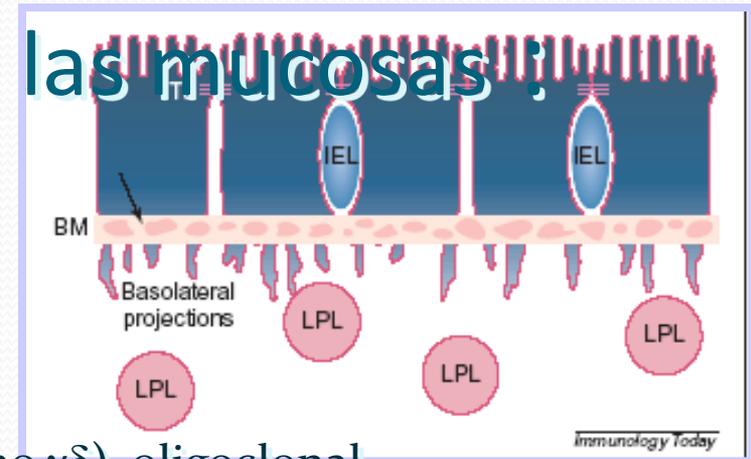


Current Opinion in Immunology

TLR5 su expresión es basolateral

Sistema inmune común de las mucosas !

EPITELIO INTESTINAL



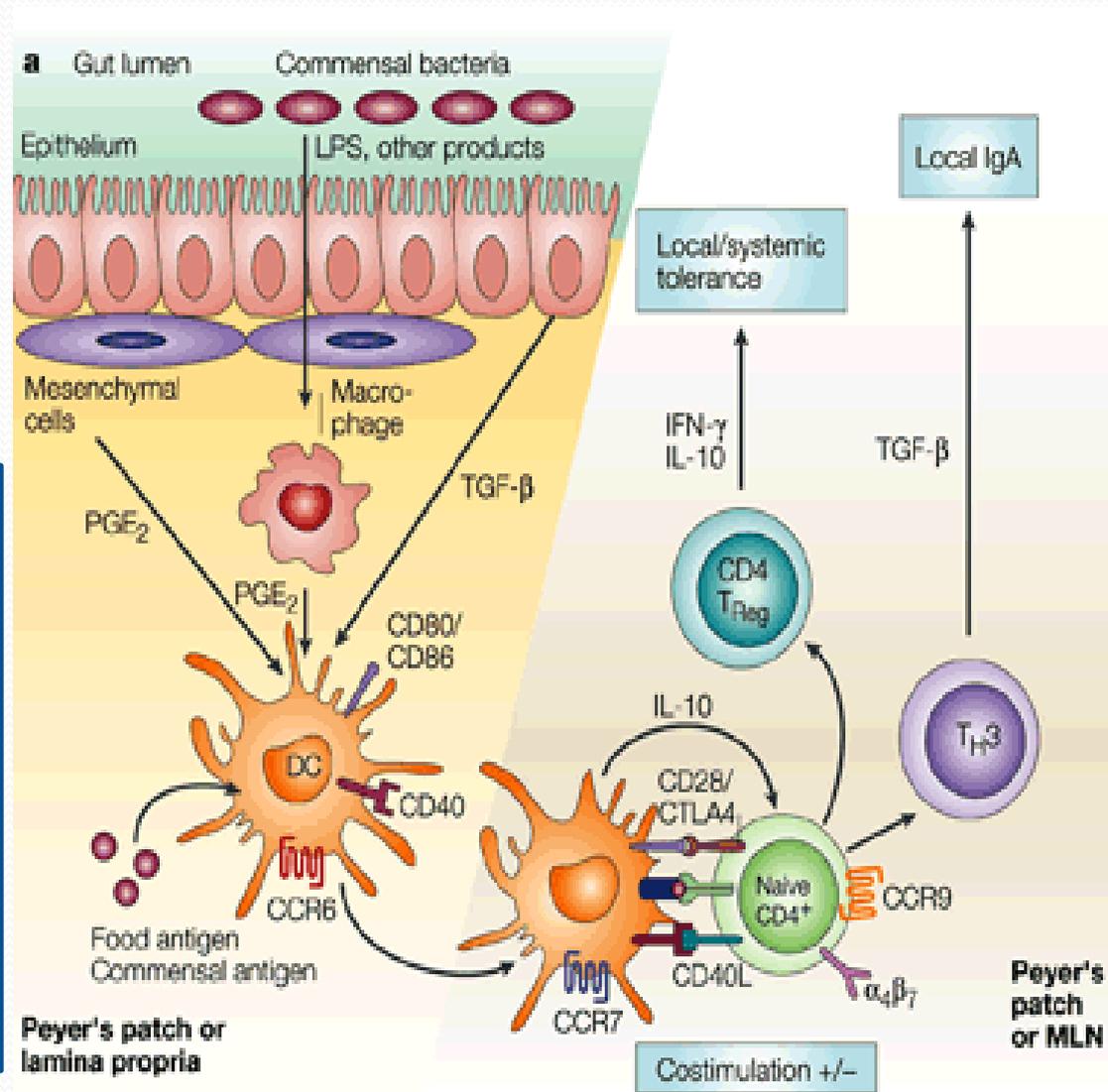
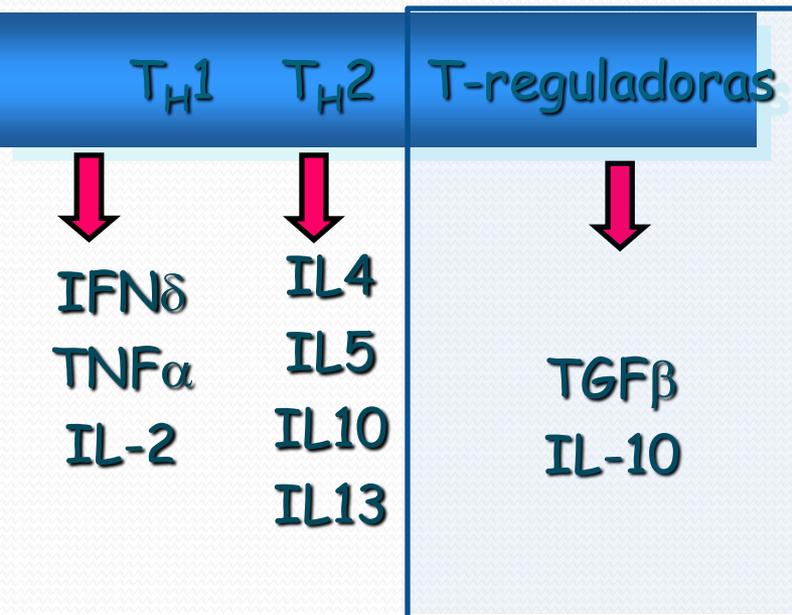
- **Linfocitos T intraepiteliales:**
 - Especificidad limitada de TCR (tanto $\alpha\beta$ como $\gamma\delta$), oligoclona
 - 40% son TCR $\gamma\delta$
 - Criptas intestino delgado ontogenia de linfocitos T $\gamma\delta$
 - Linfocitos T CD8 $\alpha\alpha$
 - Celulas NK
- **T-TCR $\gamma\delta$**
 - Regulan la producción de IgAs
 - Involucrados en prevenir autoinmunidad y reparación del tejido dañado durante la inflamación
 - Reconocen Ag sin procesamiento previo

Sistema inmune común de las mucosas : SECRECIÓN DE LA IgAS

- Características de la IgA
 - Inmunoglobulina no inflamatoria, une débilmente el complemento
 - Abunda en las secreciones
 - En la circulación se encuentra en forma monomérica, mientras que en las secreciones está en forma dimérica
 - Componente secretor la protege de las enzimas proteolíticas

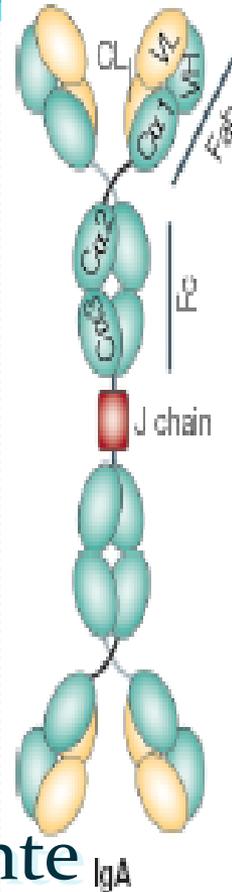
Sistema inmune común de las mucosas : Control de la producción de IgAs

- Células efectoras y reguladoras



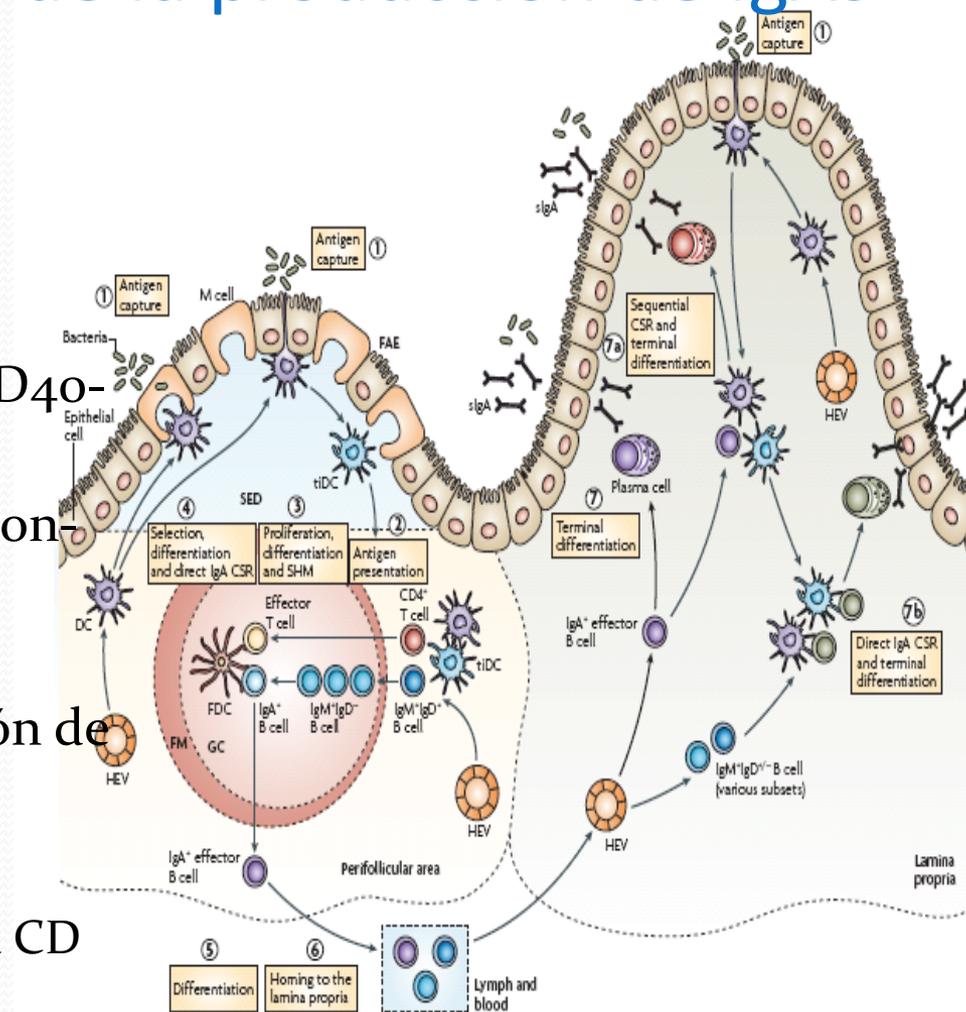
Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

- Factores que favorecen la liberación de IgAs
 - $TGF\beta$ media el cambio de isotipo
 - IL-6 inductor de la producción de IgA
 - $TNF\alpha$ induce la liberación del componente secretor
- Lactancia materna, calostro, rico en estas citokinas



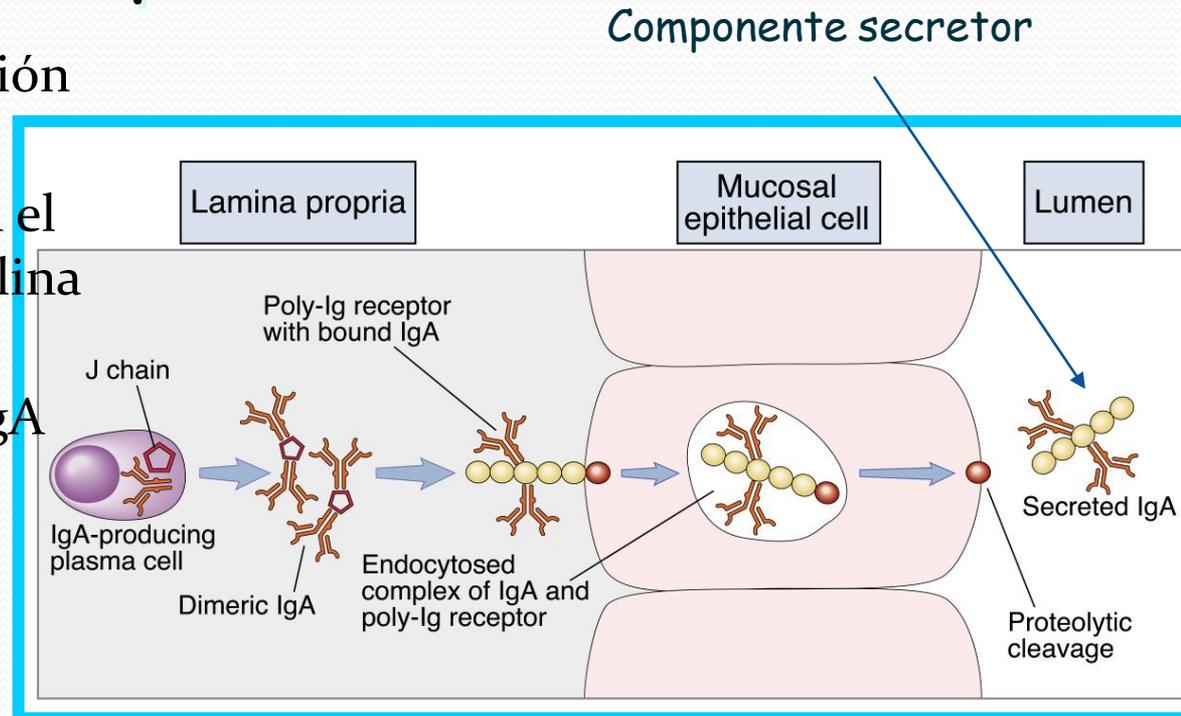
Sistema inmune común de las mucosas : Control de la producción de IgAs

- Producción de IgA dependiente de células T
 - Participación de señales dependiente de TGF- β y de CD40-CD40L
 - CD40-CD40L activa a activación-induced cytidine deaminase (AICD)
 - Señales de TGF- β transcripción de cadena constante alfa
- Señales T-independientes
 - Requiere de la colaboración de la CD



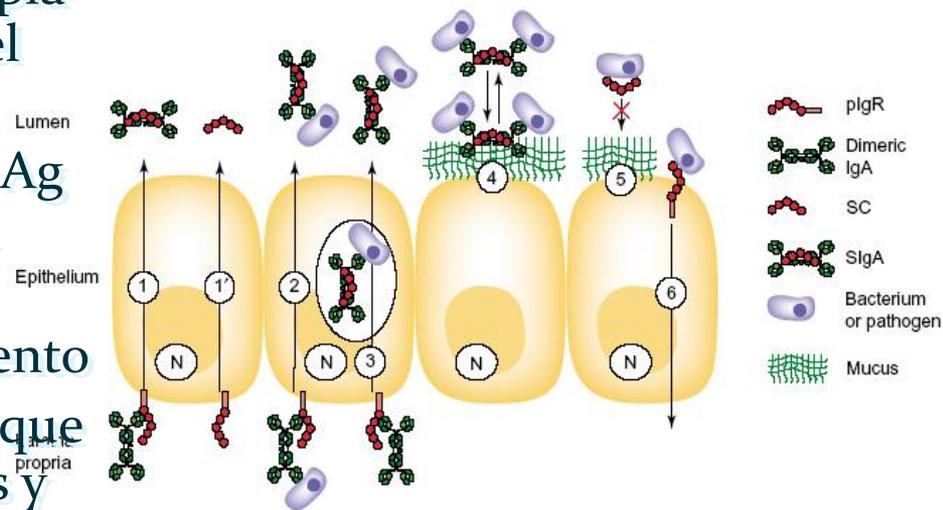
Sistema inmune común de las mucosas : Transporte de IgA a través del Epitelio

- Predominantemente en forma dimerica, por la unión a la cadena J
- Permite su asociación con el receptor de inmunoglobulina polimérica (pIgR)
- Favorece transcitosis de IgA hacia la luz a través de CE
- Componente secretor confiere propiedades mucofilicos



Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

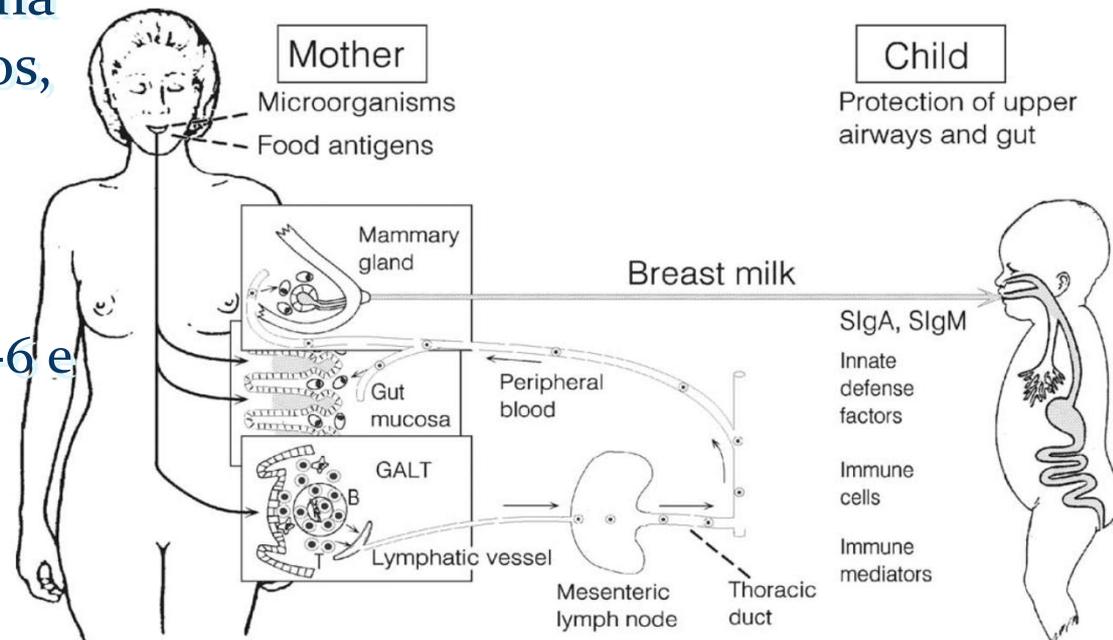
- Funciones de la IgA secretoria (IgAS)
 - Exclusión antigénica, impide la entrada de antígenos
 - Expulsa antígenos de la lámina propia utilizando en transporte a través del receptor de Ig polimérica
 - Neutraliza la replicación de virus y Ag pro-inflamatorios por promover su exporte
 - Incapacidad para activar complemento
 - Favorece la formación de “biofilm” que permite crecimiento de comensales y atenúa patógenos



Sistema inmune común de las mucosas: SECRECIÓN DE LA IgAS

- Lactancia materna e inmunidad de las mucosas
 - Mayor protección contra infecciones, alergias y asma
 - Calostro tienen monocitos, neutrófilos y linfocitos, captados por el epitelio y liberan factores inmunorreguladores
 - Interleukinas (TGF- β , IL-6 e IL-10) involucradas en la inducción de IgA

Promueve mutualismo, ausente en el neonato previo a la exposición con microorganismos y en ratones "germ-free"

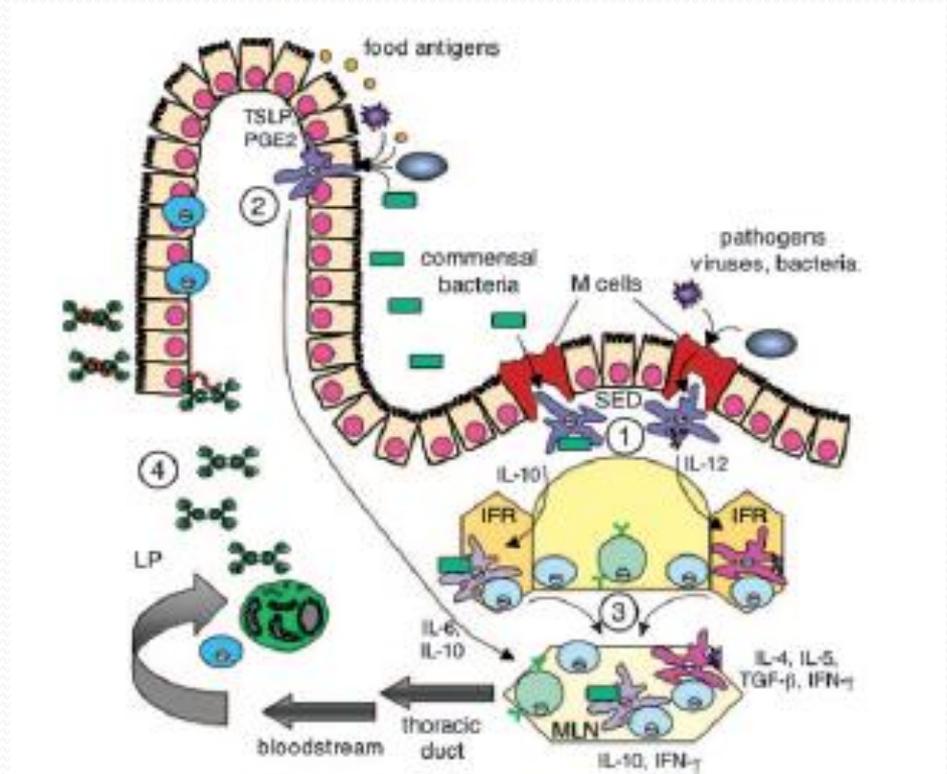


Sistema inmune común de las mucosas

- Hipótesis de la higiene
 - Países desarrollados tienen alta incidencia de enfermedades alérgicas
 - La ausencia de exposición temprana a microorganismos conduce a respuesta aberrante frente a los antígenos inocuos
 - Alternativamente: la alteración de la microflora intestinal (uso de antibióticos o tipo de dieta), podría conducir a la alteración de la tolerancia
 - La tolerancia oral no puede generarse en animales libres de gérmenes comensales

Resumen

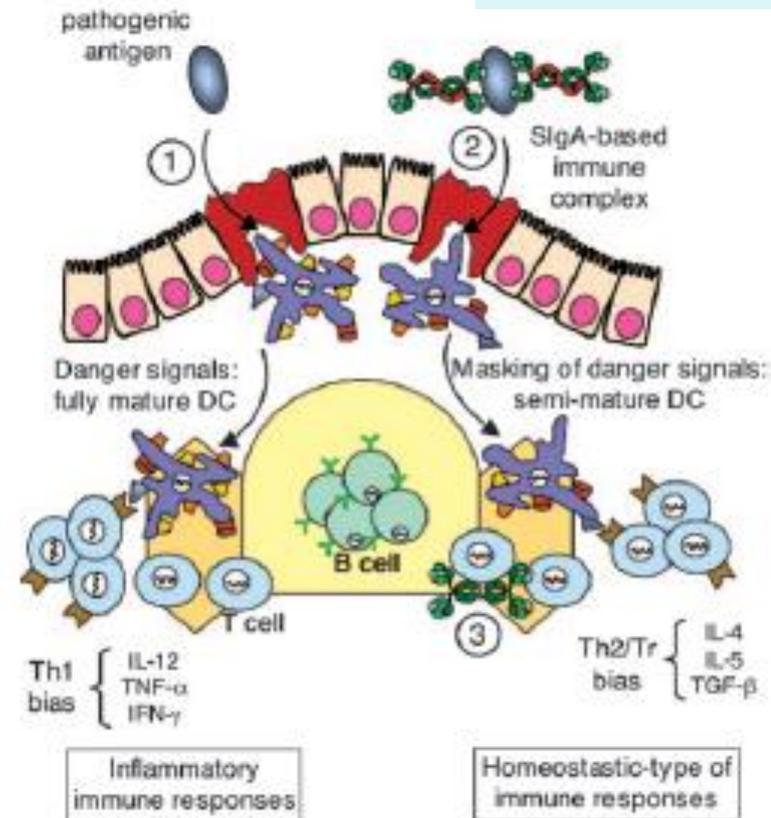
- 1. Microorganismos son transportados por las células M y capturados por las DC inmaduras en el DSE. Induce activación de DC y migración hacia las zona T (interfolicular) y al los NLM (dos principales sitios de presentación Ag a T naïve)
- 2. Captura de Ag directamente del lumen por digitaciones propias de las DC a través del epitelio y viajan a los NLM adyacente y presentan el Ag (no se sabe si difiere en la respuesta efectora inflamatoria)
- 3. El grado de activación y propiedades migratorias dependerá del tipo de Ag, microambiente local, y de la condición e integridad del epitelio
- 4. La IgAS en la lamina propia



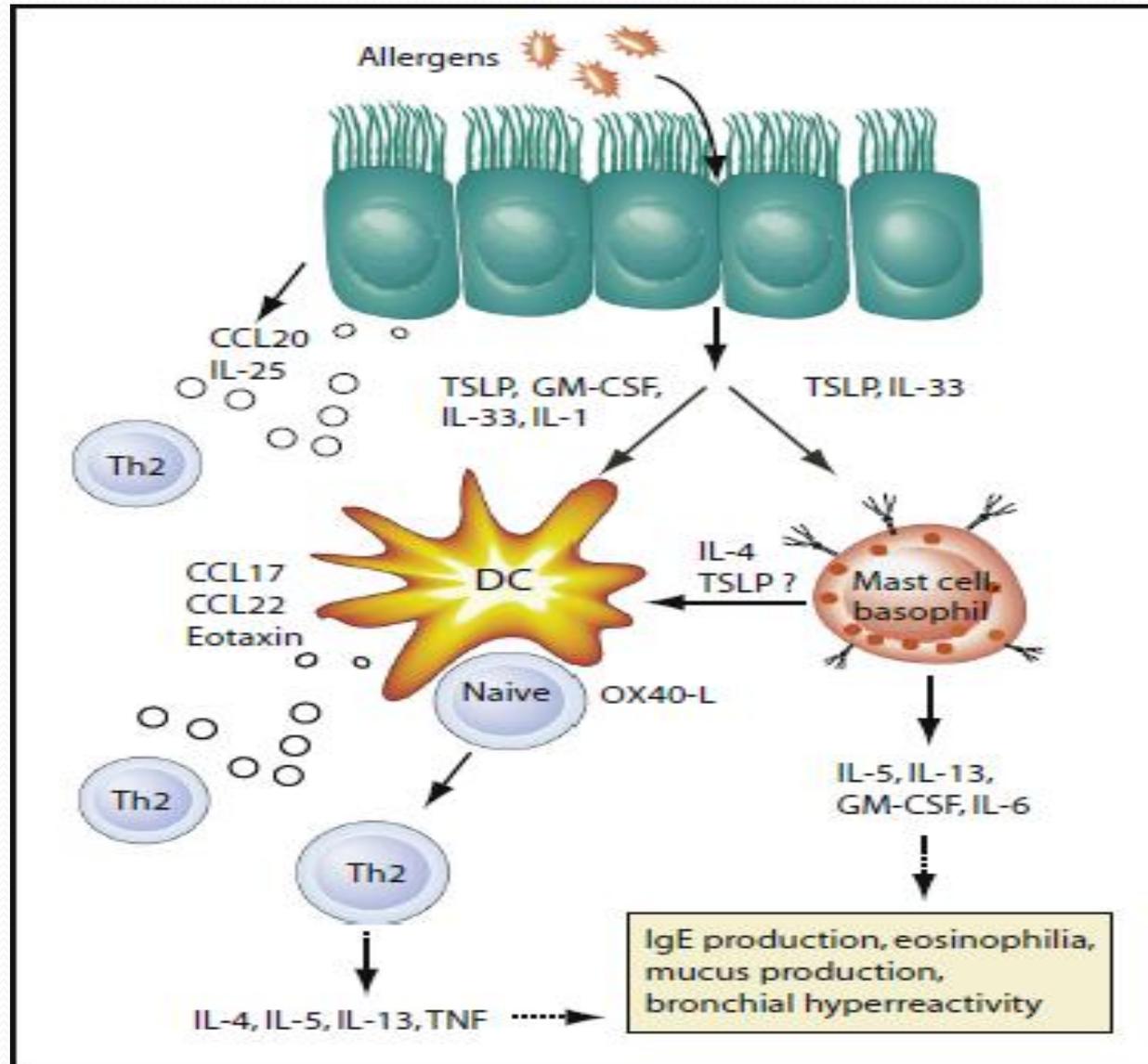
Sistema inmune común de las mucosas: Sitios inductores

- Caso 1: Antígeno proveniente de un patógeno, entra a través de las Células M conduce a una respuesta local pro-inflamatoria que genera producción de IgA neutralizante
- 2. Caso 2: segundo desafío antigénico por re-exposición al patógeno, formación de complejos inmune, captura vía receptor de IgA por las Células M, previene activación de señales proinflamatoria
 - Interacción de IgAS con células T CD4, regulación negativa de su activación, mantenimiento de la homeostasis

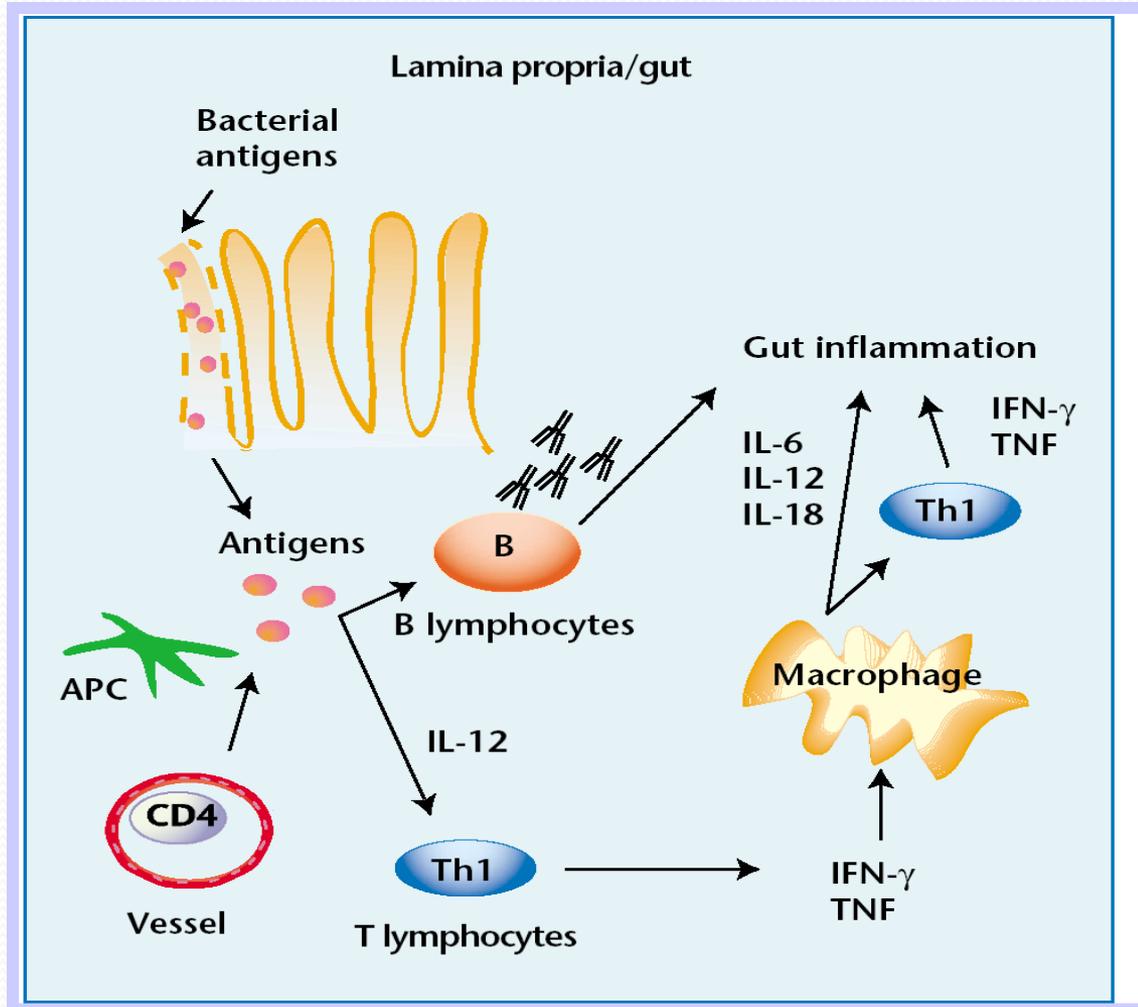
Complejos inmunes/IgAS son capturados preferencialmente por DC CD11c+/CD11b+, productoras de IL-10



- BALT

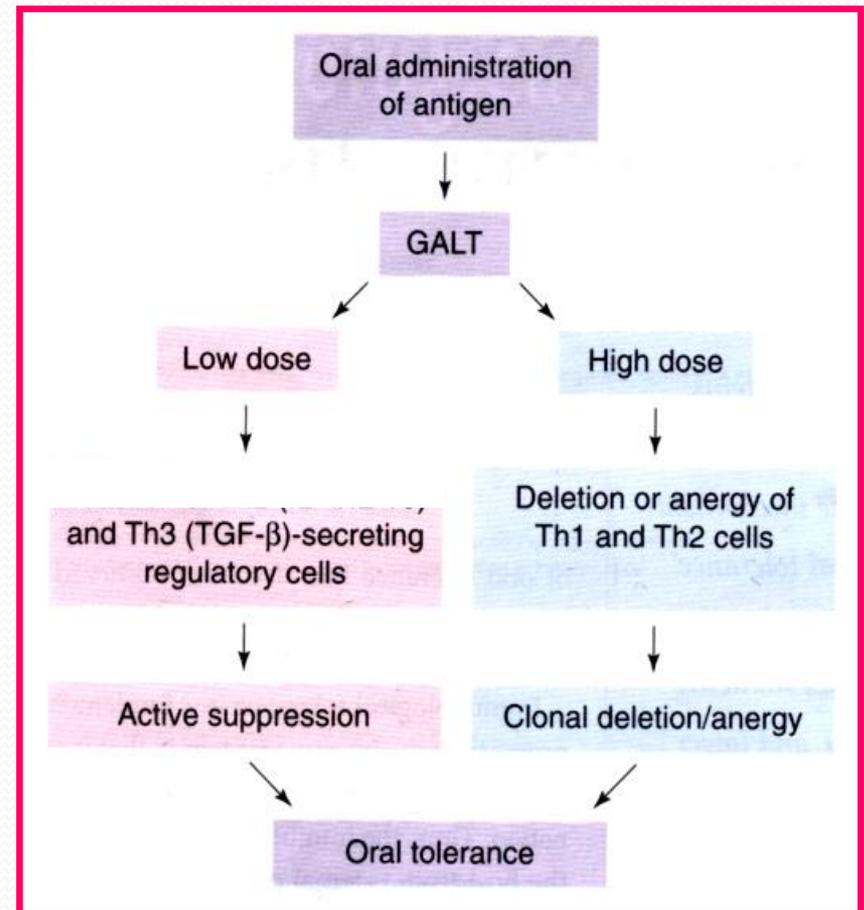


Sistema inmune común de las mucosas

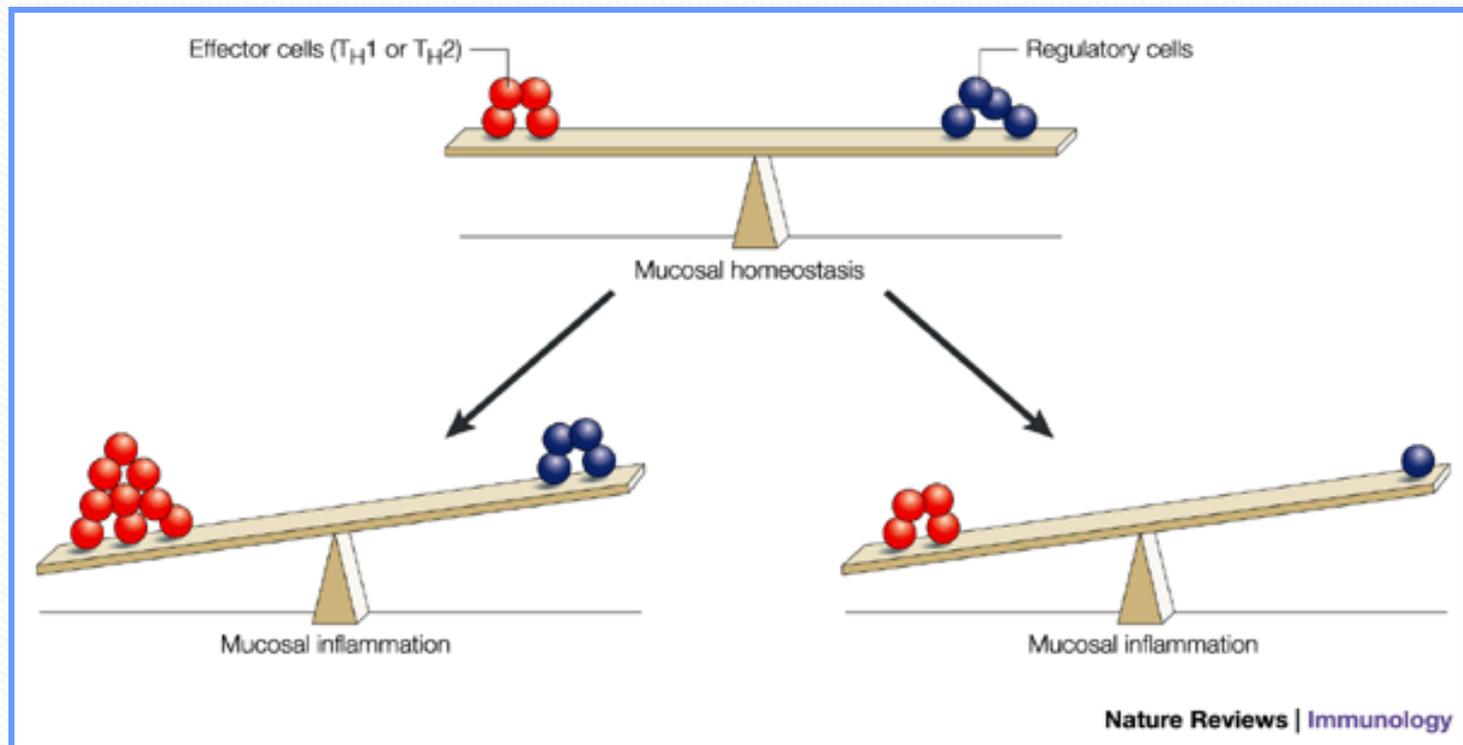


Sistema inmune común de las mucosas: TOLERANCIA ORAL

- Posible utilidad en el tratamiento de enfermedades autoinmunes
- Mecanismos:
 - Supresión celular activa
 - Eliminación clonal
 - Anergia



Sistema inmune común de las mucosas



Sistema inmune común de las mucosas

- Porque los microorganismos comensales no activan la respuesta inmune?
 - No inducen maduración de las células dendríticas, y activan subpoblaciones diferentes, en ausencia de microambiente inflamatorio
 - Señales diferenciales recibidas por receptores Toll aún no identificados ???? , además de compartalización de estos receptores (basolateral e intracelular)
 - Mutualismo entre las células epiteliales y comensales (activación de TLR2 y TLR9 incrementa funciones de barrera y efecto anti-inflamatorio)
 - El epitelio intestinal puede evaluar si se trata de un comensal o patógeno

Sistema inmune común de las mucosas

